



УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ

ТАВРИЧЕСКОГО
НАЦИОНАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА
им. В. И. Вернадского

Серия «Биология, химия»

Том 19 (58). № 1

СИМФЕРОПОЛЬ
2006

Журнал основан в 1918 г.

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ
ТАВРИЧЕСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО
УНИВЕРСИТЕТА им. В. И. ВЕРНАДСКОГО

Научный журнал

Том 19 (58). № 1

Биология, химия.

Симферополь, Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, 2006

ISBN 5-7763-9818-5

Журнал зарегистрирован 23 ноября 1999 года
Серия КМ № 534

Редакционная коллегия журнала:

Багров Н. В. – главный редактор
Бержанский В. Н. – заместитель главного редактора
Ена В. Г. – ответственный секретарь

Редакционная коллегия серии «Биология, химия»

Биологические науки

Темурьянц Н.А., доктор биологических наук, профессор – *(редактор серии)*
Чуян Е.Н., доктор биологических наук, профессор *(выпускающий редактор)*
Коренюк И. И., доктор биологических наук, профессор
Бугара А.М., доктор биологических наук, профессор
Павленко В.Б., доктор биологических наук, профессор
Юрахно М. В., доктор биологических наук, профессор
Коношенко С. В., доктор биологических наук, профессор

Химические науки

Шульгин В. Ф., доктор химических наук, профессор – *(редактор серии)*
Гришковец В.И., доктор химических наук, профессор
Земляков А. Е., доктор химических наук, профессор
Федоренко А. М., доктор химических наук, профессор
Чирва В. Я., доктор химических наук, профессор

© Таврический национальный университет, 2006 г.

Подписано в печать 25.05.2006. Формат 60x84 1/4 усл. изд. л. 10,6. Тираж 500. Заказ № 17/а.
Отпечатано в информационно-издательском отделе ТНУ.
Проспект Вернадского, 4, г. Симферополь, 95007

„Учюние запіскі Таврічеського національного універсітета ім. В. І. Вернадського”

Науковий журнал. Серія «Біологія, хімія». Том 19 (58), №1.
Сімферополь, Таврійський національний універсітет ім. В.І.Вернадського, 2006
Журнал заснований у 1918 р

Адреса редакцій: Проспект Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007
Надруковано у інформаційно-видавничьому відділі Таврійського національного універсітету ім. В.І.Вернадського.
Проспект Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского

Серия «Биология, химия». Том 19 (58). 2006. № 1. С. 3-7.

УДК 581.632

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «GEORPLUS» НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ЗАСОЛЕНИЮ И ЗАСУХЕ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА

Бугара А.М., Кабузенко С.Н., Омельченко А.В.

Проблема устойчивости культурных растений к неблагоприятным факторам среды (засуха, засоление и др.) приобретает всё большую актуальность в связи с изменением климатических условий и усилением антропогенного воздействия во многих регионах, в том числе и в Крыму.

В последние годы успешно развивается направление сельскохозяйственной биотехнологии, в котором разрабатываются способы использования биологически активных веществ для повышения общей и специфической устойчивости культурных растений к действию неблагоприятных факторов среды. К биологически активным веществам можно отнести также органо-минеральные гуминовые препараты, которые наряду с гуминовыми и фульвовыми кислотами содержат большой набор макро – и микроэлементов, витаминов и биостимуляторов. В литературе имеются указания на способность гуминовых препаратов повышать неспецифическую устойчивость растений к различным неблагоприятным воздействиям благодаря усилению защитных функций организма [1]. Тем не менее, антистрессовое действие этих веществ изучено недостаточно, в особенности их влияние на солеустойчивость растений. Установлено, что действие солей и засухи на растение активно проявляется уже в период прорастания семян и начального роста проростков [2, 3].

В основу нашей рабочей гипотезы было положено представление о том, что препарат «Geoplus» может изменять свойства почвы благодаря наличию в нём гуминовых кислот, содержащих гидрофильные функциональные группы и способных сорбировать «засоляющие» ионы и стабилизировать воду.

Антистрессовое действие препарата может быть основано также на активации окислительно-восстановительных ферментов минеральными ионами, входящими в состав препарата (микроэлементы, повышающие уровень обменных процессов).

Таким образом, целью нашего исследования явилось изучение возможности применения препарата «Geoplus», относящегося к органо-минеральным гуминовым удобрениям, с целью повышения устойчивости растений кукурузы на ранних этапах онтогенеза к засолению и засухе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований послужили растения кукурузы гибрида Од 375 МВ в возрасте 1-15 дней. Предварительные исследования показали, что данный гибрид обладает невысокой степенью солеустойчивости. Критерием солеустойчивости кукурузы может быть энергия прорастания и всхожесть семян на солевых растворах [4]. В этой связи в опыте определяли энергию прорастания и всхожесть семян кукурузы на солевых растворах (контроль) и с добавлением препарата «Geoplus» (опыт).

Параллельно оценивали влияние препарата «Geoplus» на прорастание семян кукурузы в естественно засоленной почве в условиях лаборатории. Семена кукурузы сорта Одесская 10 высаживали в сосуды с естественно засоленной почвой, влажность почвы – 80 % от полной влагоёмкости (ПВ) и проращивали в условиях лаборатории при 20-22°C. Содержание натрия в засоленной почве составляло 0,2 % к сухой массе почвы. В естественно засоленную почву вносили препарат «Geoplus» в разведении 1:500.

С целью изучения влияния препарата на устойчивость растений кукурузы к засухе определяли содержание гидрофильных соединений в почве и органах проростков, а так же интенсивность транспирации весовым методом [5] и изменение этих показателей под влиянием препарата «Geoplus».

В условиях лабораторного моделирования почвенной засухи (контроль) вносили с поливной водой препарат «Geoplus» (опыт) в разведении 1:500. Влажность почвы опытных и контрольных вариантов- 30 % от ПВ. Температура –20-22°C, влажность воздуха – 60-70 %, освещенность-10000 люкс. При проведении опытов определяли ростовые показатели растений кукурузы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований показали, что препарат «Geoplus» оказал существенное положительное влияние на энергию прорастания семян кукурузы на солевых растворах (для кукурузы этот показатель измеряется на 4-й день). Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1.
Энергия прорастания и всхожесть семян кукурузы гибрида Од 375 МВ на фоне действия хлоридного засоления и препарата «Geoplus», (%)

Показатель	Проращивание на воде	Проращивание на р-ре NaCl, 200 мМ	Проращивание на р-ре NaCl, 200мМ+ «Geoplus» 1:1000
Энергия прорастания	87,3±1,0	20,6±0,5	32,0±0,6
Всхожесть семян	100,0±0,0	91,3±1,2	96,0±0,7

По данным таблицы 1, энергия прорастания семян кукурузы на фоне хлоридного засоления под влиянием препарата «Geoplus» повысилась на 11,4 %, в то время как всхожесть - на 4,7 %.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «GEOPLUS» НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ЗАСОЛЕНИЮ

Таблица 2.
Энергия прорастания и всхожесть семян кукурузы гибрида Од 375 МВ на фоне действия хлоридного засоления и препарата «Geoplus», (%)

Варианты опыта	Проросло семян в динамике опыта, %	
	6-й день	13-й день
Засоление 0,2 % по Na ⁺	1,25±0,01	2,5±0,05
Засоление 0,2 % по Na ⁺ + «Geoplus»	7,5±0,7	12,5±0,3

Повышение всхожести семян кукурузы на естественно засоленной почве под влиянием препарата «Geoplus» составило на 13-й день 10 % (табл. 2).

Более выраженное влияние изучаемого препарата на энергию прорастания семян кукурузы по сравнению со всхожестью в солевом растворе можно объяснить различием физиологических процессов, обуславливающих динамику прорастания в течение первых и последующих суток. Энергия прорастания семян злаков зависит от интенсивности процессов, проходящих в лаг-периоде прорастания, который у кукурузы находится в пределах 4-20 часов от начала набухания. В этот период происходит активация ферментных систем семени и утилизация запасных питательных веществ, необходимых для роста зародыша [6, 7]. Образующие в этот период осмотически активные вещества способствуют процессам набухания семян. Возможно, что микро- и макроэлементы, содержащиеся в препарате «Geoplus», активируют ферментные системы, локализованные в эндосперме семени, вследствие чего увеличивается энергия прорастания.

Сравнивая данные таблиц 1 и 2 можно констатировать, что антистрессовое действие препарата «Geoplus» в большей мере проявилось при проращивании семян в естественно засоленной почве по сравнению с соевыми растворами. Это можно объяснить повышением адсорбционных свойств почвы под влиянием гуминового препарата, в результате чего происходит частичная дезактивация «засоляющих» ионов натрия, по-видимому, его активность снижается вследствие адсорбции почвенными коллоидами. Повышение адсорбционных свойств почвы подтверждается результатами опытов по изучению влияния препарата «Geoplus» на водоудерживающие свойства почвы и содержание в ней гидрофильных соединений.

В первой серии опытов мы увлажняли лугово-черноземную почву отстоянной водопроводной водой (контроль) и водой с добавлением препарата «Geoplus» в разведении 1:500 (опыт). В динамике в течении месяца определяли влажность почвы обоих вариантов по общепринятой методике. Результаты показали, что препарат «Geoplus» увеличивает содержание воды в почве в среднем на 5 % по сравнению с лугово-черноземной почвой, увлажненной водопроводной водой.

На естественно - засоленную почву препарат «Geoplus» подобного влияния не оказал. т.к. само засоление снижает водный потенциал вследствие повышения осмотического давления почвенного раствора и стабилизирующего влияния на воду засоляющих ионов.

Повышение водоудерживающих и адсорбционных свойств почвы подтверждается данными по содержанию в ней гидрофильных соединений, которое под влиянием препарата «Geoplus» возросло на 7.6 мг/1 г сухой почвы.

Одним из свойств растений, увеличивающих их способность к перенесению обезвоживания, является содержание гидрофильных соединений в тканях растений. Определение этого показателя подтвердило нашу рабочую гипотезу о повышении свойства гидрофильности растительных тканей под влиянием препарата «Geoplus» (табл. 3).

Таблица 3.
Содержание гидрофильных соединений в тканях недельных проростков кукурузы (мг/г сырой растительной массы)

Вариант опыта	Гидрофильные соединения, мг/г сырой растительной массы	P, %
Контроль (проращивание на воде)	78,30±0,80	1,01
Опыт (проращивание на р-ре «Geoplus» 1:1000)	96,70±0,70	0,72

В целях изучения протекторных свойств препарата «Geoplus» в условиях засухи нами был поставлен опыт по изучению защитного действия препарата на проростки кукурузы в условиях низкой влажности почвы. Исследования показали, что под влиянием обработки почвы препаратом «Geoplus» возросла всхожесть семян кукурузы опытных вариантов, увеличился объем корневой системы и сухой массы проростков, что свидетельствует о повышении засухоустойчивости под влиянием препарата (табл. 4).

Таблица 4.
Влияние препарата «Geoplus» на ростовые показатели кукурузы гибрида Од 310 МВ на ранних этапах развития в условиях пониженной влажности почвы (возраст растений 3 недели)

Варианты опыта	Проросло растений, %	Средняя сухая масса растений, мг	Содержание воды в тканях проростка, %	Объем корневой системы, см ³
H ₂ O 30% (контроль)	48,5±4,3	30,0±0,5	92,8±1,6	27,0±0,9
H ₂ O 30% + «Geoplus» 1:500	80,0±3,2	36,0±0,8	90,5±0,8	29,0±0,5

Одним из механизмов способствующих повышению устойчивости растений к недостатку влаги, может быть снижение под влиянием препарата «Geoplus» подвижности воды в системе почва-растение. Последнее подтверждается данными о влиянии препарата на интенсивность транспирации растений кукурузы.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «GEORPLUS» НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ЗАСОЛЕНИЮ

Таблица 5.

Влияние препарата «Geoplus» на интенсивность транспирации недельных проростков кукурузы

Вариант опыта	J мг/г сырой массы/мин
Проращивание на воде	1,04±0,06
H ₂ O + «Geoplus» 1:1000	0,48±0,03
проращивание на р-ре NaCl 200 мм	0,24±0,01
NaCl 200 мм+«Geoplus»1:1000	0,21±0,03

Из данных таблицы 5 следует, что на засолении снижение транспирации под действием препарата «Geoplus» выражено в значительно меньшей степени, чем на пресном фоне. Мы предполагаем, что ионизированные группы гуминовых и фульвовых кислот в почвенном растворе оказывают стабилизирующее действие на воду и снижают водный потенциал, что ведет к уменьшению транспирации. На фоне засоления их действие может экранироваться наличием в среде «засоляющих» ионов.

ВЫВОДЫ

1. Препарат «Geoplus» оказывает существенное влияние на адсорбционные свойства почвы, что способствует сохранению в ней воды и повышению устойчивости растений к засухе.

2. Под влиянием препарата повышается энергия прорастания и всхожесть семян кукурузы на фоне засоления.

3. Препарат может быть использован в разработках агроботехнологий, способствующих повышению устойчивости полевых культур к засухе и засолению на ранних этапах развития, что имеет важное хозяйственное значение.

Список литературы

1. Христева Л.А. Действие физиологически активных кислот на растения при неблагоприятных внешних условиях / В кн.: гуминовые удобрения. теория и практика и их применения. – Т. 4. – 1973. – с. 5-23.
2. Авилова Л.Д., Лихова Н.Ф. Влияние засоления на возобновление митотической деятельности в зародышевом корешке прорастающих семян различных сортов ячменя // Известия северо-кавказского учебного центра высшей школы. Естественные науки. – 1989. – №1. – С. 13-17.
3. Уманець Н.О., Гуляев Б.І. Фізіологічні особливості та стійкість генотипів кукурудзи до дії стресових чинників / В кн.: Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть, Т. 1. – Київ, 2001. – С. 113-118.
4. Кабузенко С.Н., Копылов Н.И., Омельченко А.В. Сравнительная устойчивость к хлоридному и сульфатному засолению новых гибридов и сорта Одесская 10 кукурузы на ранних этапах роста растений. // Научные труды Крымского государственного агротехнического университета, Симферополь, 2005. – Вып. 90. – С. 206-211.
5. Кушниренко М.Д. и др. Методы изучения водного обмена и засухоустойчивости плодовых растений. – Кишинев, 1970. – 63 с.
6. Обручева Н.В. Физиология начальных этапов прорастания семян двудольных растений: Дисс ... докт. биол. наук. – М., 1991. – 340 с.
7. Mayer A.M., Poljakoff-mayber A. The germination of seeds // Oxford: Pergamon press, 1989. – 270 p.

Поступила в редакцию 20.01.2006 г.

УДК 582.675.1.086.83.:547.91

КАЛЛУСНЫЕ КУЛЬТУРЫ ЛОМОНОСА ВИНОГРАДОЛИСТНОГО (*CLEMATIS VITALBA* L.) – ПРОДУЦЕНТЫ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ

Бугара А.М., Чмелева С.И., Сидякин А.И., Панов Д. А., Работягов В.Д.

Возможности и перспективы использования культивируемых клеток растений для получения биологически активных веществ уже давно привлекают исследователей в области биотехнологии. Это направление в последнее десятилетие разрабатывается достаточно интенсивно в связи с остротой экологических проблем и ограниченностью природного растительного лекарственного сырья. В этой связи использование культивируемых клеток растений видится сегодня как реальная возможность получения экологически чистых лекарственных препаратов и сохранения растительных ресурсов. Однако, несмотря на то, что на пути реализации этой возможности необходимо решение еще целого ряда теоретических и прикладных вопросов, первостепенное значение приобретают исследования, направленные на получение клеточных культур-продуцентов ранее не изученных в этом отношении перспективных видов растений.

Ломонос виноградолистный (*Clematis vitalba* L.) содержит гликозиды тритерпенового и стероидного ряда, обладающих широким спектром фармакологического действия. Среди тритерпеновых гликозидов преобладающими являются витальбозиды А, В, С, D, E, F, G, H, I, J [1, 2]. Исследований по получению клеточных культур ломоноса виноградолистного, содержащих тритерпеновые гликозиды, ранее не проводилось и данный вид как объект биотехнологии остается совершенно не изученным.

В этой связи целью настоящей работы являлось получение каллусных культур ломоноса виноградолистного и их анализ на содержание различных фракций тритерпеновых гликозидов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили вегетативные органы растений ломоноса виноградолистного, произрастающих в естественных фитоценозах. В качестве инициальных эксплантов использовали вегетативные апексы побега, ювенильные листья и сегменты зрелых листьев. Для соблюдения условий асептики работу по введению эксплантов в изолированную культуру выполняли в условиях ламинарного бокса. Поверхностную стерилизацию материала проводили 50% раствором препарата "Брадофен" (2 минуты), а затем 5% перекисью водорода (одна

КАЛЛУСНЫЕ КУЛЬТУРЫ ЛОМОНОСА ВИНОГРАДОЛИСТНОГО

минута) с последующей промывкой в автоклавированной дистиллированной воде. Экспланты помещали на поверхность агаризованных питательных сред Мурасиге-Скуга [9] и Гамборга-Эвелеге [3], дополненных ИУК (индолилуксусная кислота), 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота) и БАП (6-бензиламинопурин). В качестве культуральных сосудов использовали пробирки 2x20 см, содержащие 10 мл питательной среды. На каждый вариант питательной среды было высажено по 30 эксплантов определенного типа в трёхкратной повторности. Экспланты культивировали при освещенности 4-5 тыс. люкс, температуре 20-24°C и относительной влажности воздуха 60-70%. Частоту каллусообразования оценивали по количеству эксплантов, давших каллус, от общего числа эксплантированных (в процентах). Полученный первичный каллус переносили на свежие питательные среды и в дальнейшем культивировали на свету или в темноте.

Для химического анализа на содержание тритерпеновых гликозидов каллусные культуры, находящиеся в стационарной фазе роста, извлекали из культуральных пробирок и высушивали при комнатной температуре. Воздушно-сухую массу тщательно измельчали и экстрагировали 80 %-ным изопропиловым спиртом. Для определения тритерпеновых гликозидов использовали тонкослойную хроматографию (ТСХ) на пластинках "Silufol" [4], в нейтральной системе растворителей хлороформ-метанол-вода (100:40:7). Детектирование фракций тритерпеновых гликозидов на хроматограммах осуществляли 10%-ным спиртовым раствором фосфорновольфрамовой кислоты с добавлением 2 % *para*-оксибензальдегида с последующим нагреванием хроматограмм при 100-120°C. В качестве контроля использовали водно-спиртовые растворы экстрактов из листьев и корней ломоноса виноградолистного.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования по индукции каллусогенеза в культуре тканей ломоноса виноградолистного показали, что этот процесс в значительной степени зависит от типа экспланта и состава питательной среды (табл.). Лучшая способность к каллусогенезу обнаруживалась при культивировании эксплантов на модифицированной питательной среде Гамборга-Эвелеге. В данном случае частота каллусообразования составляла от 39,7 до 89,6%. При этом лучшей способностью к каллусогенезу отличались экспланты вегетативных апексов побега. В процессе культивирования эксплантов на модифицированной питательной среде Мурасиге-Скуга частота каллусообразования составляла 30,3- 44,6% и максимальное значение данного показателя наблюдалось также для эксплантов вегетативных апексов.

При введении эксплантов в условия *in vitro* первые признаки каллусогенеза обнаруживались, как правило, через 1-2 недели культивирования на модифицированной среде Гамборга-Эвелеге, и через 2-3 недели культивирования на модифицированной питательной среде Мурасиге-Скуга. Образующийся каллус имел светло-зеленую окраску, характеризовался плотной консистенцией и невысокой интенсивностью роста. Однако на питательной среде Мурасиге-Скуга каллус характеризовался более низкой интенсивностью роста, чем на среде Гамборга-Эвелеге.

Визуальный анализ каллусных культур позволил выявить признаки морфогенеза, что проявлялось в индукции корнеобразования на 90 сутки культивирования.

Таблица.

Частота каллусообразования в зависимости от типа экспланта и состава питательной среды

Модификация питательной среды	Типы и содержание фитогормонов в питательной среде, мг/л			Тип экспланта	Частота каллусообразования, %
	2,4-Д	ИУК	БАП		
Мурасиге – Скуга	2,5	1,0	0,4	вегетативный апекс	44,6 ±1,5
				ювенильные листья	40,1 ±0,9
				сегменты зрелой листовой пластинки	30,3 ±0,9
Гамборга-Эвелега	2,5	1,0	0,4	вегетативный апекс	89,6 ±2,4
				ювенильные листья	48,3 ±1,3
				сегменты зрелой листовой пластинки	39,7 ±1,0

Химический анализ корней и листьев интактного растения и каллусных культур ломоноса виноградолистного представлен на рисунке.

При анализе интактного материала ломоноса виноградолистного, было выявлено 10 различных фракций тритерпеновых гликозидов (Рис., а, б), из которых – 6 фракций хедерагенина (синие-фиолетовые хроматографические зоны) и 4 фракции олеаноловой кислоты (хроматографические зоны розового цвета). При этом в корнях обнаружено 6 фракций (Рис., а), из них 3 – хедерагенина (С, D, I) и 3 – олеаноловой кислоты (В, Е, G), а в листьях – 3 фракции хедерагенина (А, Н и J) и одна (F) – олеаноловой кислоты (Рис., б). По ТСХ фракции гликозидов А, С, Н и I были идентифицированы с известными образцами гликозидов хедерагенина. Установлено, что фракция А представляет собой 3-О-α-L-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-L-арабинопиранозид хедерагенина, фракция С – 3-О-β-D-ксилопиранозил-(1→3)-О-α-L-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-L-арабинопиранозид хедерагенина, фракция Н – 28-О-α-L-рамнопиранозил-(1→4)-О-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-О-β-D-глюкопиранозиловый эфир 3-О-α-L-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-L-арабинопиранозид хедерагенина и фракция I – 28-О-α-L-рамнопиранозил-(1→4)-О-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-О-β-D-глюкопиранозиловый эфир 3-О-β-D-ксилопиранозил-(1→3)-О-α-L-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-L-арабинопиранозид хедерагенина. Данные гликозиды были ранее выделены из различных видов растений, например из *Hedera canariensis* [5, 6], *Acanthopanax sieboldianum* [7] и *Kalopanax septemlobum* [8].

КАЛЛУСНЫЕ КУЛЬТУРЫ ЛОМОНОСА ВИНОГРАДОЛИСТНОГО

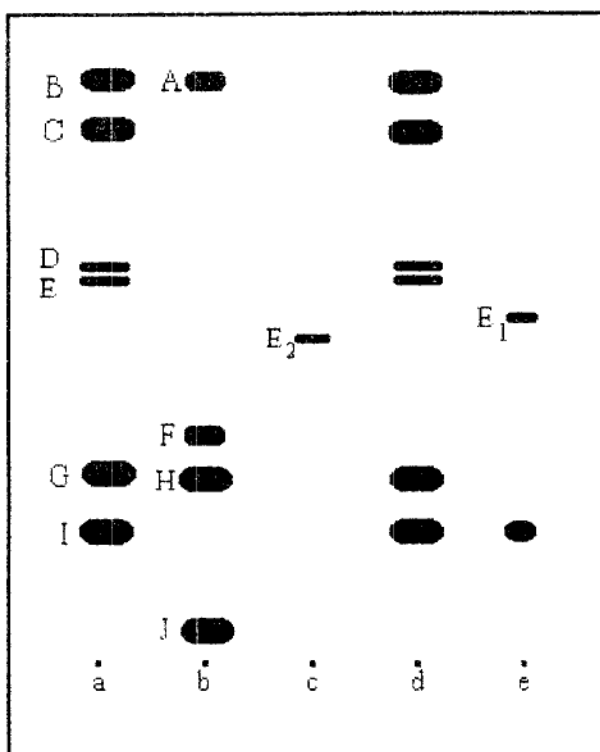


Рис. Схема распределения гликозидных фракций из органов интактных растений и каллусных культур ломоноса виноградолистного:

- a- гликозидные фракции из корней интактного растения;
 - b- гликозидные фракции из листьев интактного растения;
 - c- гликозидные фракции из каллуса, полученного на модифицированной питательной среде Мурасиге-Скуга.
 - d- гликозидные фракции из неморфогенного каллуса, полученного на модифицированной питательной среде Гамборга-Эвелега;
 - e- гликозидные фракции из морфогенного каллуса, полученного на модифицированной питательной среде Гамборга-Эвелега;
- A, C, D, H, I, J, E₁, E₂ – гликозиды хедерагенина;
 B, E, F, G – гликозиды олеаноловой кислоты.

При анализе каллусных культур на содержание тритерпеновых гликозидов (Рис. c, d, e) нами установлено, что они отличаются от интактных эксплантов по фракционному составу исследуемых веществ и при этом важное значение имеет среда культивирования. Так, при анализе первичных неризогенных каллусных культур, полученных из листовых эксплантов и культивируемых на среде Гамборга-Эвелега нами были идентифицированы все 6 фракций гликозидов, идентичных гликозидам корней интактного растения (Рис. d). При анализе морфогенных каллусных культур с признаками ризогенеза (Рис. e), кроме гликозида I, описанного выше, выявлен ранее необнаруженный в корнях и листьях интактных растений, гликозид хедерагенина.

названный нами E_1 . Аналогично, гликозид хедерагенина E_2 был обнаружен в каллусных культурах, индуцированных из листовых сегментов на модифицированной питательной среде Мурасиге-Скуга (Рис., с).

Таким образом, проведенные исследования позволили подобрать составы питательных сред для индукции каллусогенеза из эксплантов вегетативных органов ломоноса виноградолистного. Химический анализ каллусных культур показал присутствие в них различных фракций тритерпеновых гликозидов. Изложенные результаты, подтверждают уже известные факты о возможности получения клеточных культур растений, накапливающих тритерпеновые гликозиды. Так, в последние годы удалось получить экспериментальные доказательства о содержании тритерпеновых гликозидов в каллусных и суспензионных культурах *Ginkgo biloba* L., *Atroгене sibirica* L., диоскореи дельтовидной, *Yucca macrocarpa* Englem. При этом было показано, что биосинтез гликозидов зависит от типа экспланта, способности к гистогенезу и морфогенезу, возраста каллусной культуры, условий культивирования и состава питательной среды [9, 10]

Поскольку исследований по получению каллусных культур ломоноса виноградолистного и анализу их на тритерпеновые гликозиды ранее не проводилось, настоящая работа является первым экспериментальным доказательством получения каллусных культур данного вида, содержащих широкий спектр тритерпеновых гликозидов. Особый интерес представляет выявление в каллусных культурах фракций гликозидов, не характерных для органов интактного растения. Эти результаты открывают возможности для дальнейших исследований, направленных на селективный отбор и получение каллусных и суспензионных культур, обладающих повышенной продуктивностью отдельных фракций тритерпеновых гликозидов, обладающих биологической активностью.

ВЫВОДЫ

1. Подобраны составы питательных сред для индукции каллусогенеза и получения каллусной культуры из эксплантов вегетативных органов ломоноса виноградолистного (*Clematis vitalba* L.).

2. Установлено, что каллусные культуры из эксплантов вегетативного апекса, молодых и зрелых листьев содержат широкий спектр тритерпеновых гликозидов, характерных для интактного растения.

3. Показано, что морфогенные и неморфогенные каллусные культуры индуцированные из листьев, содержат фракции гликозидов (E_1 и E_2), не характерные для листьев и корней интактных растений.

Список литературы

1. Растительные ресурсы СССР: цветковые растения их химический состав и использование. – Л.: Наука, 1987. – Т 2. – С. 47.
2. Мельников В. Н. Химическое исследование гликозидов ломоноса виноградолистного // Автореферат дисс. канд. хим. наук. – Черновицы, 1974. – 18 с.
3. Урманцева В. В. Культивирование каллусных тканей на твердых питательных средах // Методы культивирования клеток. – Л.: Наука, 1987. – С. 221-231.

КАЛЛУСНЫЕ КУЛЬТУРЫ ЛОМОНОСА ВИНОГРАДОЛИСТНОГО

4. Шаргунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. – М.: Мир, 1980. – 621 с.
5. Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* L. Строение таурозидов L-A, L-B₁, L-B₂, L-C, L-D, L-E₁, L-G₁, L-G₂, L-G₃, L-G₄, L-H₁, L-H₂ и L-I₁ из листьев *Hedera canariensis* // Химия природ. соедин. – 1996. – № 3. – С. 377-383.
6. Гришковец В.И., Сидоров Д.Ю., Яковитши Л.А., Арнаутов Н.Н., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* L. Строение таурозидов L-A, L-B₁, L-B₂, L-C, L-D, L-E₁, L-G₁, L-G₂, L-G₃, L-G₄, L-H₁, L-H₂ и L-I₁ из листьев *Hedera canariensis* // Химия природ. соедин. – 1996. – № 3. – С. 377-383.
7. Sawada H., Miyakoshi M., Isoda S., Ida Y., Shoji J. Saponins from leaves of *Acanthopanax sieboldianum* // Phytochemistry. – 1993. – V. 34, № 4. – P. 1117-1121.
8. Гришковец В.И., Панов Д.А., Качала В.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды *Kalopanax septemlobum*. I. Гликозиды А, В, С, F, G₁, G₂, I₂, H, и J из листьев *Kalopanax septemlobum* var. *maximowichii*, интродуцированного в Крыму // Химия природ. соедин. – 2005. – № 2. – С. 156-159.
9. Носов А. М. Регуляция синтеза вторичных соединения в культуре клеток растений // Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. – М.: Наука, 1991. – С.5-20.
10. Кунах В.А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біхімічні основи. – К.: Логос, 2005. – 730 с.

Поступила в редакцию 20.01.2006 г.

УДК 577.115.3: 591

ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ЖИРНО-КИСЛОТНЫЙ СОСТАВ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Гидулянова К.В., Коношенко С.В.

Известно, что в клетках большинства органов и тканей человека осуществляются процессы свободнорадикального окисления липидов. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) выполняет в организме определенные физиологические функции – регулирует процессы обновления биологических мембран, оказывает влияние на проницаемость клеточных мембран. Значительное повышение активности свободнорадикального окисления липидов может привести к нарушению функции клеток и, как следствие, к развитию патологии. Мишенью реакций перекисного окисления становятся, прежде всего, клеточные мембраны, содержащие большое количество ненасыщенных жирных кислот, в частности, мембрана эритроцитов [1 – 8].

Мембрана эритроцитов является наиболее удобной моделью для изучения мембранопатологических процессов при заболеваниях внутренних органов. Это обусловлено как простотой организации зрелых клеток красной крови, так и доступностью их для проведения лабораторных исследований [9, 10].

Вместе с этим, несмотря на всю широту исследований эритроцитов, до сих пор остается недостаточно глубоко изученным вопрос о структурных изменениях, происходящих в эритроцитарной мембране при интенсификации окислительных процессов, в условиях окислительного стресса.

Исходя из этого, целью данного исследования явилось изучение влияния окислительного стресса на жирно-кислотный состав мембран эритроцитов, используя систему Фентона (Fe^{2+} , H_2O_2) в модельных опытах *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служила кровь 30 практически здоровых людей – доноров. Эритроцитарные мембраны (ЭМ) выделяли по методу Сербиновой Т.А. [11]. Экстракцию липидов из эритроцитарных мембран осуществляли по методу Folch I. et al. [12]. Жирные кислоты метилировали, используя 14 % тетрафторид бора в метаноле [13]. Газохроматографический анализ метиловых эфиров жирных кислот проводили на хроматографе «Dani 1000» (Италия) с пламенно-ионизационным детектором. Использовали капиллярную колонку, наполненную фазой HP 23, длина колонки 30м. Газ-носитель – азот. Скорость газа-носителя –

ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ЖИРНО-КИСЛОТНЫЙ СОСТАВ

40мл/мин. Температура детектора 60-200°C, температура испарителя - 180°C. Идентификацию жирных кислот осуществляли по стандартным препаратам метиловых эфиров жирных кислот фирмы «Merck» (Германия). Состав жирных кислот рассчитывали методом внутреннего нормирования. Инициацию окислительных процессов в эритроцитах осуществляли, используя среду Фентона (3 мМ перекись водорода, 10мМ сернокислое железо), инкубируя эритроциты в этих условиях в течение 1, 2 и 24 часов [14]. Среда Фентона является источником активных форм кислорода, образование которых имеет циклический характер.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как нами было показано ранее, при изучении процессов перекисного окисления липидов в мембранах эритроцитов доноров в условиях инкубации эритроцитарных клеток в среде Фентона в течение 1, 2 и 24 часов происходят определенные изменения, сопровождающиеся закономерным снижением в составе их мембран уровня общих липидов и повышением содержания гидроперекисей и вторичных продуктов перекисного окисления липидов [15, 16]. Очевидно, что наблюдаемые изменения в процессах липопероксидации, инициируемых активными формами кислорода, когда многие клеточные системы функционируют практически в условиях окислительного стресса, могут приводить к нарушениям структуры мембран, в частности, к изменению жирно-кислотного состава мембран эритроцитов.

Так, при инициации окислительных процессов *in vitro* (среда Фентона) в мембранах эритроцитов суммарное содержание насыщенных жирных кислот составило от 23,7 отн.% до 24,54 отн.% (табл 1).

Таблица 1.
Показатели основных жирных кислот мембран эритроцитов в условиях инициации окислительного стресса *in vitro* (M±m, отн %)

Жирные кислоты	Доноры	1 час инициации	2 часа инициации	24 часа инициации
Насыщенные	24,54±1,06	24,39±0,33	23,93±0,32	23,70±0,86
Ненасыщенные	75,40±4,77	71,05±1,13	59,95±1,06*	49,38±1,61*
Моноеновые	25,39±1,42	23,11±0,48	19,76±0,41*	15,43±0,56*
Полиненасыщенные	50,01±3,35	47,94±0,66	40,19±0,65*	33,95±1,02*
∑ω 3	4,03±0,44	3,37 ±0,10	1,77 ±0,12*	1,35 ±0,12 *
∑ω 6	40,46±2,31	39,27 ±0,49	33,23 ±0,42*	27,60 ±0,81*
∑ω 9	21,46±1,26	19,84±0,37	17,78±0,38*	14,87±0,35 *
∑ω 6 / ∑ω 3	10,04	11,65	18,77	20,45
Коэффициент насыщенности	0,33	0,34	0,39	0,48

Примечание: * – достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой (доноров) (p<0,05);

В этих условиях происходит снижение содержания всех изученных насыщенных жирных кислот мембран эритроцитов (14:0, 15:0, 16:0, 18:0, 20:0 и 24:0) и даже несмотря на кажущееся увеличение уровня содержания лауриновой кислоты 12:0 (в относительных процентах), при пересчете ее содержания в абсолютные проценты мы наблюдаем снижение уровня ее содержания (табл.2).

Уровень содержания лауриновой кислоты снижался на 57 % при 1 часовой инкубации эритроцитов в среде Фентона, на 65 % - при 2 часовой и на 74% при 24 часовой инкубации. Нами отмечена тесная отрицательная корреляция между уровнем содержания вторичных продуктов перекисного окисления липидов в мембране эритроцитов в динамике инкубации эритроцитов в среде Фентона и уровнем содержания насыщенных жирных кислот ($r = -0,88$). Так же прослеживается тесная корреляция между уровнем гидроперекисей и уровнем содержания насыщенных жирных кислот в той же динамике ($r = -0,86$). Из изученных нами насыщенных жирных кислот достоверные изменения характерны для лауриновой, стеариновой и арахидиновой жирных кислот при 2 часовой инкубации ($p < 0,05$), для лауриновой и арахидиновой - при 24 часовой ($p < 0,05$).

Однако в целом изменения уровня содержания насыщенных жирных кислот носят недостоверный характер и это может быть связано с тем, что в условиях окислительного стресса *in vitro* насыщенные жирные кислоты, не имеющие в своем составе двойных связей, не являются основной мишенью для атаки окислительных радикалов и остаются практически неповрежденными.

Таблица 2.

Показатели основных жирных кислот мембран эритроцитов в условиях инициации окислительного стресса *in vitro* ($M \pm m$, абс%)

Жирные кислоты	Доноры	1 час инициации	2 часа инициации	24 часа инициации
Насыщенные	0,31±0,01	0,12 ±0,003*	0,066 ±0,002*	0,043±0,002*
Ненасыщенные	0,95±0,02	0,31 ±0,007*	0,167 ±0,002*	0,09±0,003*
Моноеновые	0,32±0,02	0,10 ±0,003*	0,055 ±0,001*	0,029±0,001*
Полиненасыщенные	0,63±0,005	0,21 ±0,004*	0,112 ±0,001*	0,062±0,002*
$\sum \omega 3$	0,05±0,006	0,02 ±0,001*	0,005 ±0,0003*	0,002±0,0002*
$\sum \omega 6$	0,51±0,03	0,17 ±0,002*	0,093 ±0,0007*	0,05±0,001*
$\sum \omega 9$	0,27±0,02	0,09 ±0,002*	0,05 ±0,0009*	0,027±0,001*
$\sum \omega 6 / \sum \omega 3$	9,79	11,53	17,17	20,96
Коэффициент насыщенности	0,33	0,34	0,40	0,47

Примечание: * – достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой (доноров) ($p < 0,05$);

При этом отмечается существенное снижение уровня содержания ненасыщенных жирных кислот. Уровень содержания ненасыщенных жирных кислот колеблется в пределах от 49,38 % до 75,40 %. Отмечено снижение уровня содержания как моноеновых, так и полиненасыщенных жирных кислот (табл.1).

ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ЖИРНО-КИСЛОТНЫЙ СОСТАВ

Уровень содержания моноеновых жирных кислот снижается на 9 % при 1 часовой инкубации, на 22 % при 2 часовой и на 39 % при 24 инкубации эритроцитов в среде Фентона. Данные изменения проявляются за счет наиболее выраженного снижения таких жирных кислот, как эйкозеновая 20:1 (на 12 %, 32 % и 49 % при 1, 2 и 24 часовой инкубации соответственно) и докозеновая 22:1 (на 17 %, 40 % и 46 % при 1, 2 и 24 часовой инкубации), в меньшей степени снижается олеиновая кислота 18:1 (на 8 %, 20 % и 36 % при 1, 2 и 24 часовой инкубации). Данные изменения при 2 и 24 часовой инкубации эритроцитов в среде Фентона носят достоверный характер ($p < 0,05$) (табл.1).

Наряду со снижением практически всех моноеновых жирных кислот, отмечено повышение уровня содержания миристолеиновой кислоты (на 1,5 % при 1 часовой инкубации, на 6 % и на 10 % при 2 и 24 инкубации). Данные изменения в уровне ее содержания прослеживаются в относительных процентах. Однако при перерасчете в абсолютные проценты данное повышение отмечено не было (табл.2). Уровень содержания миристолеиновой кислоты снижается в динамике инкубации в среде Фентона в абс.% на 50 %, 75 % и 83 % при 1, 2 и 24 часа инкубации. Отмечена тесная отрицательная корреляция между уровнем вторичных продуктов перекисного окисления липидов и уровнем содержания моноеновых жирных кислот ($r = -0,94$).

Наблюдается так же снижение уровня содержания полиненасыщенных жирных кислот (табл.1). При 1 часовой инкубации происходит снижение уровня содержания полиненасыщенных жирных кислот на 4 % относительно контрольной группы, при 2 и 24 часовой инкубации данный показатель снижается на 20 % и 32 % соответственно. Причем, данное снижение в наибольшей степени обусловлено снижением уровня содержания жирных кислот семейства $\omega 3$. По данным литературы, энергия разрыва С-Н связи в молекулах насыщенных жирных кислот (типа палимитиновой или стеариновой) составляет около 93 ккал/моль. Энергия разрыва такой же связи у углеродного атома с двойной связью несколько меньше: 89 ккал/моль. Наименьшую энергию (77 ккал/моль) нужно затратить, чтобы оторвать Н-атом от углерода, находящегося в α -положении по отношению к двойной связи. Несудивительно поэтому, что олеиновая кислота окисляется в 11 раз быстрее стеариновой кислоты [1].

Представители семейства $\omega 3$ содержат в составе молекул наибольшее количество двойных связей (относительно представителей других семейств), в частности, α -линоленовая кислота содержит 3 двойных связи, эйкозапентаеновая и докозапентаеновая – по 5, а докозагексаеновая – 6. Этим и можно объяснить отмеченное выше увеличение реакционной способности (в отношении перекисного окисления) жирных кислот с увеличением числа двойных связей [1]. Тем самым наиболее выраженным снижением уровня содержания жирных кислот $\omega 3$ семейства (см. ниже).

Данные изменения обусловлены наибольшим снижением α -линоленовой кислоты 18:3 – на 22 % при 1 часовой инкубации, на 74 % и 83 % при 2 и 24 часовой инкубации в среде Фентона, несмотря на то, что в составе ее молекулы количество двойных связей меньше, чем у других представителей данного семейства. Причиной этому может быть то, что на общую скорость окисления ненасыщенных жирных

кислот, входящих в состав мембран клеток, могут влиять различные факторы. Определяющую роль в данном процессе может играть структурная организация липидов мембран – чем плотнее упаковка ненасыщенных жирных кислот в фосфолипиды мембран, тем меньше доступ кислорода или активных форм кислорода и ниже скорость зарождения радикалов. Любые воздействия, нарушающие упаковку ненасыщенных жирных кислот, ускоряют окисление.

Для структурированных липидов, по данным Ю.П.Козлова и др. [2], скорость перекисного окисления может и не зависеть от степени ненасыщенности жирных кислот [2]. Поэтому, можно предположить, что скорость окисления жирных кислот будет определяться скоростью диффузии активных форм кислорода к ним и концентрацией жирных кислот. На начальном этапе окисления мембраны под воздействием активных форм кислорода, возможно будет происходить окисление в большей степени α -линоленовой кислоты, поскольку уровень содержания α -линоленовой кислоты значительно превышает уровень содержания других изученных жирных кислот данного семейства (в среднем в 4,6 раза при 1 часовой инкубации, в 1,9 раза и 1,6 раза при 2 и 24 часовой инкубации эритроцитов соответственно).

В дальнейшем, когда в результате воздействия активных форм кислорода будет нарушена упаковка ненасыщенных жирных кислот, скорость окисления липидов будет существенно зависеть от степени их ненасыщенности, так как скорость реакции продолжения цепи зависит от количества двойных связей в ненасыщенных жирных кислотах. Поэтому изменение состава фосфолипидов мембран может существенно влиять на общую скорость перекисного окисления липидов [2].

В меньшей степени проявляется снижение содержания у других представителей семейства, таких как эйкозопентаеновая, докозапентаеновая и докозагексаеновая кислота – в среднем на 9 %, 30 % и 44 % при 1, 2 и 24 инкубации. Нами отмечена тесная отрицательная корреляция между уровнем содержания вторичных продуктов перекисного окисления липидов в мембране эритроцитов в динамике инкубации эритроцитов в среде Фентона и уровнем содержания ненасыщенных жирных кислот $\omega 3$ семейства ($r = -0,81$). Так же прослеживается тесная корреляция между уровнем гидроперекисей и уровнем содержания ненасыщенных жирных кислот семейства $\omega 3$ ($r = -0,80$). Из ненасыщенных жирных кислот $\omega 3$ семейства достоверные изменения характерны при 2 и 24 часовой инкубации ($p < 0,05$), при 1 часовой инкубации данных изменений не выявлено.

Уровень содержания жирных кислот представителей семейств $\omega 6$ и $\omega 9$ так же снижался, но менее интенсивно (табл.1). Так уровень содержания жирных кислот представителей семейства $\omega 6$ снижается на 3 %, 18 % и 32 % при 1, 2 и 24 часовой инкубации, соответственно, относительно данного показателя контрольной группы. Наиболее выраженное снижение характерно для γ -линоленовой кислоты 18:3 – на 37 %, 63 % и 73 % в условиях 1, 2 и 24 инкубации. Менее выраженные изменения отмечены в уровне содержания арахидоновой и линолевой кислот. Так, уровень содержания линолевой кислоты снижался на 4,5 % при 1 часовой инкубации, на 6,3 % и 27 % при 2 и 24 часовой инкубации. Наблюдается достоверное снижение уровня содержания арахидоновой кислоты – на 2 %, 20,6 % и 32,3 % в условиях инкубации эритроцитов в течение 1, 2 и 24 часов относительно данных контрольной

ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ЖИРНО-КИСЛОТНЫЙ СОСТАВ

группы. Снижение уровня содержания линолевой и арахидоновой кислот свидетельствует об активизации процессов перекисного окисления липидов [17]. Так же прослеживается тесная отрицательная корреляция между уровнем гидроперекисей и уровнем содержания ненасыщенных жирных кислот $\omega 6$ семейства ($r = -0,93$). Корреляция между уровнем вторичных продуктов перекисного окисления липидов и уровнем содержания ненасыщенных жирных кислот $\omega 6$ семейства составляет $-0,94$.

Уровень содержания жирных кислот представителей семейства $\omega 9$ так же снижался. В частности, уровень содержания докозеновой кислоты снижался на 17 %, 40 % и 47 % при инкубации эритроцитов в течение 1, 2 и 24 часов. Уровень содержания олеиновой кислоты 18:1 снижался на 8 %, 20 % и 36 % соответственно относительно данного показателя контрольной группы. Гораздо менее выраженные изменения характерны для эйкозатриеновой кислоты. Ее уровень снижался на 4 % при 1 часовой инкубации, на 6 % и 9,4 % при 2 и 24 часовой инкубации. Возможно, это связано с тем, что активные формы кислорода, атакуя единственную двойную связь в молекулах докозеновой и олеиновой кислот, приводят к более быстрому распаду молекулы, чем эйкозатриеновой кислоты, которая в составе своей молекулы имеет 3 двойные связи. Нами установлена хорошо выраженная отрицательная корреляция между уровнем содержания вторичных продуктов перекисного окисления липидов и уровнем содержания жирных кислот семейства $\omega 9$ ($r = -0,94$). Так же отмечена тесная отрицательная корреляция между уровнем содержания гидроперекисей и уровнем содержания жирных кислот семейства $\omega 9$ ($r = -0,93$).

Коэффициент насыщенности (отношение суммарного количества насыщенных кислот к ненасыщенным) в условиях инициации окислительных процессов *in vitro* выглядит следующим образом. Так, в ряду увеличения времени инкубации увеличивается насыщенность мембраны. Данная динамика обусловлена снижением ненасыщенных жирных кислот представителей семейства $\omega 3$ (α -линоленовой и докозапентаеновой кислот) и в меньшей степени за счет представителей семейства $\omega 6$ (γ -линоленовой и арахидоновой кислот).

Причины, вызывающие изменения в уровне содержания жирных кислот семейств $\omega 6$ и $\omega 9$ скорее всего идентичны причинам вызывающим изменения в уровне содержания жирных кислот $\omega 3$ -семейства и могут отличаться от них, возможно, только лишь скоростью и степенью деградации жирных кислот.

ВЫВОДЫ

1 Под влиянием окислительного стресса в условиях *in vitro* с использованием среды Фентона (Fe^{2+} , H_2O_2) осуществляются значительные изменения в жирно-кислотном составе мембран эритроцитов.

2 Отмечено существенное снижение уровня содержания ненасыщенных жирных кислот. Более выраженные изменения характерны для полиненасыщенных жирных кислот. В динамике инкубации эритроцитов в среде Фентона в течение 1, 2 и 24 часов отмечено снижение на 4 %, 20 % и 32 % соответственно, по сравнению с контрольной группой.

3. Из представителей семейств $\omega 3$, $\omega 6$ и $\omega 9$ отмечено более выраженное снижение уровня содержания жирных кислот представителей семейства $\omega 3$, содержащих в своем составе наибольшее число двойных связей. Изменение уровня содержания жирных кислот представителей семейства $\omega 3$ происходило на 16 %, 56 % и 67 % в условиях 1, 2 и 24 часов инкубации в среде Фентона.

4. Для представителей семейств $\omega 6$ и $\omega 9$ отмечено менее выраженное снижение уровня их содержания, в среднем на 5 %, 17 % и 31 % после 1, 2 и 24 часов инкубации в среде Фентона.

Список литературы

1. Владимирюв Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – С.39-40
2. Храпова Н.Г. Перекисное окисление липидов и системы, регулирующие его интенсивность // Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. – М.: Наука, 1981. – 168 с.
3. Попичев М.И., Толкачева Н.В., Кулакова С.Н., Конощенко С.В. Влияние биопрепарата «Политен» на показатели жирно-кислотного состава крови у спортсменов-волейболистов // Укр. биохим. журнал. – 1997. – Т.69, №4. – С.83-87.
4. Когтева Г.С., Безуглов В.В. Ненасыщенные жирные кислоты как эндогенные биорегуляторы // Биохимия. – 1998. – Т.63, вып.1. – С. 6-15.
5. Левина Л.Д., Зуева В.В., Аствацатурьян А.Г. Жирные кислоты в крови больных острым вирусным гепатитом // Лаб. дело. – 1981. – №11. – С.649-651.
6. Зенков Н.А., Меньшикова Е.Б. Активированные кислородные метаболиты в биологических системах // Успехи современной биологии. – 1993. – Т.113, вып. 3. – С.286-296.
7. Кармен Н.Б. Окислительная модификация мембран эритроцитов в остром периоде тяжелой черепно-мозговой травмы и ее коррекция клофидином // Бюлл. экп. биол. и мед. – 2003. – Т.136, №10. – С. 410-414.
8. Тищенко О.В., Креско В.Й. Мембранотропні ефекти нового похідного N-3 поліненасичених жирних кислот під час експериментального стресу // Укр. биохим. журнал. – 1995. – Т.67, №5. – С. 115-118.
9. Сим Э. Биохимия мембран. – М.: Медицина, 1985. – 250 с.
10. Мембраны и болезни / Под ред. Л. Борис, Д.Ф.Хоффмана, А.Лифа. – М.: Медицина, 1980. – 185 с.
11. Сербнинова Т.А. Получение свободной от гемоглобина мембраны эритроцитов и изменение ее структуры при повреждающих воздействиях и хранении консервированной крови: Автореф. дис... канд. мед. наук. – М., 1980. – 19 с.
12. Folch J., Less V., Slean-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. – 1957. – V.226, №2. – P.494-509.
13. Morris W.R., Smith L.M. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl acetates from lipids with boron fluoride methanol // J. Lipid Research. – 1964. – Vol. 5, № 4. – P.600-608.
14. Дубинина Е.Е., Бурумистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // Вопросы медицинской химии. – 1995. – Т. 41, вып. 1. – С. 24-26.
15. Єраносян Х.В., Конощенко С.В. Перекисна окисація ліпідів і стан антиоксидантної системи в еритроцитах в умовах ініціації процесів окислення *in vitro* // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2004. – №3. – С. 39-44.
16. Єраносян Х.В., Конощенко С.В. Перекисне окислення ліпідів в еритроцитах при ініціації окислювальних процесів *in vitro* і при патології // Ученые записки ТНУ. – 2004. – Т.17(56), № 1. – С.30-34.
17. Брюзгина Т.С., Амосова Е.Н., Лыховский О.И., Вретиц Г.М., Голод А.Г., Рева С.Н. Жирно-кислотный состав липидов в липопротеинах сыворотки крови при хронических заболеваниях печени // Клиническая лаб. диагн. – 1999. – №7. – С. 5-6.

Поступила в редакцию 20.01.2006 г.

УДК 612+591.1:615.849.11

ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ КРЫС С РАЗЛИЧНЫМИ КОНСТИТУЦИОНАЛЬНЫМИ ОСОБЕННОСТЯМИ К ДЕЙСТВИЮ ПЕРЕМЕННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ СВЕРХНИЗКОЙ ЧАСТОТЫ

Грабовская Е.Ю., Малыгина В.И.

Вопросам изучения индивидуальной чувствительности и variability ответных реакций живых организмов к воздействию различных абиотических и антропогенных факторов внешней среды в настоящее время отводится важнейшее место в медицине, экологической физиологии, физической реабилитации. Многочисленными исследованиями установлена различная индивидуальная чувствительность человека и животных к стрессу [1, 2], в том числе и к гипокинетическому [3], к электромагнитному излучению крайневысокой частоты [4]. Важнейшим подходом к решению вопросов о причинах variability реакций животных на действие определенных факторов является изучение реактивности организма в условиях теста «открытого поля» (ОП) [5]. Считается, что тест ОП является объективным методом формирования однородных групп и оценки поведения крыс [6].

Одним из факторов внешней среды, способным изменять функциональное состояние биологических систем различного уровня организации, является переменное магнитное поле (ПеМП) сверхнизкой частоты (СНЧ) [7 – 9]. Результаты исследований условнорефлекторной деятельности, нейрофизиологические исследования свидетельствуют о том, что центральной нервной системе (ЦНС) принадлежит важная роль в формировании и контроле реакций организма на электромагнитные воздействия [10 – 12]. Цель настоящей работы заключалась в исследовании особенностей поведенческой адаптации крыс с различными конституциональными особенностями к действию ПеМП СНЧ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть работы выполнена на белых крысах – самцах массой 200-230 г. Были сформированы группы животных с различным уровнем двигательной активности и низкой эмоциональностью при помощи теста «открытого поля» [6, 13]. В нашем исследовании «открытое поле» (ОП) представляет собой площадку размером 80 x 90 см, расчерченную на квадраты и ограниченную барьером высотой 40 см. Тестирование проводилось в затемненной

звукоизолированной камере, площадка ОП равномерно освещалась лампой мощностью 150 Вт, расположенной на высоте 1 м от уровня пола в центре площадки. Крысу помещали на середину площадки и в течение 2-х мин. регистрировали следующие показатели: горизонтальную двигательную активность (число пересеченных квадратов) и вертикальную двигательную активность (число подъемов на задние лапы), характеризующие ориентировочно-исследовательскую реакцию и частоту дефекаций и уриаций, которые рассматривались в качестве показателей эмоциональности.

На основе этой методики были выделены животные с низким (НДА), средним (СДА) и высоким (ВДА) уровнем двигательной активности и низкой эмоциональностью. Во всех дальнейших экспериментах каждую из трех выделенных групп разделили на 2 подгруппы. Крысы одной подгруппы служили биологическим контролем, вторую подгруппу систематически подвергали 3-х часовому воздействию ПеМП частотой 8 Гц индукцией 5 мкТл в течение 9 суток. Эксперименты проводились через 2-3 недели после формирования групп.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали проведенные исследования, поведенческая адаптация к действию ПеМП частотой 8 Гц индукцией 5 мкТл у крыс с различным уровнем двигательной активности в ОП протекает неоднозначно.

У животных с НДА в контрольной группе при первом испытании в ОП зарегистрирована минимальная как горизонтальная ($6,7 \pm 1,2$ усл. ед.), так и вертикальная ($2,2 \pm 0,6$ усл. ед.) двигательная активность. В дальнейшем, после первого-пятого тестирования горизонтальная двигательная активность снизилась до $3,2 \pm 0,4$ усл. ед., т.е. на 44,5% относительно исходного уровня, а вертикальная двигательная активность – до $1,2 \pm 0,6$ усл. ед. или на 52% (рис. 1).

К девятому дню эксперимента отмечено прогрессивное снижение и горизонтальной двигательной активности, и вертикальной двигательной активности, что свидетельствует о быстром угашении исследовательской деятельности.

В экспериментальной группе после первого воздействия ПеМП горизонтальная двигательная активность увеличилась на 61% ($p < 0,01$) по сравнению с исходным уровнем и составила $12,4 \pm 2,0$ усл. ед., вертикальная двигательная активность – на 12%. К третьим суткам эксперимента горизонтальная двигательная активность в 1,4 раза превышала исходное значение ($p < 0,01$), вертикальная двигательная активность возросла в 2,4 раза ($p < 0,01$). После девяти воздействий ПеМП уровень горизонтальной двигательной активности и вертикальной двигательной активности снизился до $4,4 \pm 0,8$ усл. ед. и $1,3 \pm 0,2$ усл. ед. соответственно. Значения горизонтальной двигательной активности во все сроки эксперимента превышали контрольные в 2,5-3 раза ($p < 0,01$). Уровень дефекации в условиях воздействия ПеМП увеличился по сравнению с контролем и наиболее значимым был на пятые сутки эксперимента.

Такая динамика свидетельствует о возрастании интенсивности процессов возбуждения и снижении силы тормозного процесса, что может быть расценено как

ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ КРЫС

увеличение возбудимости ЦНС и склонности возбудительного процесса к инертному течению [13]. У животных с НДА в ОП под действием ПемП частотой 8 Гц развивается эмоциональная реакция тревожности.

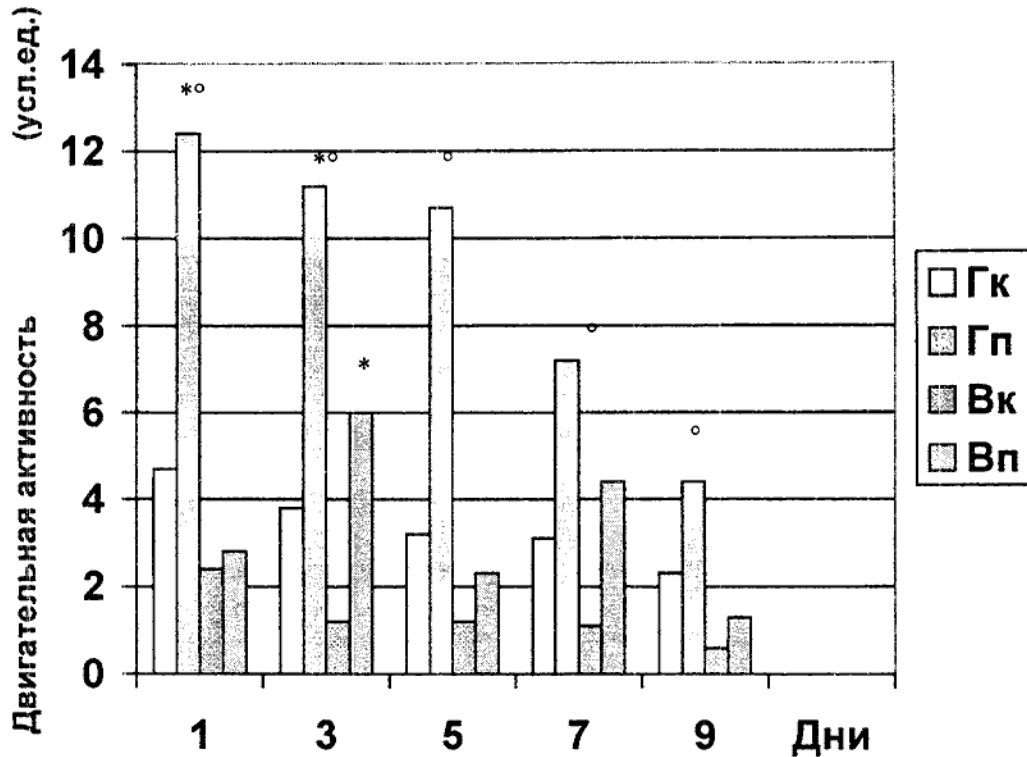


Рис.1. Динамика горизонтальной и вертикальной двигательной активности у крыс с НДА в ОП:

Гк – горизонтальная двигательная активность (контрольная группа),

Гп – горизонтальная двигательная активность (экспериментальная группа),

Вк – вертикальная двигательная активность (контрольная группа),

Вп – вертикальная двигательная активность (экспериментальная группа)

* – $p < 0,01$ - с исходным уровнем;

° – $p < 0,01$ - с контрольной группой.

Поведение крыс со СДА в контрольной группе при первом тестировании в ОП отличалось от поведения животных с НДА. Для них характерны более высокие показатели горизонтальной и вертикальной двигательной активности, равные $24,2 \pm 1,0$ усл.ед и $6,4 \pm 0,5$ усл.ед. соответственно (табл. 1).

При повторном тестировании уровень горизонтальной двигательной активности снизился на 25% ($p < 0,01$), а вертикальной двигательной активности – на 59,4% ($p < 0,01$). К девятым суткам горизонтальная двигательная активность понизилась в 6 раз, а вертикальная двигательная активность – в 11 раз ($p < 0,01$).

Таблица 1.

Динамика горизонтальной и вертикальной двигательной активности у крыс со СДА в ОП

Двиг. акт.	Группы	Исх. данные	1	3	5	7	9
Гор.ДА	К (1)	24,2±1,0	18,1±3,4	12,5±1,1	12,0±0,9	8,0±1,0	4,0±0,6
	П (2)	24,0±1,5	23,5±1,3	8,0±0,6 $P_{1,2}<0,01$	9,0±1,0 $P_{1,2}<0,01$	1,5±0,6 $P_{1,2}<0,001$	0,8±0,5 $P_{1,2}<0,01$
Верт.ДА	К (1)	6,4±0,5	2,6±0,9	1,7±0,7	1,0±0,3	1,0±0,7	0,6±0,4
	П (2)	6,4±0,5	5,8±1,0 $P_{1,2}<0,05$	1,2±0,8	1,0±0,8	0,6±0,4	0,2±0,1

Примечание: К – контрольная группа животных, П – экспериментальная группа животных, $P_{1,2}$ – достоверность различий между показателями контрольной и экспериментальной групп.

При воздействии ПеМП на животных со СДА в ОП в первый-второй дни эксперимента уровень как горизонтальной двигательной активности, так и вертикальной двигательной активности снижался не так резко, как в контрольной группе. Начиная с третьих суток опыта данные показатели оказались на 30-35%, а на пяте-девяте сутки -- на 50-80% ниже контрольных значений. Дефекация у крыс со СДА в ОП увеличивалась в 1,5-3,5 раза ($p<0,05$). Наиболее выражено это явление было на первые-пяте сутки эксперимента.

Доказано, что первой на электромагнитное воздействие реагирует центральная нервная система, которой принадлежит ведущая роль в формировании и контроле реакций организма на действие различных факторов. В физиологических механизмах влияние электромагнитных раздражителей доминирует непосредственное действие данного фактора на структуры ЦНС [14, 15].

Известно также, что горизонтальная и вертикальная локомоторная активность в ОП, коррелируя между собой, в комбинации могут отражать уровень неспецифической возбудимости и служат показателем исследовательского поведения [16]. С другой стороны, корреляция горизонтальной двигательной активности с частотой дефекации является показателем высокой эмоциональности животного.

Как показали наши исследования, итогом действия ПеМП является усиление процессов торможения в ЦНС, изменение эмоциональной сферы животных. Увеличение интенсивности торможения и снижение возбудимости, происходившие под влиянием воздействия слабых ПеМП, свидетельствуют о том, что уже после трех-пяти-кратных трехчасовых сеансов развивается поведенческая адаптация. Описанные изменения двигательного и ориентировочно-исследовательского поведения крыс со СДА в ОП полностью соответствуют данным [7].

При действии ПеМП частотой 8 Гц на крыс со средней двигательной активностью изменяется и эмоциональная сфера. Полученные нами данные, а также литературные сведения позволяют считать, что у животных этой группы

ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ КРЫС

развивается эмоциональная реакция страха [7]. Об этом свидетельствует увеличение в 1,5-3 раза дефекации и уринаций в сочетании с угнетением общей двигательной активности и ростом числа и времени реакций замирания.

Крысы с ВДА в ОП показали высокие значения как вертикальной, так и горизонтальной двигательной активности, равные в среднем $47,2 \pm 1,9$ усл.ед. и $11,6 \pm 1,5$ усл.ед. соответственно (рис. 2).

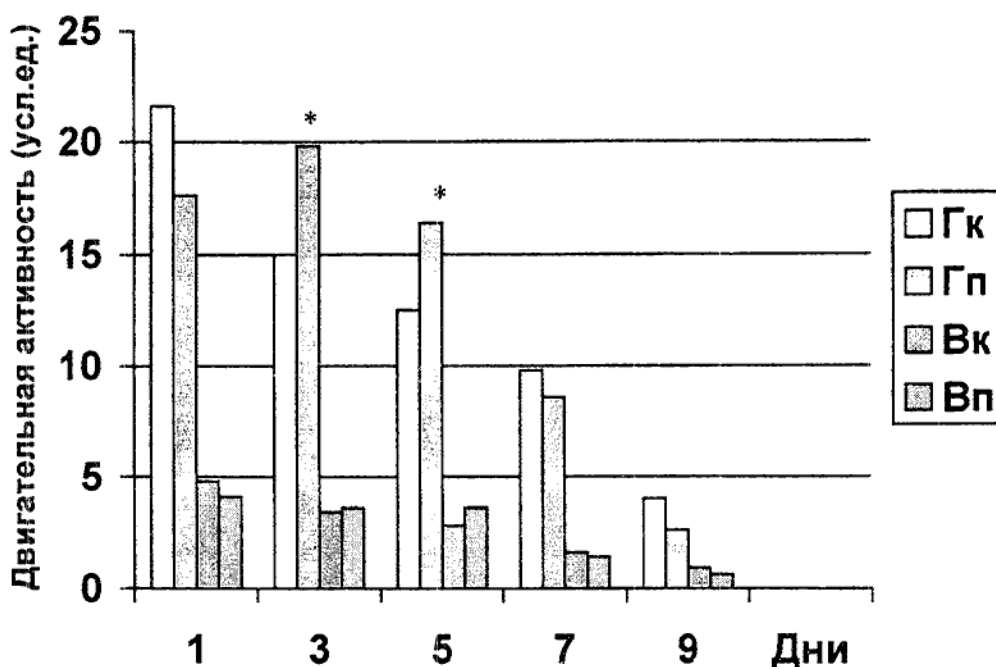


Рис.2. Динамика горизонтальной и вертикальной двигательной активности у крыс с ВДА в ОП:

Гк – горизонтальная двигательная активность (контрольная группа),

Гп – горизонтальная двигательная активность (экспериментальная группа),

Вк – вертикальная двигательная активность (контрольная группа),

Вп – вертикальная двигательная активность (экспериментальная группа)

* – $p < 0,01$ – достоверность различий по сравнению с контрольной группой.

Для них характерна выраженная подвижность, длительные горизонтальные пробежки, частое вставание на задние лапы, целенаправленная исследовательская реакция. При повторных тестированиях в течение двух-девяти суток зарегистрировано очень медленное снижение горизонтальной и вертикальной двигательной активности.

При воздействии ПеМП на крыс с ВДА после одного-двух сеансов не произошло достоверного изменения горизонтальных и вертикальных компонентов двигательной активности. На третьи-пятые сутки эксперимента показатели горизонтальной и вертикальной двигательной активности возросли на 30-32% ($p < 0,01$) по сравнению с контрольным уровнем. К девятым суткам эксперимента значения этих показателей

были на 35-38% ниже, чем у контрольных животных. Уровень дефекации повысился в 1,5-3 раза по сравнению с контрольной группой.

При сравнении результатов исследования динамики адаптационных процессов у крыс со СДА и ВДА обращает на себя внимание одинаковая направленность и выраженность изменений. Различия заключаются во времени возникновения этих изменений. У крыс с ВДА первоначальная реакция к действию ПеМП развивается на два-три дня позже и к девятым суткам эксперимента угашение ориентировочно-исследовательской реакции ещё не фиксировалось.

Таким образом, результаты проведенного исследования говорят о том, что крысы с различным уровнем двигательной активности неоднозначно реагируют на действие ПеМП. Наиболее выраженные изменения развиваются у крыс с НДА. Полученные данные согласуются с данными литературы о том, что один и тот же фактор у различных животных может вызывать разнообразные ответные реакции [2, 3, 17]. Существование разновидностей адаптационных реакций связывают с их реализацией через различные «начальные звенья» нервной системы и дальнейшими путями распространения этих влияний [2].

По данным различных авторов, разный уровень двигательной активности в ОП обусловлен различной возбудимостью ЦНС. В работах [5, 18] показано, что между низкой двигательной активностью в ОП и силой возбудительного процесса существует достоверная корреляционная связь, а уровень горизонтальной и вертикальной двигательной активности зависит от общего уровня возбудимости животного. Следовательно, крысы с различным уровнем двигательной активности в ОП отличаются друг от друга возбудимостью, о чем можно судить по статистически достоверным отличиям в скорости выработки двигательных пищевых и оборонительных рефлексов.

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что у крыс с различной двигательной активностью (возбудимостью) развивается неоднозначная реакция на действие ПеМП. Типичная реакция на действие ПеМП развивается у крыс со средней двигательной активностью, которые преобладают в популяции. У крыс с высокой двигательной активностью характер развивающейся реакции не отличается от типичной, но развивается реакция в более поздние сроки. У животных с низкой двигательной активностью реакция на действие ПеМП наиболее выражена.

Полученные данные свидетельствуют о том, что у животных с различным уровнем двигательной активности, а следовательно, конституциональными особенностями, адаптация к действию слабых ПеМП развивается по-разному.

ВЫВОДЫ

1. Результаты проведенного исследования позволяют считать, что у крыс с различными конституционными особенностями воздействие слабых переменных магнитных полей развивается неоднозначная поведенческая реакция.

2. У животных со средней и высокой двигательной активностью переменное магнитное поле уменьшает двигательную активность, что свидетельствует об усилении процессов торможения в центральной нервной системе. У животных с

ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ КРЫС

высокой двигательной активностью снижение двигательной активности развивается в более поздние сроки.

3. У животных с низкой двигательной активностью воздействие слабого переменного магнитного поля приводит к увеличению вертикальной и горизонтальной двигательной активности, что говорит об усилении процессов возбуждения в центральной нервной системе.

Список литературы

1. Саркисова К.Ю., Куликов М.А. Индивидуальные различия в реакциях на острый стресс, связанные с типом поведения (прогнозирование устойчивости к стрессу) // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1994. - №1. - С. 89-92.
2. Судаков К.В. Индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу. - М.: Горизонт, 1998. - 263 с.
3. Сантана Вега Леонель. Роль индивидуальных особенностей двигательной активности в развитии гипокинетического стресса у крыс: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. - Симферополь, 1991. - 21 с.
4. Чуян Е.Н., Темурьянц Н.А., Куртсеитова Э.Э. Зависимость изменения психофизиологического состояния детей с различными сенсорными фенотипами от локализации воздействия ЭМИ КВЧ // Миллиметровые волны в биологии и в медицине. - 2002. - №1. - С. 40-47.
5. Кулагин Д.А. Корреляция между показателями поведения в «открытом поле» и уравновешенностью нервных процессов у крыс // XXVII совещание по проблемам высшей нервной деятельности: Тез. докл. - 1984. - С. 295.
6. Hall C.S. Emotional behaviour in the rat. Debacation and urination as measures of individual differences in emotionality // J.Comp/Physiol. - 1934. - Vol. 18. - P. 38-58.
7. Adey W.R. Physiological signaling across cell membranes and cooperative influences of extremely low frequency electromagnetic fields // In: Frohlich H. (ed) Biological coherence and response to external stimuli. - Springer, Berlin Heidelberg, New York. - 1988. - P. 148-170.
8. Темурьянц Н.А. Нервные и гуморальные механизмы адаптации к действию ионизирующих излучений: Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. - М., 1989. - 44 с.
9. Владимирский Б.М., Темурьянц Н.А. Влияние солнечной активности на биосферу-ноосферу (Гелиобиология от А.Л. Чижевского до наших дней). - М.: Изд-во МНЭПУ, 2000. - 374 с.
10. Музалевская Н.И. Магнитное поле сверхвысоких частот малых напряженностей и состояние адаптационного резерва у подопытных животных // Пробл. космич. биологии. - 1982. - №43. - С. 82-98.
11. Сидякин В.Г. Влияние глобальных экологических факторов на нервную систему. - Киев: Наукова думка, 1989. - 160 с.
12. Сидякин В.Г. Влияние флуктуаций солнечной активности на биологические системы // Биофизика. - 1992. - Т. 37, №4. - С. 647-652.
13. Маркель А.Л. К оценке основных характеристик поведения крыс в тесте «открытого поля» // Журнал высшей нервной деятельности. - 1981. - т.31, №2. - С. 301-307.
14. Холодов Ю.А., Шишко М.А. Электромагнитные поля в нейрофизиологии. - М.: Наука, 1979. - 168 с.
15. Чижикова Ф.А. Влияние СВЧ-облучения низкой интенсивности на импульсные потоки нейронов коры больших полушарий // Проблемы электромагнитной нейробиологии. - М.: Наука, 1988. - С. 24-31.
16. Семагин В.С., Зухарь А.В., Куликов М.А. Тип нервной системы, стрессоустойчивость и репродуктивная функция. - М.: Наука, 1988. - С. 134.
17. Фурдуй Ф.И. Физиологические механизмы стресса и адаптации при остром действии стресс-факторов. - Кишинев: Штиинца, 1987. - 239 с.

Поступила в редакцию 20.04.2006 г.

УДК 591.18:615.849.11

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕ ВЫСОКОЙ ЧАСТОТЫ И АНАЛЬГИНА ПРИ ТОНИЧЕСКОЙ БОЛИ У КРЫС

Джелдубаева Э.Р., Чуян Е.Н.

Проблема боли и обезболивания занимает одно из центральных мест в современной физиологии и медицине и является предметом широкомасштабного междисциплинарного исследования. На сегодняшний день наиболее широко распространенным парентеральным анальгетиком является анальгин. Однако применение его, как и других анальгетических препаратов, имеет побочные эффекты (например, диспепсию, изжогу, нарушение функций почек и пр.) и повышает риск развития таких тяжелых, иногда фатальных осложнений, как агранулоцитоз и реакции гиперчувствительности [1 – 3]. В связи с этим в США, Норвегии, Великобритании, Нидерландах, Швеции этот препарат исключен из фармакопеи еще в 70-х годах, а в целом его потребление принудительно снизили в 34 странах. Анальгетические препараты нового поколения также не лишены противопоказаний и осложнений при применении. Так, например, побочным действием кеторолака (современного анальгетика, предназначенного для купирования сильных болей) является длительно сохраняющееся (до 2-х суток после отмены препарата) угнетение агрегации тромбоцитов, приводящее к недостаточности механизмов тромбоцитарного гемостаза [4]. Поэтому ведется поиск новых немедикаментозных средств, обладающих анальгетическим эффектом.

На наш взгляд, новым перспективным направлением анальгезии в настоящее время может явиться использование низкоинтенсивного электромагнитного излучения (ЭМИ) крайне высокой частоты (КВЧ). Опыт применения этого метода в медицине показал, что данный физический фактор хорошо сочетается с другими методами лечения (лекарственными, физиотерапевтическими и др.), не имеет отдаленных неблагоприятных последствий и абсолютных противопоказаний, повышает неспецифическую резистентность, мобилизует защитные иммунные и регуляторные нейрогуморальные функции организма, обладает антистрессорным, седативным, иммуномодулирующим действием [5 – 7]. В наших предыдущих работах экспериментально доказана антиноцицептивная эффективность КВЧ-воздействия при экспериментально вызванной тонической и висцеральной боли у крыс [8]. Однако сравнительный анализ анальгетического действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ относительно других анальгетиков, в частности, анальгина до настоящего времени не проводился.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

Исходя из вышеизложенного, целью данного исследования явилось сравнительное исследование эффективности анальгетического действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ (7,1 мм, 0,1 мВт/см²) и анальгина у крыс при экспериментально вызванной тонической боли.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для сравнительного анализа обезболивающего действия ЭМИ КВЧ и анальгина было проведено экспериментальное исследование на взрослых белых крысах-самцах линии Вистар массой 180-220 грамм ($n = 36$), полученных из питомника научно-исследовательского института биологии Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина. Для экспериментов отбирали животных со средним уровнем двигательной активности и низкой эмоциональностью, определяемых в тесте «открытого поля», которые, согласно нашим [9] и литературным данным [10], преобладают в популяции и, следовательно, можно утверждать, что именно у этих животных развивается наиболее типичная реакция на любое воздействие.

Всех животных распределили на шесть равноценных групп по шесть особей в каждой. Тоническую боль у крыс всех групп подвергали подкожной инъекции 5%-го раствора формалина (0,08 мл на 100 грамм веса) в дорсальную поверхность стопы задней конечности. «Формалиновый тест» является классической моделью определения эффективности анальгетического действия фармакологических препаратов и физиотерапевтических факторов [11]. Животные первой группы подвергались только инъекции формалина (Ф) и составляли контроль относительно других групп крыс.

Животных второй группы непосредственно перед инъекцией формалина подвергали воздействию ЭМИ КВЧ с помощью терапевтического генератора «КВЧ. РАМЕД-ЭКСПЕРТ – 01» с длиной волны 7,1 мм (частота излучения 42,3 ГГц) и плотностью потока мощности 0,1 мВт/см², изготовленного Центром радиофизических методов диагностики и терапии «РАМЕД» Института технической механики НАНУ, г. Днепропетровск (регистрационное свидетельство № 783/99 от 14.07.99, выданное КНМТ МОЗ Украины о праве на применение в медицинской практике в Украине). Воздействие осуществлялось по 30 минут на затылочно-воротниковую область. Локализация воздействия обусловлена тем, что данная область у млекопитающих является одной из основных рефлексогенных зон, где обнаружено большое количество рецепторных окончаний, сосудов микроциркуляторного русла, лимфатических сосудов, биологически активных точек, тучных клеток, т.е. именно тех элементов, которые в настоящее время рассматриваются в качестве первичных мишеней для волн миллиметрового диапазона [12].

Животные третьей – шестой групп подвергались внутрибрюшинной инъекции раствора анальгина в дозах 4, 6, 8, 10 и 12 мг/кг соответственно за 20 минут до инъекции формалина [13] (А₄+Ф, А₆+Ф, А₈+Ф, А₁₀+Ф, А₁₂+Ф). Крысам первой и второй групп вместо анальгина вводили 0,9% раствор NaCl.

После инъекции формалина каждую крысу возвращали в свою клетку и с помощью специальной компьютерной программы (Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАНУ, Киев) регистрировали на протяжении 60 минут продолжительность

поведенческих реакций. Показателем интенсивности болевой реакции у крыс служила продолжительность лизания пораженной конечности. Для исследования анальгетической эффективности воздействия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ и инъекции растворов анальгина в разных дозах была введена формула:

$$A_0 = 100 - \frac{\tau_{\text{экс}}}{\tau_{\text{ф}}} \cdot 100,$$

где A_0 – анальгетическая эффективность экспериментального воздействия, $\tau_{\text{ф}}$ – общая продолжительность болевой реакции у крыс контрольной группы, подвергнутых инъекции формалина, $\tau_{\text{экс}}$ – общая продолжительность болевой реакции у крыс экспериментальных групп, подвергнутых воздействию ЭМИ КВЧ или введению раствора анальгина в разных дозах.

Небольшие поведенческие реакции регистрировали по продолжительности двигательной активности и пассивного поведения. При этом двигательная активность оценивалась по сумме времени перемещения животных по клетке и времени, затраченного животными на принятие пищи и груминг. Длительность пассивного поведения представляла сумму времени, затраченную животными на сон и покой.

Учитывая тот факт, что у грызунов болевой порог в течение суток варьирует [14], эксперименты проводились в одно и то же время светлой половины суток (с 9.00 до 11.00 часов).

После проверки выборки на нормальность распределения, обработку и анализ экспериментальных данных осуществляли с помощью параметрических методов. В качестве критерия оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали t-критерий Стьюдента. Обработка результатов производилась на ПК с использованием стандартных статистических программ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. **Поведенческие реакции крыс при тонической боли («формалиновый тест»).** Как показали результаты исследования, введение раствора формалина вызвало у крыс бурную реакцию лизания пораженной конечности общей продолжительностью $928,57 \pm 59,09$ с за 60 минут наблюдения

Известно, что болевая реакция на подкожное введение раствора формалина состоит из двух фаз [11, 15]. Ранняя фаза длится первые 5-10 минут после инъекции, обусловлена возникновением компонента острой боли «формалинового теста» и связана в основном с прямой активацией тонких немиелиновых С-волокон, большинство из которых передает импульсацию от болевых рецепторов. Вторая фаза начинается через 10-15 минут после инъекции формалина и длится около часа. Она является результатом развития воспалительного процесса в периферических тканях и изменений функций задних рогов серого вещества спинного мозга, где находятся нейроны болевых восходящих путей [16] и, по существу, является тоническим компонентом поведенческой болевой реакции.

В наших исследованиях у животных контрольной группы (Ф) в ответ на инъекцию формалина развивалась типичная двухфазная болевая реакция, первая фаза которой регистрировалась с первых минут тестирования ($120,50 \pm 6,54$ с),

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

постепенно снижаясь к десятой минуте наблюдения до $23,50 \pm 4,40$ с. Общая продолжительность первой фазы болевой реакции составила $144,00 \pm 10,94$ с. После десяти минут тестирования наблюдалось развитие второй тонической фазы болевой реакции, которая характеризовалась постепенным увеличением длительности болевой реакции с максимумом проявления на 20 – 40-ой минутах после инъекции формалина ($121,00 \pm 6,20$ с). Общая продолжительность второй фазы болевой реакции составила $784,57 \pm 48,15$ с. Затухания болевой реакции у животных данной группы не наблюдалось и через 60 минут исследования (рис. 1).

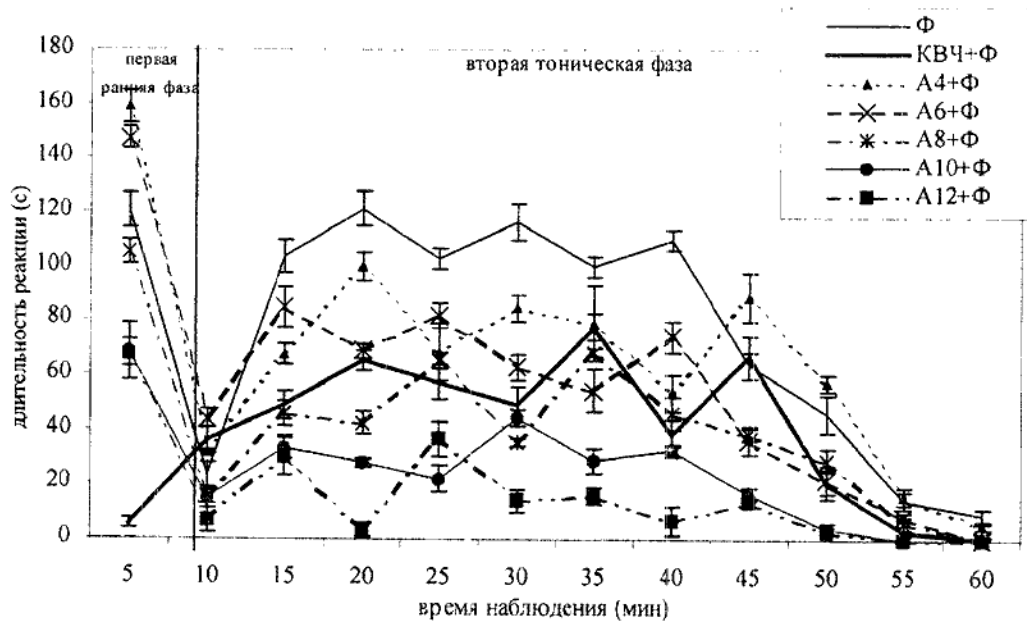


Рис. 1. Динамика продолжительности болевой поведенческой реакции у крыс в формалиновом тесте (Ф), на фоне предварительного воздействия электромагнитного излучения крайне высокой частоты (КВЧ+Ф) и введения анальгина в дозах 4 мг/кг ($A_4+Ф$), 6 мг/кг ($A_6+Ф$), 8 мг/кг ($A_8+Ф$), 10 мг/кг ($A_{10}+Ф$), 12 мг/кг ($A_{12}+Ф$)).

Длительность двигательной активности составила $223,24 \pm 40,30$ с (продолжительность реакции бега – $136,83 \pm 14,41$ с, груминга – $84,57 \pm 24,67$ с, приема пищи – $1,83 \pm 1,22$ с), пассивного поведения – $2528,43 \pm 82,64$ с (рис. 2). Сопоставление полученные данные с результатами предыдущих исследований [17], показало значительное снижение двигательной активности и увеличение продолжительности пассивного поведения крыс этой группы по сравнению со значениями этих показателей у животных, которым вместо формалина вводили физраствор. Следовательно, полученные данные свидетельствуют о том, что болевой стресс вызывает у животных первой группы общий двигательный дефицит, защитную реакцию «затаивания», являющуюся результатом эмоциональной реакции страха, состояния общего угнетения центральной нервной системы животного [18] или проявления депрессивно-подобного состояния [19, 20].

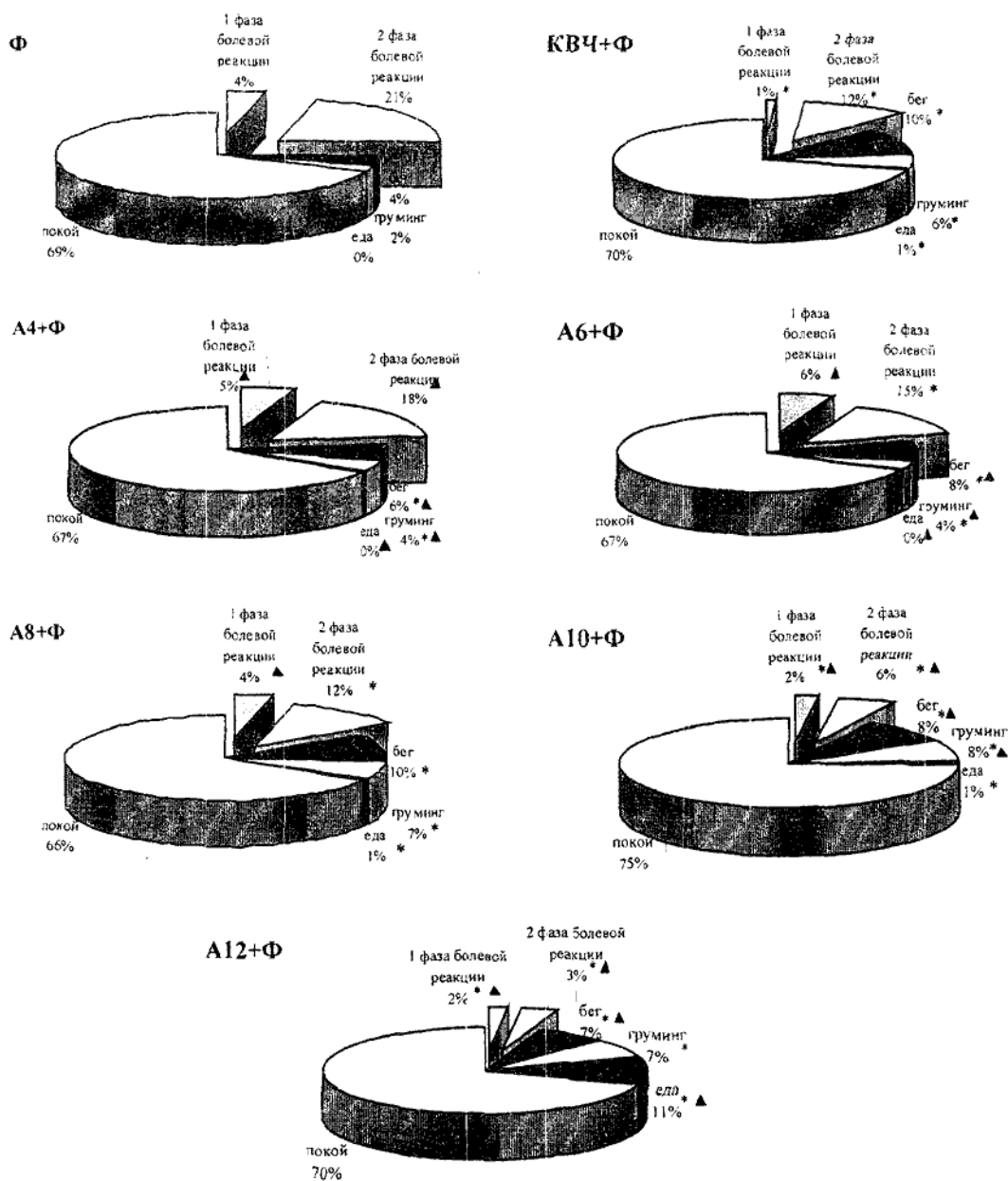


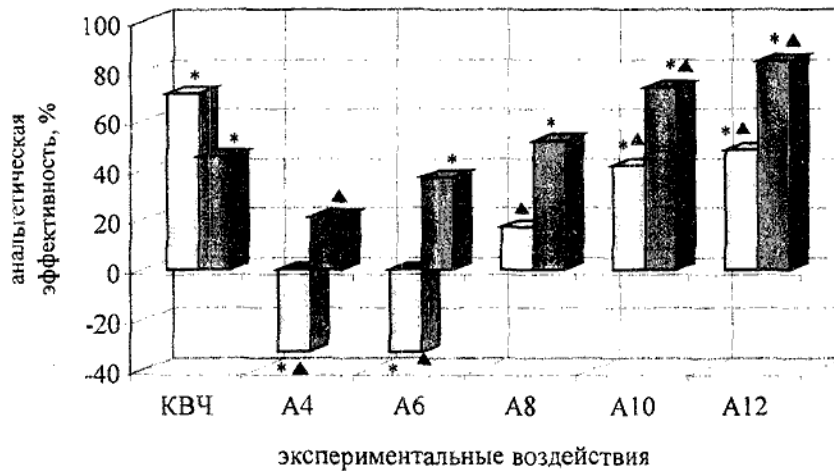
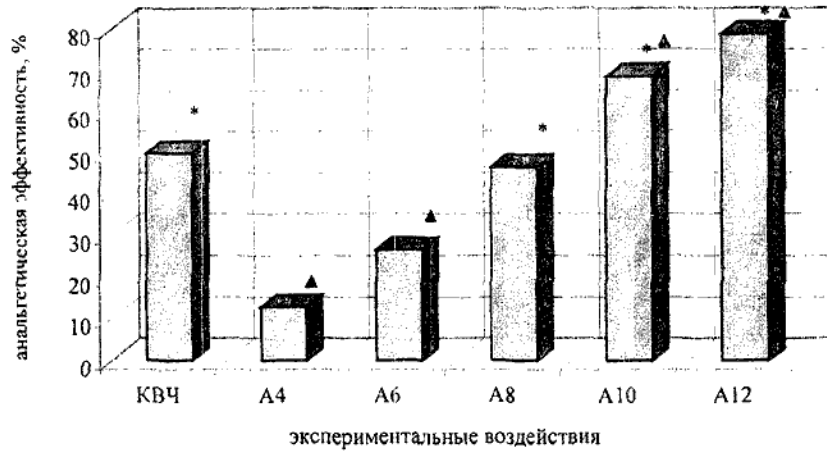
Рис. 2. Соотношение общих продолжительностей болевой (первой острой и второй тонической фаз) и неболевых поведенческих реакций у крыс, вызванной введением формалина (Ф), на фоне предварительного воздействия электромагнитного излучения крайне высокой частоты (КВЧ+Ф) и анальгина в дозах 4 мг/кг (A₄+Ф), 6 мг/кг (A₆+Ф), 8 мг/кг (A₈+Ф), 10 мг/кг (A₁₀+Ф) и 12 мг/кг (A₁₂+Ф).

* – достоверность различий относительно значений показателей у животных, подвергнутых изолированному воздействию формалинового теста, ▲ – достоверность различий относительно значений показателей у животных, подвергнутых предварительному КВЧ-воздействию.

2. Влияние ЭМИ КВЧ на изменение поведенческих реакций крыс при экспериментально вызванной тонической боли. Предварительное однократное КВЧ-воздействие достоверно уменьшило общую продолжительность болевой реакции лизания пораженной конечности на 50,40 % ($p < 0,01$) относительно данного показателя у животных, подвергнутых только инъекции формалина (рис. 3 – А). Длительность первой ранней острой фазы «формалинового теста» уменьшилась на 71,18 % ($p < 0,01$), второй тонической фазы – на 46,66 % ($p < 0,01$) относительно значений у крыс контрольной группы (рис. 3 – Б). Причем произошло не только существенное уменьшение продолжительности первой фазы болевого стресса, но и изменение ее динамики. В отличие от животных, подвергнутых изолированному действию формалина, у крыс при предварительном КВЧ-воздействии болевая реакция в первые минуты тестирования практически не регистрировалась ($5,50 \pm 1,71$ с), а ее продолжительность плавно увеличилась к 10-ой минуте наблюдения ($36,00 \pm 4,76$ с), продолжая увеличиваться во второй фазе болевого стресса с максимумом проявления на 20-ой ($65,40 \pm 3,68$ с), 35-ой ($77,60 \pm 5,11$ с) и 45-ой ($66,40 \pm 7,81$ с) минутах наблюдения. Следовательно, при КВЧ-воздействии первая фаза «формалинового теста» практически не развивалась, а продолжительность второй фазы значительно уменьшилась (рис. 1). Об этом свидетельствует и анализ анальгетического действия ЭМИ КВЧ при развитии первой острой и второй тонической фаз «формалинового теста» (рис. 3 – Б). Полное затухание болевой реакции у животных второй группы (КВЧ+Ф) регистрировалось с 55-ой минуты после инъекции формалина.

Анализ продолжительности неболевых поведенческих реакций показал, что длительность двигательной активности у животных, подвергнутых предварительному КВЧ-воздействию, повысилась в 2,76 раза ($p < 0,01$) (увеличились продолжительности реакций бега в 2,73 раза ($p < 0,01$), груминга – в 2,54 раза ($p < 0,01$), приема пищи – в 14,29 раза ($p < 0,001$)) относительно значений у животных первой группы (Ф). Длительность пассивного поведения животных второй группы имела лишь тенденцию к увеличению (на 0,55 % ($p > 0,05$)) относительно значений у крыс первой группы (рис. 2). Следовательно, воздействие ЭМИ КВЧ, обладая антистрессорным действием [7], увеличивает продолжительность двигательной активности животных в «формалиновом тесте», что способствует снижению эмоциональной реакции страха, развитию адаптивного поведения и свидетельствует об антиноцицептивном действии этого фактора.

Таким образом, после однократного 30-минутного воздействия ЭМИ КВЧ зарегистрирован достоверный антиноцицептивный эффект этого физического фактора при экспериментально вызванной тонической боли, отмеченный и в наших предыдущих исследованиях [8, 17]. Однако настоящим исследованием показано, что наблюдалось не только существенное уменьшение продолжительности, но и изменение динамики первого острого компонента, а также значительное уменьшение продолжительности второго тонического компонента болевой реакции в «формалиновом тесте».



□ 1 фаза болевой реакции ■ 2 фаза болевой реакции

Рис. 3. Сравнение анальгетического действия (в %) низкочастотного электромагнитного излучения крайне высокой частоты (КВЧ) и анальгина в дозах 4 мг/кг (A₄), 6 мг/кг (A₆), 8 мг/кг (A₈), 10 мг/кг (A₁₀), 12 мг/кг (A₁₂) на общую продолжительность болевой реакции (А) и продолжительности первой острой и второй тонической фаз (Б) болевой реакции у крыс в «формалиновом тесте».

* – достоверность различий относительно значений показателей у животных, подвергнутых изолированному воздействию формалинового теста, ▲ – достоверность различий относительно значений показателей у животных, подвергнутых предварительному КВЧ-воздействию.

3. Влияние анальгина на изменение поведенческих реакций крыс при экспериментально вызванной тонической боли. У животных, которым до «формалинового теста» вводили анальгин происходило уменьшение болевой

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

реакции. Причем антиноцицептивное действие анальгина зависило от дозы, о чем свидетельствует отрицательное корреляционное взаимодействие общей болевой реакции и дозы анальгина, вводимого животным до тестирования (рис. 4). Так, при внутрибрюшинном введении анальгина в дозе 4 мг/кг у крыс третьей группы (А₄+Ф) общая продолжительность болевой реакции имела лишь тенденцию к уменьшению на 14,00 % ($p > 0,05$) относительно значений у животных контрольной группы. При этом раствор анальгина в этой дозе лишь незначительно снижал продолжительность второй тонической фазы «формалинового теста» на 22,38 % ($p > 0,05$), существенно увеличивая длительность первой острой фазы на 32,40 % ($p < 0,05$). Необходимо также отметить, что общая продолжительность болевой реакции у животных этой группы была значительно больше на 73,41 % ($p < 0,01$) соответствующего показателя у крыс, подвергнутых предварительному КВЧ-воздействию. Затухания болевой реакции у крыс третьей группы через 60 минут наблюдения не отмечалось (рис. 1). Продолжительность двигательной активности у животных данной группы повысилась на 64,70 % ($p < 0,01$) (длительность реакции бега увеличилась на 52,98 % ($p < 0,05$), груминга – на 73,42 % ($p < 0,01$), приема пищи – в 6,36 раз ($p < 0,001$)), а длительность пассивного поведения уменьшилась на 8,60 % ($p > 0,05$) относительно соответствующих значений у животных первой контрольной группы (Ф) (рис. 2), что свидетельствует о снижении двигательного дефицита у животных в «формалиновом тесте», а, следовательно, об антиноцицептивном действии анальгина в данной дозе.

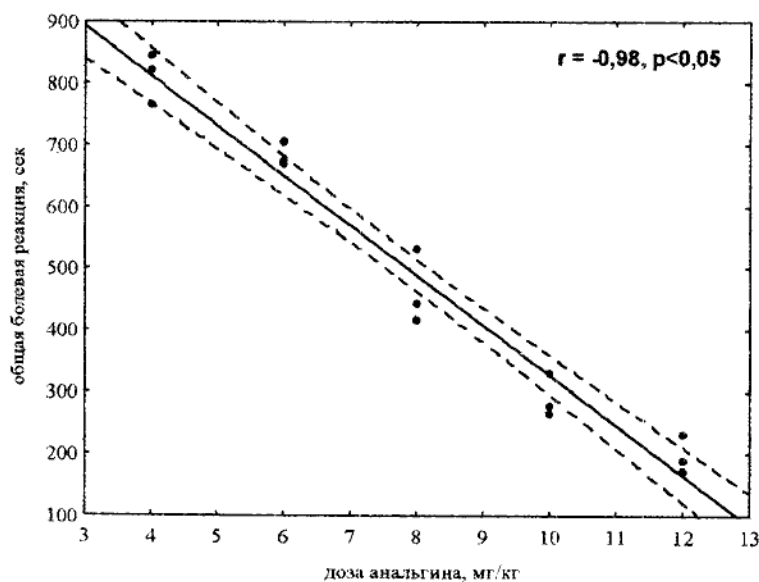


Рис. 4. Корреляционная взаимосвязь общей продолжительности болевой реакции в «формалиновом тесте» и анальгина в разных дозах (4, 6, 8, 10 и 12 мг/кг), вводимого животным до тестирования.

При увеличении дозы анальгина до 6 мг/кг его антиноцицептивное действие незначительно увеличилось, о чем свидетельствует тенденция к уменьшению продолжительности болевой реакции на 27,45 % ($p > 0,05$) относительно данного показателя у крыс, подвергнутых только инъекции формалина. Эта доза препарата также привела к снижению только второй тонической фазы болевой реакции на 38,30 % ($p < 0,05$), увеличивая длительность первой – на 32,64 % ($p < 0,05$) относительно значений этих показателей у животных в первой контрольной группе (Ф). При этом общая продолжительность болевой реакции оставалась существенно выше (на 46,29 % ($p < 0,05$)) продолжительности этой реакции у крыс, подвергнутых КВЧ-воздействию (рис. 1, 3). Продолжительность двигательной активности у животных четвертой группы увеличилась на 70,97 % ($p < 0,01$), а пассивного поведения – на 12,73 % ($p > 0,05$) относительно значений соответствующих показателей у крыс первой контрольной группы (рис. 2).

Таким образом, введение животным раствора анальгина в дозах 4 и 6 мг/кг способствовало уменьшению продолжительности только второго тонического компонента болевой реакции, существенно увеличивая продолжительность острой фазы болевого стресса (рис. 3).

У животных, которым вводили анальгин в дозе 8 мг/кг общая продолжительность болевой реакции была меньше на 47,20 % ($p < 0,01$) значения этого показателя у животных первой группы (Ф). Кроме того длительность болевой реакции у данной группы крыс приближалась к таковой у животных, подвергнутых КВЧ-воздействию (увеличилась на 6,47 % ($p > 0,05$)) (рис. 2). Об этом же свидетельствует и сравнение анальгетического действия изученных факторов, представленных на рис. 3 – А. При этом данная доза анальгина существенно уменьшала продолжительность не только тонической фазы болевой реакции (на 52,67 % ($p < 0,01$)), но и в отличие от меньших доз препарата (4 и 6 мг/кг) появилась тенденция к уменьшению продолжительности ранней острой фазы «формалинового теста» (на 16,90 % ($p > 0,05$)) (рис. 2, 3 – Б). Относительно значений у животных, подвергнутых воздействию ЭМИ КВЧ у крыс пятой группы продолжительность первой фазы болевой реакции увеличилась на 188,35 % ($p < 0,001$), а второй фазы, наоборот, уменьшилась на 22,34 % ($p > 0,05$) (рис. 3). Затухание болевой реакции отмечалось с 55-ой минуты наблюдения, то есть аналогично с крысами второй группы (КВЧ+Ф) (рис. 1). Анализ общей продолжительности неболевых поведенческих реакций у крыс данной группы (А₈+Ф) показал увеличение продолжительности двигательной активности на 260,41 % ($p < 0,001$) и уменьшение пассивного поведения на 16,81 % ($p > 0,05$) относительно соответствующих значений у животных, подвергавшихся только инъекции формалина (рис. 2). Следовательно, изменение продолжительности неболевых поведенческих реакций также соответствовало таковой у крыс, подвергнутых предварительному КВЧ-воздействию.

При предварительном введении анальгина в дозе 10 мг/кг у крыс шестой группы общая продолжительность болевой реакции уменьшилась на 68,59 % ($p < 0,01$) относительно значений у животных, подвергнутых действию только «формалинового теста» (рис. 3 – А). Однако при этом происходило достоверное

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

снижение как второй тонической (на 73,45 % ($p < 0,01$)), так и первой острой (на 42,13 % ($p < 0,05$)) фаз болевого стресса относительно значений у животных контрольной группы (Ф) (рис. 3 – Б). При этом зарегистрировано увеличение антиноцицептивного действия анальгина в дозе 10 мг/кг по сравнению с ЭМИ КВЧ на 37,56 % ($p < 0,05$). По сравнению с соответствующими значениями у животных второй группы (КВЧ+Ф) длительность болевой реакции в ранней острой фазе «формалинового теста» оставалась больше на 100,80 % ($p < 0,001$), а во второй тонической фазе, наоборот, меньше на 51,05 % ($p < 0,01$). Затухание болевой реакции отмечалось с 50-ой минуты наблюдения, т.е. на 5 минут раньше, чем у животных группы КВЧ+Ф и А₈+Ф (рис. 1). Повысилась продолжительность как двигательной активности на 194,97 % ($p < 0,001$), так и пассивного поведения – на 9,49 % ($p > 0,05$) относительно значений у крыс первой группы (Ф) (рис. 2).

У животных седьмой группы, подвергнутых инъекции анальгина в дозе 12 мг/кг общая продолжительность болевой реакции уменьшилась на 78,71 % ($p < 0,01$) (длительность ранней острой фазы «формалинового теста» – на 48,37 % ($p < 0,05$), а второй тонической – на 84,28 % ($p < 0,01$)) относительно значений у крыс в контрольной группе ($p < 0,01$). По сравнению с данными значениями у животных, подвергнутых предварительному действию ЭМИ КВЧ анальгетическое действие увеличилось на 57,68 % ($p < 0,01$). Однако, длительность ранней острой фазы болевой реакции оставалась больше на 79,11 % ($p < 0,01$), а второй тонической фазы – меньше на 71,02 % ($p < 0,01$) относительно значений у животных, подвергнутых предварительному КВЧ-воздействию. Затухание же болевой реакции отмечалось также с 50-ой минуты наблюдения (рис. 1). Продолжительность двигательной активности повысилась на 301,67 % ($p < 0,001$), а пассивного поведения уменьшилась на 0,90 % ($p > 0,05$) относительно значений у крыс первой группы (Ф) (рис. 2).

Следовательно, уменьшение продолжительности болевой реакции у крыс в «формалиновом тесте» при предварительном введении анальгина зависит от дозы препарата. При этом следует отметить, что предварительное введение анальгина в основном уменьшает продолжительность тонического компонента болевой реакции, тогда как препарат в дозах 4 и 6 мг/кг увеличивает продолжительность первой фазы болевого стресса, а в больших дозах (8, 10 и 12 мг/кг), напротив, уменьшает (рис. 3), однако ее динамика соответствует таковой у крыс, которым до теста анальгин не вводился (рис. 1).

Таким образом, сравнительный анализ общей продолжительности болевой и неболевых поведенческих реакций в «формалиновом тесте» при дополнительном воздействии низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ или раствора анальгина в различных дозах показал, что сходным антиноцицептивным эффектом с однократным 30-минутным КВЧ-воздействием обладает внутрибрюшинное введение раствора анальгина в дозе 8 мг/кг. Однако раствор анальгина в большей степени влиял на протекание второй тонической фазы формалинового теста, тогда как предварительное действие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ существенно изменяло динамику и снижало продолжительность первой острой фазы, причем даже в большей степени, чем раствор анальгина в дозах 10 мг/кг и 12 мг/кг. Именно в этом и состоит основное отличие обезболивающего действия анальгина и ЭМИ КВЧ.

Литературные данные свидетельствуют о том, что использованный в нашем исследовании анальгетик ненаркотического ряда – анальгин, взаимодействует с нейронами противобололевых систем ствола мозга, активизирует эндогенную опиоидную систему [21], потенцирует действие эндогенных опиоидов [22].

Анальгетическое действие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ также, по-видимому, связано с периферической активацией антиноцицептивных механизмов, в частности, с системой эндогенных опиоидных пептидов, поскольку обнаружено, что первичное восприятие ЭМИ КВЧ может осуществляться опиоидными рецепторами [23], а эффективность низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ снижается при введении в организм крыс неспецифического блокатора всех субтипов опиоидных рецепторов налоксона [24].

Следовательно, результаты данного исследования могут быть использованы в ветеринарии и практическом здравоохранении в целях применения низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ в качестве нового немедикаментозного анальгетического средства, преимущество которого по сравнению с анальгином состоит в большей эффективности при меньшей выраженности побочных токсических эффектов, что особенно важно при длительном приеме анальгезирующих средств.

ВЫВОДЫ

1. Предварительное воздействие ЭМИ КВЧ обладает выраженным анальгетическим действием при экспериментально вызванной тонической боли у крыс.

2. Сходным антиноцицептивным эффектом с однократным 30-минутным КВЧ-воздействием обладает внутрибрюшинное введение раствора анальгина в дозе 8 мг/кг, однако раствор анальгина в большей степени влияет на протекание второй тонической фазы «формалинового теста», тогда как предварительное действие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ существенно изменяет динамику и снижает продолжительность первой острой фазы, причем даже в большей степени, чем раствор анальгина в дозах 10 мг/кг и 12 мг/кг.

Список литературы

1. International Agranulocytosis and Aplastic Anaemi a Study Group // JAMA. – 1986. – № 256. – P. 1749-1757.
2. Авруцкий М.Я., Смольников П.В. Фармакологические методы обезболивания. В кн.: Боль и обезболивание. – М.: Медицина, 1997. – С.193-225.
3. Лебедева Р.Н., Никола В.В. Фармакотерапия острой боли. – М.: Издательство "Аир Арт", 1998. – 184 с.
4. Видаль Л.Н. Лекарственные препараты в России: Справочник. - М.: АстраФармСервис, 1998. – 1600 с.
5. Бессонов А.Е., Балакирев М.В. Способ миллиметрово-волновой терапии // Вестник новых медицинских технологий. – 1998. – Т. 5, № 2. – С. 105-108.
6. Бецкий О.В., Кислов В.В., Лебедева Н.Н. Миллиметровые волны и живые системы. – М.: Наука, 2004. – 272 с.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

7. Чуян Е.Н. Нейроимунноэндокринні механізми адаптації до дії низько інтенсивного електромагнітного випромінювання надто високої частоти: Автореф. дис... докт. біол. наук: 03.00.13. – Київ. – 2004. – 40 с.
8. Джелдубаева Э.Р., Чуян Е.Н., Московских А.А. Предварительное антистрессорное действие низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты при экспериментальном болевом стрессе у крыс // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2005. – Т. 18 (57), № 3. – С. 56-65.
9. Чуян Е.Н. Влияние миллиметровых волн нетепловой интенсивности на развитие гипокинетического стресса у крыс с различными индивидуальными особенностями: Автореф. дисс. ... канд-та биол. наук: 03.00.13 / СГУ. – Симферополь, 1992. – 20 с.
10. 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.
11. Dubuisson D., Dennis S.G.. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brainstem stimulation in rats and cats // Pain. –1997. – С 4. – P. 161-164.
12. Белцкий О.В., Лебедева Н.Н. Современные представления о механизмах воздействия низкоинтенсивных миллиметровых волн на биологические объекты // Миллиметровые волны в биологии и медицине. – 2001. – № 3 (24). – С. 5-19.
13. Манковский М.Д. Лекарственные средства. Ч. 1. – М.: Медицина, 1987. – С. 184-185.
14. Golombek D.A., Escobar E., Burin L.J. et al. Time-dependent melatonin analgesia in mice: inhibition by opiate or benzodiazepine antagonist // Eur. J. Pharmacol. - 1991. -194, № 1. - P. 25-30.
15. Oyama T., Ueda Y., Kuraishi Y., Akaike A., Satou V. Dual effect of serotonin on formalin-induced nociception in the rat spinal cord // Neuroscience Research. – 1996. – V. С 25. – P. 129-135.
16. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response // Pain. – 1989. – V. 38, № 3. – P. 347-352.
17. Чуян Е.Н., Джелдубаева Э.Р. Антиноцицептивное действие низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты при тонической боли у крыс // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2005. – Т. 18 (57), № 2. – С. 211-222.
18. Симонов П.В. Эмоциональный мозг. – М.: Наука, 1981. – 216 с.
19. Henry J.P., Steffen P.N. Stress, Health and Society Environment.– A. Socioilobiological Approach to Medicine. N.Y.: Springer, 1977. – 267 p.
20. Pare W.P. Open field, learned helplessness, conditioned defensive burying, and forced-swim tests in WKY rats // Physiol. Behav. – 1994. – V. 55. – P. 433-439.
21. Hernandez N., Vaneqas H. Antinociception induced by PAQ- microinjected dipyrone (metamizol) in rats: involvement of spinal endogenous opioid // Brain Res. – 2001. – Mar. 30. – V. 896 (1-2). – P. 175-178.
22. Taylor J., Mellstrom B., Fernaud I., Naranjo J.R. Metamizol potentiates morphine effects on visceral pain and evoked c-Fos immunoreactivity in spinal cord // Eur J Pharmacol. – 1998. – Jun 12. – V.351 (1). – P. 39-47.
23. Gordienko O., Radziewsky A., Cowan A., Radziewsky A. Jr., Ziskin M.C. Delta 1 and kappa-opioid receptor subtypes involved in the hypoalgesic effect of millimeter wave treatment // Abstract Juenty-Fourth Annual Meeting in Cooperation with the European Bioelectromagnetics Association. – Canada. – 2002. – P. 27.
24. Чуян Е.Н., Махонина М.М. роль опиоидных пептидов в изменении функциональной активности нейтрофилов и лимфоцитов крови крыс при изолированном и комбинированном с гипокинезией воздействии низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2005. – Т. 18 (57), № 2. – С. 169-177.

Поступила в редакцию 01.03.2006 г.

УДК 577.121:616-008

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЭРИТРОЦИТАХ БОЛЬНЫХ ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ

Ёлкина Н.М., Казакова В.В.

Одной из актуальных проблем современной биохимии является выявление молекулярных основ различных заболеваний и патологических состояний организма [1 – 3]. Учитывая жизненно важную роль эритроцитов, считается целесообразным выяснить в какой степени эти клетки вовлекаются в патологический процесс, претерпевают ли они структурно-функциональные и метаболические изменения [4 – 6].

Целью настоящей работы являлось изучение интенсивности гликолитических реакций и активности отдельных ферментов в эритроцитах в условиях патологии, сопровождающейся развитием окислительного стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили эритроциты 25-ти практически здоровых людей (доноров) и больных циррозом печени (20 человек в возрасте от 45 до 50 лет). Гемолизат эритроцитов получали по методу Драбкина [8]. Содержание в гемолизатах эритроцитов фосфоенолпирувата (ФЕП) и АТФ определяли по методу, описанному в литературе [9]. Активность эритроцитарной гексокиназы определяли спектрофотометрическим методом, используя в качестве индикатора крезоловый красный [10]. Активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы устанавливали спектрофотометрически [10], идентифицируя восстановленную форму НАДФ при длине волны 340 нм. Активность глутатионредуктазы определяли по изменению оптической плотности восстановленной формы НАДФ [11]. Определение активности мембраной K^+ , Na^+ - АТФ-азы осуществляли при помощи метода, основанного на отщеплении неорганического фосфата от АТФ и на его идентификации по реакции с молибдатом аммония в присутствии аскорбиновой кислоты [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали исследования, в эритроцитах больных циррозом печени наблюдается увеличение содержания фосфоенолпирувата и АТФ (в 8 раз и 2,7 раза, соответственно) по сравнению с контрольной группой доноров. Вместе с этим возрастает активность гексокиназы в 5,9 раза (табл. 1).

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЭРИТРОЦИТАХ БОЛЬНЫХ ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ

Таблица 1.
Содержание ФЕП и АТФ и активность гексокиназы в эритроцитах больных циррозом печени

Обследуемые группы	ФЕП, мг % Фн	АТФ, мг % Фн	Активность гексокиназы, нмоль/мл·мин
Контрольная группа	0,43 ± 0,017	0,48 ± 0,008	0,66 ± 0,027
Больные	3,5 ± 0,06*	1,3 ± 0,06*	3,9 ± 0,09*

* – вероятность различий по сравнению с контролем (p<0,05).

Увеличение активности гексокиназы в эритроцитах больных также, как и рост уровня ФЕП и АТФ, свидетельствует об интенсификации внутриэритроцитарных гликолитических реакций, что сопряжено не только с усилением генерирования АТФ, но также восстановительных эквивалентов в форме НАДФ и, по всей вероятности, 2,3-дифосфоглицерата – аллостерического эффектора гемоглобина, снижающего его сродство к кислороду [13].

Повышение активности гексокиназы в эритроцитах сочетается со снижением активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, катализирующей "пусковую" реакцию пентозофосфатного пути превращения глюкозы (табл. 2). Активность данного фермента у больных циррозом печени на 43 % меньше по сравнению с контрольной группой доноров. Снижение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы также, как и повышение активности гексокиназы, отражает процесс метаболической перестройки в эритроцитах, пересключение этих клеток на использование глюкозы в большей степени по гликолитическому пути и в меньшей степени – в пентозофосфатном пути.

Таблица 2.
Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионредуктазы и мембранной K⁺, Na⁺-АТФ-азы в эритроцитах больных циррозом печени

Обследуемые группы	Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, нмоль/мл·мин	Активность глутатионредуктазы, нмоль/мл·мин	Активность K ⁺ , Na ⁺ -АТФ-азы, мкмоль Фн/мл·мин
Контрольная группа	0,047 ± 0,0015	0,580 ± 0,02	0,44 ± 0,0006
Больные	0,027 ± 0,001*	0,360 ± 0,022*	0,090 ± 0,001*

* – вероятность различий по сравнению с контролем (p<0,05).

Вместе с этим, прослеживается снижение активности глутатионредуктазы (на 38 % по сравнению с контрольной группой). Отмечен высокий уровень корреляции в изменении активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы (r=+0,95).

Изучение активности мембранной K⁺, Na⁺-АТФ-азы показало, что у больных циррозом печени данный показатель в 2 раза выше по сравнению с контрольной

группой. Этот факт также представляет существенный интерес, свидетельствуя об активизации K^+ , Na^+ -канала эритроцитарной мембраны, что наряду с другими изменениями в метаболизме, может быть частью общей системы компенсаторных процессов, осуществляемых при патологии.

ВЫВОДЫ

1. В эритроцитах больных циррозом печени интенсифицируются гликолитические реакции.

2. При данной патологии в эритроцитах снижается активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы и возрастает активность мембранной K^+ , Na^+ -АТФ-азы.

3. Изменения активности отдельных эритроцитарных ферментов и метаболизма глюкозы могут иметь компенсаторное значение.

Список литературы

1. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Окислительный стресс при воспалении // Успехи современной биологии. – 1997. – Т. 117, вып. 2. – С. 155-169.
2. Мещишен І.Ф., Григор'єва Н.П. Глутатионова система організму за норми та патології // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 74, № 4а. – С. 103.
3. Палагіна І.А., Колодуб Ф.А., Кудря М.Я., Устинко Н.В. та інші. Окисні та вільнорадикальні процеси в механізмі токсичної дії антидіабетичних засобів із групи похідних дикарбонових кислот // Укр. біохім. журн. – 2004. – Т. 76, № 5. – С. 107-114.
4. Коробов В.М. Вплив карнозину на мембрани еритроцитів у нормі та за діабету // Укр. біохім. журн. – 2000. – Т. 72, № 2. – С. 94-96.
5. Ермакова Т.А., Цветасва Н.В. Интегральная оценка окислительно-восстановительного метаболизма эритроцитов у больных с различными формами анемий // Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – № 3. – С. 32-35.
6. Коржов В.И., Жадан В.Н. Влияние ω_3 – полиненасыщенных жирных кислот на активность глутатионзависимых ферментов в цитозоле печени и эритроцитах крови крыс в норме и при экспериментальном хроническом бронхите // Укр. біохім. журн. – 2003. – Т. 75, № 4. – С. 115-119.

Поступила в редакцию 04.04.2006 г.

УДК 634.1

ВЛИЯНИЕ АЭРОТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ НА РЕПРОДУКТИВНЫЕ ОРГАНЫ ПЛОДОВЫХ РАСТЕНИЙ

Ибраимова Э.Э.

Одним из наиболее причинных факторов деградации почв и атмосферного воздуха в городских экосистемах является техногенное загрязнение, обусловленное воздействием промышленности, транспорта, а также другими видами антропогенной деятельности [1]. Наиболее опасным и интенсивным источником загрязнения атмосферы многих городов является автомобильный транспорт [2]. В выхлопных газах автомобилей выявлено около 300 различных вредных веществ, среди которых особую опасность представляют оксиды углерода, углеводороды (канцерогенные бензопирены и бензантрацены, формальдегид, бензол), оксиды азота, сажа, свинец, ртуть, диоксид серы, альдегиды [3, 4].

В почве придорожной обочины вдоль автострады выявлено повышенное аккумулярование Pb, Ni, Cr, Cu и Zn, что является последствием большой интенсивности движения автотранспорта [5]. Возрастает также накопление в окружающей среде таких тяжёлых металлов, как кадмий и хром [4]. Прогрессирующее накопление указанных экотоксикантов в окружающей среде может привести к нежелательным экологическим последствиям не только для растительной и животной компоненты городских экосистем, но в конечном итоге и для человека. Установлена зависимость между интенсивностью техногенной нагрузки, частотой и характером заболеваемости населения, особенно детского, проживающего в данной зоне [2].

В литературе приведены данные по влиянию ионов тяжёлых металлов на рост растений, в частности бобов, и прорастание спор, пыльцы и семян амариллиса. Авторы отмечают, что изменения на биохимическом уровне проявляются раньше ростовых показателей. Из физиологических процессов прорастание пыльцы оказалось наиболее чувствительным [6]. Следовательно, наиболее сильное влияние техногенного стресса испытывают генеративные органы растений, в частности органы мужской репродукции, что проявляется в их аномальном развитии и низком качестве формируемой ими пыльцы [7]. Была изучена жизнеспособность пыльцы как биоиндикатора качества воздуха в г. Перуджа (Италия), где движение автотранспорта является главным источником загрязнения воздуха. Для опыта были взяты три местности с различной интенсивностью движения. Установлено, что жизнеспособность пыльцы обратно пропорциональна степени загрязнённости. Математический анализ показал, что главный источник варьирования

жизнеспособности пыльцы зависит от растения, местности и взаимодействие данных факторов высоко достоверно [8].

Проблемы загрязнения объектов окружающей среды являются актуальными и для Крымского региона, транспортно-коммуникационный комплекс которого характеризуется преобладанием автомобильного транспорта, на долю которого приходится большая часть грузовых и пассажирских внутрикрымских перевозок. И хотя плотность сети автодорог в Крыму несколько меньше, чем в целом по Украине, интенсивность их использования на 20 % выше. В целом средняя густота автодорог в расчёте на единицу площади довольно высокая и составляет 244 км/1000 км² (по Украине – 234 км/1000 км²). Функционирование автодорог неизбежно сказывается на состоянии окружающей среды [3].

В связи с этим целью данных исследований явилась оценка последствий аэротехногенного загрязнения окружающей среды выбросами автомобильного транспорта по их гаметоцидному влиянию на плодовые растения, произрастающие вдоль автострад.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами проведено исследование почвенных образцов отобранных вдоль автострад с интенсивным движением автотранспорта. Почвенные образцы, несущие информацию об изучаемой территории, для наилучшей оценки отбирались в случайно выбранных точках в пределах всей изучаемой площади [9]. Отбор осуществлялся с глубины 0–15 см у обочины трассы по ул. Кечкеметская г. Симферополя. В почвенных образцах определяли содержание тяжелых металлов методами атомно-абсорбционной спектроскопии [10] и полярографии [11].

Материалом для исследований служили цветы, собранные с деревьев, произрастающих в придорожной зоне автострады. Контрольным вариантом служили цветы, собранные с тех же видов растений, произрастающих в зонах отсутствия автомобильного движения (дачные участки, фермерские хозяйства).

В качестве объектов исследований были использованы следующие виды многолетних плодовых растений: абрикос обыкновенный (*Armeniaca vulgaris*), алыча (*Prunus divaricata*), вишня обыкновенная (*Cerasus vulgaris*), яблоня домашняя (*Malus domestica*), у которых изучали спонтанную и индуцированную стерильность пыльцевых зёрен.

Собранный с указанных зон репродуктивный материал (цветы плодовых растений) фиксировался в уксуснокислом спирте (3:1), а затем, после промывки в 70%-ном спирте, переносился в 80%-ный этиловый спирт, где хранился до цитогенетического анализа. Фертильность пыльцевых зёрен определяли йодным методом на временных давленных препаратах [12]. С каждого вида растений из каждой зоны изучали не менее 5000 штук пыльцевых зёрен. Изучение морфологической структуры пыльцевых зёрен проводили при помощи системы морфометрического анализа изображений, включающей микроскоп “Zeiss”, видеокамеру “SunKwang” и персональный компьютер. Полученные данные для сравнения приводили к интенсивным показателям [13]. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ “Excel”. Расчет

ВЛИЯНИЕ АЭРОТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ

различий контрольных и опытных вариантов проводили методом F по критерию Фишера [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о довольно высокой загрязненности почв придорожной зоны автострад экотоксикантами. Материалы исследования почвенных образцов на содержание в них тяжелых металлов представлены в таблице 1.

Таблица 1.
Содержание солей тяжелых металлов в почвенных образцах

Зоны обследования	содержание солей тяжелых металлов, мг/кг		
	Cu	Zn	Pb
Экологически чистая зона (контроль)	<0,005	<0,01	<0,02
Придорожная зона (опыт)	1,9 ± 0,34	44,0 ± 1,16	39,0 ± 1,82
ПДК	3,0	23,0	30,0

Примечание: превышение ПДК

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что в контрольной зоне содержание тяжелых металлов ниже чувствительности химического метода их обнаружения. Однако в придорожной зоне регистрируется повышенное содержание цинка и свинца, количество которых превышает ПДК: Zn – в 1,9 раза, Pb – в 1,3 раза; содержание меди – в пределах, установленных санитарно-гигиеническими нормами. Полученные данные являются аргументом в пользу утверждения, что главным источником загрязнения городских почв тяжелыми металлами является автотранспорт [5, 14].

Параллельно проведены исследования по изучению реакции органов мужской репродукции плодовых культур на аэротехногенное загрязнение среды в придорожных зонах интенсивного движения автотранспорта.

В таблице 2 представлены показатели стерильности пыльцевых зёрен растений, произрастающих в контрольной зоне.

Отмечается довольно низкий *спонтанный уровень стерильности* пыльцевых зёрен, диапазон которой отмечается в пределах от 8,3 % (*Prunus divaricata*) до 15,1 % (*Armeniaca vulgaris*). Однако показатели стерильности пыльцы резко возрастают у изученных растений, произрастающих вдоль автострады (табл. 3). *Индукцированный уровень стерильности* пыльцевых зёрен увеличивается у изученных растений в несколько раз по сравнению с контрольным вариантом.

Так, у абрикоса обыкновенного количество abortивных пыльцевых зёрен возрастает в 1,9 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контрольным вариантом. У алычи *индуцированный уровень стерильности* увеличивается в 7,2 раза ($p < 0,001$), у яблони и вишни обыкновенной – в 3,2 раза соответственно ($p < 0,001$).

Таблица 2.
Показатели стерильности пыльцы растений, произрастающих в экологически чистой зоне (контроль)

№	Название растения	Фертильность пыльцы			Стерильность пыльцы		
		кол-во, ед.	%	$\bar{x} \pm S_x$	кол-во, ед.	%	$\bar{x} \pm S_x$
1.	Абрикос обыкновенный	4584	84,9	15,53 ± 0,37	817	15,1	2,77 ± 0,14
2.	Алыча	5576	91,7	18,71 ± 0,34	501	8,3	1,68 ± 0,11
3.	Вишня обыкновенная	7400	88,7	18,73 ± 0,29	939	11,3	2,38 ± 0,10
4.	Яблоня домашняя	6814	87,4	22,71 ± 0,23	983	12,6	3,28 ± 0,13

Таблица 3.
Показатели стерильности пыльцы растений, произрастающих в придорожной зоне (опыт)

№	Название растения	Фертильность пыльцы			Стерильность пыльцы			Достоверность, $F_{эмп}$
		кол-во, ед.	%	$\bar{x} \pm S_x$	кол-во, ед.	%	$\bar{x} \pm S_x$	
1.	Абрикос обыкновенный	5381	69,9	18,30 ± 0,29	2315	30,1	7,87 ± 0,23	20,5*
2.	Алыча	3344	40,6	12,20 ± 0,32	4883	59,3	17,82 ± 0,40	60,5*
3.	Вишня обыкновенная	4298	63,5	17,19 ± 0,18	2474	36,5	9,89 ± 0,20	37,4*
4.	Яблоня домашняя	4821	59,0	14,50 ± 0,27	3348	41,0	12,10 ± 0,44	41,9*

Примечание: * – отличия от контроля (табл. 2) достоверны при $p < 0,001$.

При изучении влияния техногенного загрязнения на репродуктивные органы растений, произрастающих в зоне интенсивного движения автотранспорта, самый высокий показатель *индуцированного уровня стерильности* пыльцы был выявлен у алычи, количество стерильных зёрен которой составило 59,4 % ($p < 0,001$) от общего количества продуцируемой репродуктивными органами пыльцы. По показателю *индуцированной стерильности* пыльцы, изученные многолетние растения расположились в следующей последовательности: *Prunus divaricata* > *Malus domestica* > *Cerasus vulgaris* > *Armeniaca vulgaris*.

На рис. 1 представлены микрофотографии (увел. 1.1 x 16) продуктов мужской генеративной сферы изученных плодовых культур. Фертильные и стерильные пыльцевые зёрна отличаются по содержанию крахмала; фертильная пыльца

полностью заполнена крахмалом, а стерильная – не имеет его совсем или содержит следы [12]. Соответственно, фертильные пыльцевые зерна имеют темную окраску, стерильные – не окрашенные, либо имеют слабую пигментацию.

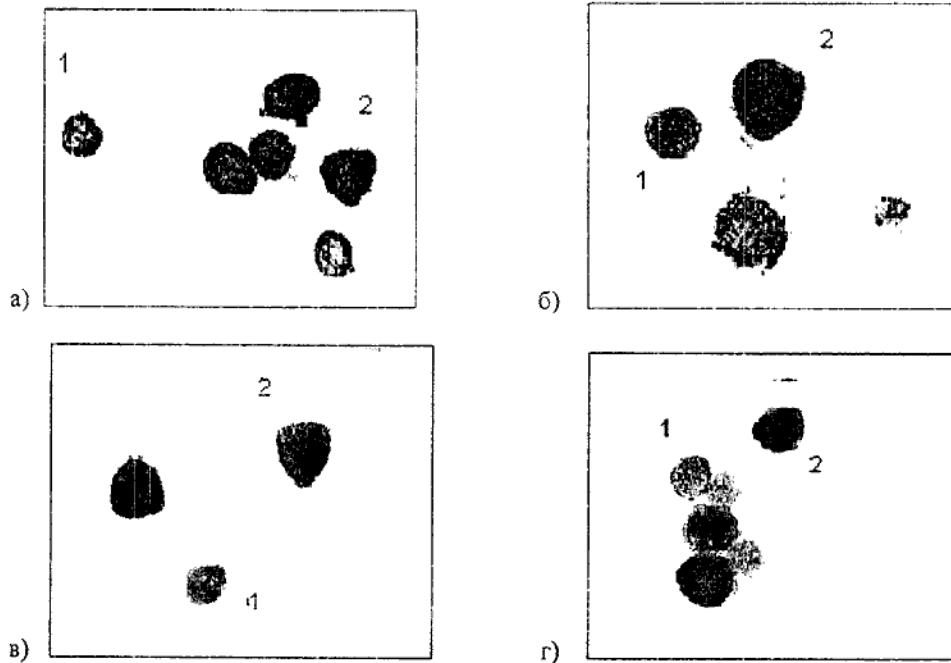


Рис. 1. Пыльцевые зерна (1- стерильная пыльца; 2- фертильная) плодовых растений, произрастающих в придорожной зоне: а) *Malus domestica*; б) *Prunus divaricata*; в) *Armeniaca vulgaris*; г) *Cerasus vulgaris*.

Аналогичная картина наблюдается и в отношении фертильных пыльцевых зёрен к стерильным (Ф/С), характеризующим чувствительность репродуктивных органов растений к техногенному загрязнению окружающей среды (табл. 4).

Данный показатель резко снижается у всех изученных растений. Так, у абрикоса обыкновенного отмечается снижение отношения Ф/С в 2,4 раза; у яблони домашней – 4,9 раза; у вишни обыкновенной – в 4,6 раза; у алычи – в 15,8 раза по сравнению с контрольным вариантом (рис. 2).

В нашем исследовании самой чувствительной к загрязнению окружающей среды оказалась репродуктивная система *Prunus divaricata*. Наиболее толерантной из изученных репродуктивных систем к техногенной нагрузке оказалась генеративная сфера *Armeniaca vulgaris*.

Таким образом, репродуктивная система изученных растений оказалась чувствительной к аэротехногенному загрязнению. Следствием неблагоприятного действия повышенных содержаний экотоксикантов на репродуктивные органы *Armeniaca vulgaris*, *Cerasus vulgaris*, *Prunus divaricata*, *Malus domestica* является

уменьшение продукции фертильных пыльцевых зёрен и увеличение abortивной пыльцы.

Таблица 4.

Показатели отношения фертильных пыльцевых зерен к стерильным в контрольном и опытных вариантах

№	Название растения	Ф/С (контроль)	$\bar{x} \pm S_x$	Ф/С (опыт)	$\bar{x} \pm S_x$
1.	Абрикос обыкновенный	5,6	$7,24 \pm 0,31$	2,3	$3,29 \pm 0,17$
2.	Алыча	11,1	$11,03 \pm 0,38$	0,7	$0,74 \pm 0,02$
3.	Вишня обыкновенная	7,9	$9,21 \pm 0,29$	1,7	$2,05 \pm 1,00$
4.	Яблоня домашняя	6,9	$9,11 \pm 0,36$	1,4	$4,91 \pm 0,29$



Рис. 2. Сравнительные показатели отношения фертильных пыльцевых зерен к стерильным.

Следовательно, изучение генеративной системы растительных организмов может быть использовано в экологическом мониторинге за объектами окружающей среды, испытывающими различную степень антропогенной нагрузки.

ВЫВОДЫ

1. Нарушение функционирования репродуктивной системы плодовых культур (*Armeniaca vulgaris*, *Prunus divaricata*, *Cerasus vulgaris*, *Malus domestica*) является следствием повышенного уровня техногенной нагрузки.

2. Органы мужской репродукции растений чувствительны к загрязнению окружающей среды, обусловленному выбросами автотранспорта, что проявляется в пониженной продукции фертильных пыльцевых зерен.

3. Установлена высокая чувствительность репродуктивной системы *Prunus divaricata* к аэротехногенному загрязнению.

4. Тест на стерильность пыльцевых зерен может быть использован в *экологическом мониторинге* растительных объектов, испытывающих различную степень антропогенной нагрузки.

Список литературы

1. Титова В. И., Дабахов М. В., Дабахова Е. В. Некоторые подходы к экологической оценке загрязнения земельных угодий // Почвоведение. – 2004. – № 10. – С. 1264-1267.
2. Бочаров В. Л., Иванов Ю. В. Эколого-геохимические методы оценки загрязнённости атмосферы малых городов // Вестн. Воронеж. ун-та. Сер. геол. – 1997. – № 4. – С. 137-145.
3. Багрова Л. А., Боков В. А., Багров Н. В. // География Крыма: Учеб. пособие для учащихся общеобразоват. учеб. заведений – К.: Лыбидь, 2001. – 304 с.
4. Мельников Н. Н., Белан С. Р. Органические соединения хлора в окружающей среде // Агрохимия. – 1998. – № 10. – С. 83-93.
5. Moslehuddin A. Z., Laizoo S., Egashira K. Heavy metal pollution of soils along three major highways in Bangladesh // J. Fac. Agr. / Kyushu Univ. – 1998. – V. 42, № 3-4. – С. 503-508.
6. Кузнецова Н. А. Использование растений в качестве биомониторов // Сб. науч. работ студ. и аспирантов ВГПУ. – 1997. – № 5. – С. 224-234.
7. Третьякова И. Н. Репродуктивные процессы у пихты сибирской (*Abies Sibirica* Ledeb) в нарушенных лесных экосистемах гор Южной Сибири // Успехи совр. биол. 1997. – Т. 117. – Вып. 4. – С. 480-495.
8. Iannotti O., Mincigrucci G., Bricchi E. Pollen viability as a bio-indicator of air quality // Aerobiologia. – 2000. – V. 16, № 3-4. – С. 361-365.
9. Николаенко А.В. Характеристика единичных почв при различных способах апробирования // Междунар. конф. студ. и аспирантов по фундам. наукам «Ломоносов-96», Москва, 1996: Тез. докл.: Почвоведение. – М., 1996. – С. 61.
10. Предельно-допустимые концентрации химических веществ в почве // Методические указания МЗ СССР № 3210-85. Атомно-абсорбционный метод определения меди и цинка. – С. 20.
11. Предельно-допустимые концентрации химических веществ в почве // Методические указания МЗ СССР № 1968-79. Полярографический метод определения свинца. – С. 4.
12. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос 1980. – 304 с.
13. Мерков А. М., Поляков Л. Е. Санитарная статистика. – М.: Медицина, 1974 – 384 с.
14. Плохинский Н. А. Биометрия. Изд-во Московского ун-та, 1970. – 367 с.
15. Lavado R. S., Scheiner J. D., Taboada M. A. Heavy metals in soils of Argentina: Comparison between urban and agricultural soils: Pap. Int. Soil. and Plant Anal. Symp. "Promise Precis. – Past, Present and Future", Minneapolis, Minn. Aug. 2-7, 1997 // Commun. Soil Sci. and Plant Anal. – 1998. – V. 29, № 11-14. – С. 1913-1917.

Поступила в редакцию 11.04.2006 г.

УДК 581.632.121

ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ АКТИВНОГО НАТРИЯ В ПРОРОСТКАХ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ, ОТЛИЧАЮЩИХСЯ ПО СТЕПЕНИ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ

Кабузенко С.Н., Омельченко А.В.

Засоление почвы в значительной мере ограничивает растениеводство во многих странах, в частности на юге Украины и в Крыму. Преобладающим катионом на засоленных почвах является Na^+ , который в сочетании с анионами Cl^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , накапливаясь в избыточном количестве в растительных тканях, оказывает токсическое действие [1, 2]. При произрастании в условиях высокой концентрации солей растению необходимо уменьшение токсичности Na^+ и сохранение ионного гомеостаза [3]. Известно, что ионы Na^+ и Cl^- поглощаются корнем и транспортируются по растению при помощи разных механизмов и с различной скоростью [4]. Способность растений-галиофитов не допускать повышения содержания натрия в листьях и других жизненно важных органах является существенным моментом при их выращивании на обогащенных натрием засоленных почвах. Высшие растения имеют механизмы защиты от повышенной концентрации NaCl как на уровне целого растения, так и на клеточном уровне.

На уровне целого организма «стратегия» ионного гомеостатирования проявляется в поддержании низких концентраций ионов Na^+ и Cl^- в молодых активно метаболизирующих частях растений, в первую очередь, в меристеме и генеративных органах.

Защита от соли на клеточном уровне в значительной мере связана с работой Na^+/H^+ -антипортеров, H^+ -насосов и белков, регулирующих их активность [3].

Поступающий в цитоплазму Na^+ , проявляющий токсический эффект при его повышенных концентрациях, выводится из клеток против градиента его электрохимического потенциала с затратами метаболической энергии. Считается, что наиболее вероятным механизмом, ответственным за выведение из цитоплазмы ионов Na^+ , является Na^+/H^+ обмен на плазматической мембране клеток через Na^+/H^+ -антипортер за счет использования энергии трансмембранного протонного градиента [3, 5 – 7].

Другим возможным механизмом выведения избытка ионов Na^+ из цитоплазмы растительных клеток является транслокация этих катионов через плазматическую или вакуолярную мембрану за счет прямого использования энергии АТФ в ходе работы Na^+ -транспортирующей АТФазы [8]. В результате повышается содержание Na^+ в свободном пространстве ткани.

ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ АКТИВНОГО НАТРИЯ В ПРОРОСТКАХ РАСТЕНИЙ

Следовательно, распределение содержания Na^+ в органах и тканях растительного организма имеет большое значение в приспособлении к высоким концентрациям «засоляющих» ионов в среде [9 – 11].

Поэтому целью нашей работы явилось изучение распределения Na^+ в надземных органах и корнях растений кукурузы, отличающихся по степени солеустойчивости, а также роли свободного пространства в адаптивной реакции к засолению указанных растений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований служили 10-дневные проростки кукурузы отличающиеся по степени солеустойчивости: гибрид Шаланда МВ, выведенный в Сельскохозяйственно-генетическом институте УААН (г. Одесса) и сорт Одесская 10, широко районированный на юге Украины и в частности в Крыму.

Солеустойчивость сравниваемых объектов была определена способом проращивания семян на солевых растворах (метод разработан в лаборатории солеустойчивости Санкт-Петербургского института растениеводства).

Нами было установлено, что гибрид Шаланда МВ обладает более высокой солеустойчивостью по сравнению с сортом Одесская 10.

Семена кукурузы в количестве 100 штук выкладывали в кюветах на фильтровальной бумаге, смоченной отстоянной водопроводной водой (контроль) и растворами хлорида натрия концентрации 100 и 200 мМ (опыт). Проращивали их в термостате при температуре 27°C . На 5, 7 и 10 день определяли динамику содержания Na^+ в гомогенате и свободном пространстве тканей корня и надземной части с помощью атомно-адсорбционного спектрофотометра («Karl Zeiss», Германия).

Для определения выхода натрия из свободного пространства навеску весом 1 г из ткани листа и корня тщательно ополаскивали несколько раз дистиллированной водой, а последний раз – бидистиллятом. Ткань помещалась на 1 час в бидистиллированную воду (по 10 мл на каждую навеску). В полученном растворе измеряли содержание ионов натрия, затем ткань извлекали из воды, ополаскивали и растирали в ступке с постепенным добавлением 15 мл дистиллята. Гомогенат центрифугировали в течение 20 минут при 3000 об/мин. В надосадочной жидкости определяли содержание ионов натрия, которое включало активный Na^+ цитоплазмы и клеточного сока.

При определении параметров апопласта руководствовались методикой, описанной Д.Б. Вахмистровым [12].

Эксперименты проводили в трехкратной биологической повторности. В таблицах представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные таблиц 1 и 2 показали, что в условиях хлоридного засоления растения гликофитного типа аккумулируют ионы Na^+ в корнях до значительно более высоких концентраций, чем в листьях.

Таблица 1.
Содержание Na^+ в водной вытяжке из тканей растения кукурузы гибрида Шаланда МВ (мкг/мл на 1 г сырой массы)

Вариант опыта	Гомогенат		
	5 день	7 день	10 день
	Корень		
Контроль	0,062±0,001	0,090±0,005	0,082±0,001
100 мМ NaCl	2,21±0,01	2,44±0,02	2,66±0,03
200 мМ NaCl	3,0±0,1	3,05±0,06	3,84±0,09
	Надземная часть		
Контроль	0,046±0,002	0,060±0,008	0,058±0,002
100 мМ NaCl	0,69±0,04	0,60±0,06	0,36±0,02
200 мМ NaCl	1,42±0,01	1,22±0,02	0,60±0,05

Таблица 2.
Содержание Na^+ в водной вытяжке из тканей растения кукурузы сорта Одесская 10 (мкг/мл на 1 г сырой массы)

Вариант опыта	Гомогенат		
	5 день	7 день	10 день
	Корень		
Контроль	0,25±0,02	0,10±0,04	0,14±0,01
100 мМ NaCl	1,91±0,03	2,49±0,07	2,95±0,04
200 мМ NaCl	3,82±0,02	4,77±0,05	5,25±0,05
	Надземная часть		
Контроль	0,12±0,01	0,085±0,004	0,21±0,03
100 мМ NaCl	0,52±0,02	0,55±0,03	0,42±0,02
200 мМ NaCl	1,11±0,03	1,15±0,02	1,40±0,04

Концентрация Na^+ в корнях растений у обоих генотипов возрастала с увеличением концентрации соли, однако накопление Na^+ было выше у кукурузы сорта Одесская 10, чем у кукурузы гибрида Шаланда МВ.

Анализ таблиц 1 и 2 показал, что при действии экстремальной концентрации хлорида натрия (200 мМ) растения кукурузы сорта Одесская 10 накапливают в гомогенате корня значительно больше «засоляющих» ионов Na^+ по сравнению с растениями гибрида Шаланда МВ. Причём, в динамике опыта в корне растений сорта Одесская 10 идёт увеличение содержания Na^+ и в клетках надземной части, в то время как у гибрида Шаланды МВ – уменьшение. Таким образом, барьерная роль корня больше выражена у гибрида Шаланда МВ.

Как показывают данные таблиц 1 и 2, гибрид Шаланда МВ на начальных этапах развития обладает большей способностью удалять Na^+ как из листа, так и корня, что можно рассматривать как один из механизмов солеустойчивости данного растения.

ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ АКТИВНОГО НАТРИЯ В ПРОРОСТКАХ РАСТЕНИЙ

Изучение динамики содержания натрия в растениях кукурузы в зависимости от концентрации NaCl показало, что при засолении 100 мМ и 200 мМ у обоих генотипов проявляется барьерная роль корня, в тканях которого накапливается активного натрия больше, чем в надземных органах.

Растения гликофиты в отличие от галофитов способны реабсорбировать Na^+ клетками корня из ксилемы и этим ограничивать поток этого иона в надземные органы [13].

Этот феномен получил название явления «декремент натрия». Он характерен для растений гликофитного типа [10, 11].

Солеустойчивые сорта кукурузы способны сдерживать поток ионов натрия из корней в надземную часть, ответственную за репродукцию, что наглядно прослеживается в динамике опыта на 10-й день. Из данных таблиц 1 и 2 можно сказать, что у выращенных при экстремальном засолении хлорида натрия (200 мМ) растений кукурузы гибрида Шаланда МВ содержание активного натрия в корне по сравнению с кукурузой сорта Одесская 10 снижено в 1,4 раза, а в надземной части в 2,3 раза - соответственно. В корне растений гибрида Шаланда МВ накапливалось натрия в 6,4 раза больше, чем в надземной части, в то время как у сорта Одесская 10 - в 3,7 раза.

Наблюдаемые нами различия в способности растений кукурузы к накоплению ионов позволяют предположить, что сортовая устойчивость к засолению может зависеть от эффективности функционирования в корнях и листьях ионных транспортеров, таких как H^+ -АТФаза, Na^+/H^+ -антипортеры тонопласта и плазмалеммы.

По данным литературы, роль мембранной H^+ -АТФазы состоит в том, что благодаря деятельности этого фермента создается протонный градиент на мембране, который используется для последующего выведения из клеток «избыточного» натрия за счет работы Na^+/H^+ -антипортера, существование которого предполагается у многих растений [14, 15].

Благодаря этому механизму «засоляющие» ионы поступают в свободное пространство ткани или в вакуоль (при локализации фермента H^+ -АТФазы на тонопласте клеток).

В таблицах 3 и 4 показано, что содержание засоляющего катиона натрия в свободном пространстве корня и надземной части у растений кукурузы гибрида Шаланда МВ и сорта Одесская 10 распределяются неодинаково. В свободном пространстве корня обоих растений содержание натрия значительно выше, чем в надземной части.

У солеустойчивого гибрида Шаланда МВ в динамике опыта возрастает содержание активного натрия в свободном пространстве корня и надземной части, в то время как у сорта Одесская 10 в корне оно уменьшается.

Мы объясняем это тем, что у менее устойчивого сорта Одесская 10 по мере накопления натрия в растениях в динамике опыта раньше происходит ингибирование клеточного механизма удаления натрия из клеток корня, в результате чего возрастает его содержание в гомогенате клеток (см. табл. 2).

Таблица 3.
Содержание Na^+ в свободном пространстве тканей растения кукурузы гибрида Шаланда МВ (мкг/мл на 1 г сырой массы)

Вариант опыта	Свободное пространство		
	5 день	7 день	10 день
	Корень		
Контроль	0,0050±0,0007	0,015±0,0014	0,01±0,0057
100 мМ NaCl	0,13±0,01	0,23±0,022	0,31±0,064
200 мМ NaCl	0,28±0,02	0,44±0,085	0,61±0,044
	Надземная часть		
Контроль	0,0010±0,0001	0,0060±0,0003	0,0060±0,0012
100 мМ NaCl	0,0060±0,0014	0,0070±0,0006	0,012±0,001
200 мМ NaCl	0,028±0,004	0,033±0,005	0,075±0,007

Таблица 4.
Содержание Na^+ в свободном пространстве тканей растения кукурузы сорта Одесская 10 (мкг/мл на 1 г сырой массы)

Вариант опыта	Свободное пространство		
	5 день	7 день	10 день
	Корень		
Контроль	0,024±0,002	0,015±0,001	0,010±0,001
100 мМ NaCl	0,24±0,02	0,31±0,02	0,23±0,01
200 мМ NaCl	0,43±0,01	0,65±0,03	0,42±0,02
	Надземная часть		
Контроль	0,0087±0,0001	0,010±0,001	0,025±0,002
100 мМ NaCl	0,0089±0,0003	0,027±0,002	0,026±0,002
200 мМ NaCl	0,043±0,002	0,041±0,002	0,047±0,001

При локализации «избыточных» ионов в свободном пространстве корня и листа действие засоления на растение проявляется в меньшей степени, чем при их поступлении в клетку, но, адсорбируясь стенками клетки, ионы должны оказывать влияние на структурные параметры ткани.

Из данных таблицы 5 видно, что хлоридное засоление оказывало влияние на структурно-функциональные свойства свободного пространства (толщина клеточных стенок, соотношение объема клеток и межклетников) растения кукурузы.

В варианте хлоридного засоления наблюдается увеличение площади (объема) клеточных стенок по сравнению с контролем. Причиной этого явления может быть некоторое их разрыхление в результате адсорбции «избыточных» ионов. Относительный объем межклетников может возрастать вследствие изменения тургоресцентности клеток. Кроме того, увеличение в условиях засоления объема клеток может служить доказательством того, что рост клеток растяжением в этих условиях не ингибируется [16].

Таблица 5.

Относительная площадь структурных компонентов свободного пространства паренхимы корня кукурузы Одесская 10 (в % к общей площади среза)

Вариант	Отн. площадь клеточных стенок	Отн. площадь межклеточников	Отн. площадь апопласта суммарная
Контроль	3,59±0,21	3,07±0,47	5,34±0,68
Засоление по хлориду 0,4%	4,44±0,05	6,95±0,05	9,15±0,04

Таким образом, одним из механизмов, обуславливающих барьерную функцию корня у соленепроницаемых гликофитов на засолении является накопление в свободном пространстве корневых тканей «избыточного» натрия. По-видимому, в мембранах корневых клеток наиболее активен механизм Na^+/H^+ антипортера, функционирующего у растений гликофитного типа, т.е. наблюдается механизм «откачки» натрия из клеток корня в свободное пространство, и его ионы в меньшей степени поступают в надземную часть, о чем свидетельствуют данные, предложенные выше.

Повышение концентрации натрия в свободном пространстве тканей по данным литературы, обеспечивается работой ферментов H^+ -АТФаз.

На основе определения мРНК белка H^+ -АТФазы установлено, что в условиях засоления усиливается его генная экспрессия, причём в органах высших растений накопление ферментативного белка происходит в плазмалемме клеток, локализованных в местах изменения путей дальнего транспорта ионов [17].

По данным В.К. Педченко [18], фермент H^+ -АТФаза в пределах тканей корня локализуется преимущественно в клетках эпидермы и периферийной части центрального цилиндра, которые являются как бы естественными барьерами, контролирующими проникновение в корень «избыточных» ионов с помощью механизма активного транспорта.

Было показано также, что активация H^+ -АТФазы в тонопласте клеток корня и листа положительно влияет на солеустойчивость растений, поскольку благодаря ей на мембране тонопласта возрастает движущая сила для удаления Na^+ из цитозоля в вакуоль [3].

Более выраженная активность H^+ -АТФазы, обнаруженная в клетках корневой эпидермы, может свидетельствовать о важной роли этого фермента в поддержании гомеостаза и определенного равновесия в системе почва - растение в условиях высокого содержания засоряющих ионов в почве [18].

Поддержание низкой концентрации ионов Na^+ в цитоплазме является, по-видимому, общим свойством растений гликофитного типа. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что в корневой системе гликофитного растения кукурузы функционирует механизм, способствующий выведению токсических «засоряющих» ионов натрия в свободное пространство, что зависит от солеустойчивости сорта.

ВЫВОДЫ

1. У растений кукурузы свойство солеустойчивости обеспечивается во многом барьерной ролью корня, ограничивающей поступление «засоляющих» ионов Na^+ в надземную часть.

2. Барьерная роль корня реализуется за счет накопления избыточных ионов в свободном пространстве его тканей, что приводит к изменению анатомических параметров свободного пространства.

Список литературы

1. Полевой В.В. Физиология растений: Учеб. для биол. спец. вузов. – М.: Высш. шк., 1989. – 464 с.
2. Удовенко Г.В. Солеустойчивость культурных растений. – Л.: Колос, 1977. – 213 с.
3. Ершов П.В., Решетова О.С., Трофимова М.С., Бабаков А.В. Активность ионных транспортеров и солеустойчивость ячменя // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, №6. – С. 867-875.
4. Рудашевская Е.Л., Кирвичникова А.А., Шишова М.Ф. Активность H^+ -АТФазы плазмалеммы клеток coleoptилей в процессе развития проростка кукурузы // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, №4. – С. 566-572.
5. Nassidim Miriam, Braun Yacl, Lerner Henry R., Reinhold Leonora. Na^+/H^+ and K^+/H^+ - antiport in root membrane vesicles insolated from the halophyte *Atriplex* and gliscophyte cotton // Plant Physiol. – 1990. – №4. – P. 1795-1801.
6. Луньков Р.В., Андреев И.М., Мясоедов Н.А., Хайтова Г.Ф., Куркова Е.Б., Балнокин Ю.В. Функциональная идентификация H^+ -АТФазы и Na^+/H^+ -антипортера в плазматической мембране, выделенной из клеток корня солезакапывающего галофита *Suaeda altissima* // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, №5. – С. 715-725.
7. Padan E., Schuldiner S. Na^+/H^+ Antiporters, Molecular Devices That Couple the Na^+ and H^+ Circulation in Cells // J. Bioenerg. Biomembr. – 1993. – V.25. – P. 647-669.
8. Пагис Л.Я., Попова Л.Г., Андреев И.М., Балнокин Ю.В. Ионная специфичность Na^+ -транспортирующих систем в плазматической мембране галотолерантной водоросли *Tetraselmis (Platymonas) viridis* Rouch. // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, №3. – С. 334-340.
9. Леонова Т.Г., Гончарова Э.А., Холоренко А.В., Бабаков А.В. Солеустойчивые и солечувствительные сорта ячменя и их характеристика // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, №6. – С. 876-881.
10. Захарин А.А. Быстрые реакции водообмена растений при воздействии на корни растворов солей различных концентраций // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, №2. – С. 291-297.
11. Захарин А.А. Механизмы солеустойчивости растений // Тез. Докл. II съезда Всесоюзного об-ва физиологов растений. – Ч. I. – М., 1990. – 34 с.
12. Вахмистров Д.Б. К вопросу о локализации свободного пространства корней растений // Физиология растений. – 1967. – Т. 14, №3. – С. 397.
13. Балнокин Ю.В., Котов А.А., Мясоедов Н.А., Хайлова Г.Ф., Куркова Е.Б., Луньков Р.В., Котова Л.М. Участие дальнего транспорта Na^+ в поддержании градиента водного потенциала в системе средякорень-лист у галофита *Suaeda altissima* // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, №4. – С. 549-557.
14. Батов А.Ю., Максимов Г.Б. Роль рН в регуляции мембранного транспорта протонов у растений // 2 съезд Всесоюзного общества физиологов растений. – Ч. 2. – Минск, 1992. – С. 22.
15. Matoh Toru, Ishikawa Takayuki, Takahashi Eiichi. Collapse of ATP-induced pH-gradient by sodium ions in microsomal membrane vesicles prepared from *Atriplex gmelini* leaves. Possibility on Na^+/H^+ - antiport // Plant Physiol. – 1989. – №1. – P. 180-183.
16. Кабузенко С.Н. Влияние засоления и экзогенных фитогормонов на рост и некоторые физиолого-биохимические функции растений на ранних этапах онтогенеза: Дис... докт. биол. наук.–Киев, 1996. – 385 с.
17. Падладна Т.О., Симчук О.С. Функціонування H^+ -насосу в плазмалемі рослинних клітин за умов сольового стресу // Матеріали міжнародної конференції «Онтогенез рослин в природному та трансформованому середовищі». – Львів, 1998. – С. 225.
18. Педченко В.К. Очищення, властивості та регуляція H^+ -АТФазы плазматичних мембран клітин коренів кукурудзи: Автореферат дис. ... канд. біол. наук. – Київ, 1993. – 17 с.

Поступила в редакцію 20.02.2006 г.

УДК 581.524.12

ВЛИЯНИЕ ВЛАЖНОСТИ, ЗАСОЛЕНИЯ, КОНКУРЕНЦИИ И АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МЕЖДУ РАСТЕНИЯМИ НА ЖИЗНЕННОСТЬ И РОСТ СВЕДЫ В ГАЛОФИТНЫХ СООБЩЕСТВАХ КРЫМА

Котов С.Ф., Жалдак С.Н., Симагина Н.О.

Сообщества с участием сведы являются характерным элементом галофитной растительности Крыма. В составе настоящей солончаковой суккулентно-травянистой растительности сведа образует сообщества совместно с солеросом, галимионе ножковой и монодоминантные ценозы [1 – 3].

Антропогенная галофитизация земель Крыма, проблемы их фитомелиорации, охрана эталонных участков естественной зональной растительности Равнинного Крыма являются серьезными причинами всестороннего изучения распространения, структуры и динамики галофитной растительности, в том числе и сообществ однолетних суккулентных галофитов.

Большинство выполненных нами ранее работ по структуре галофитных сообществ Крыма касается моноценозов *Salicornia perennans* Willd [4 – 11].

Цель настоящей работы состояла в исследовании структуры сообществ, образованных *Suaeda prostrata* Pall. и *Suaeda acuminata* (С.А.Мey.) Moq., а также оценке влияния ведущих экологических факторов и взаимодействий на жизненность растений в этих ценозах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал для исследования был собран на мокрых суглинистых солончаках в Центральном Присивашье (район с. Мелководное) и на мокрых солончаках с песчано-ракушечными почвами по берегу соленого озера Сасык в течение вегетационного периода (июнь – сентябрь), в 1998 - 2004 гг. Почвы с хлоридным и хлоридно-сульфатным типом засоления (содержание легкорастворимых солей до 2%), влажность почвы колеблется в течение сезона, по годам и зависит от степени выраженности микрорельефа [2, 12, 13].

Объектом исследования являлись ценопопуляции *S. prostrata* и *S. acuminata*. Растения отличаются низкой степенью пищевой специализации и, в пределах экологического диапазона вида, трудно ожидать видоспецифичности во взаимодействиях [14, 15]. По этой причине мы рассматриваем ценопопуляции *S. prostrata* и *S. acuminata* в качестве эквивалентных объектов в системе внутри- и

межвидовых взаимодействий (по устному сообщению В.В.Корженевского в Крыму *S. prostrata* не произрастает, хотя наличие этого вида в Крыму отмечено в авторитетных флористических сводках [16, 17]).

На участках, через каждые 0,5 - 1,0 м закладывали трансекты, по ходу которых, методом ближайшего соседа [18], отбирали пары растений с регистрацией их видовой принадлежности, измерением расстояния между ними, высоты надземной части и диаметра стебля над корневой шейкой. Отбор проводили в течение всего периода вегетации с периодичностью один раз в две недели, по 50-75 пар растений. Растения извлекали из почвы вместе с корневой системой, помещали в бумажные пакеты, в последующем высушивали в термостате при $t = 70^{\circ} \text{C}$ в течение 10 дней до воздушно-сухого состояния и взвешивали. Одновременно, случайным способом, выбирали по 30 экспериментальных особей, вокруг которых в радиусе 10 см удалялись все соседи. В конце вегетации у экспериментальных растений также измеряли параметры жизнестойкости (высоту, диаметр стебля, массу).

Интенсивность ростовых процессов оценивали посредством расчета относительной скорости роста по массе ($\text{RGR}_{\text{пер.}}$, г/г*неделю) и высоте ($\text{RGR}_{\text{пер.}}$, мм/мм*неделю) [19]. Оценка интенсивности конкуренции производилась посредством корреляционного анализа связи воздушно-сухой массы ближайшего к случайной точке растения с расстоянием до ближайшего соседа, а также с помощью индекса конкуренции (CI) [20 - 22].

Для выявления аллелопатических эффектов во взаимодействиях растений в сообществах с участием сведы отбирали по 40 особей многолетних галофитов - *Artemisia santonica* L., *Halocnemum strobilaceum* (Pall.) M.Bieb., *Limonium gmelinii* (Willd.) O.Kuntze, различающихся по возрастному состоянию, которое определялось на основе качественных морфологических признаков. От основания стебля многолетников, с ориентировкой по сторонам света, закладывались полосные трансекты (ширина 10 см, шаг для разделения на площадки - 10 см). На трансектах каждые две недели подсчитывали численность, измеряли морфометрические параметры (высота, степень ветвления), регистрировали фенологическое состояние *S. prostrata* и в конце вегетации определяли воздушно-сухую массу растений. Реальную семенную продуктивность и репродуктивное усилие *S. prostrata* в разных условиях произрастания оценивали общепринятыми методами [23, 24].

Количественные данные обрабатывали с помощью общепринятых методов математической статистики [25].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ценопопуляции сведы образуют сообщества, занимающие полосу за соообществами ассоциации *Salicornietum purum*, входят в состав солеросово-сведовых, сведово-галимионовых фитоценозов и формируют пятна мозаики в других сообществах настоящей солончаковой суккулентно-травянистой растительности в пределах диапазона экологической толерантности вида. Ведущую роль в распределении сообществ однолетних галофитов играют увлажнение и засоление почвы [1,2,10]. По мере снижения выраженности этих факторов сообщества образуют ряд *Salicornietum purum* - *Suaedetum (prostratae) salicorniosum* -

Halimionetum (pedunculatae) salicorniosum - Suaedetum prostratae purum - Halimionetum pedunculatae purum - Halimionetum (pedunculatae) petrosimiosum (oppositifoliae) - Petrosimionietum (oppositifoliae) purum. В то время как наиболее галотолерантный из однолетних суккулентных галофитов *S. perennans* имеет экологический оптимум, соответствующий содержанию NaCl в пределах 2-3% [26], *S. prostrata* и *S. acuminata* занимают экотопы с содержанием наиболее токсичного для растений хлорид-аниона чуть более 1% (для сравнения содержание хлорид-аниона в местах произрастания *S. perennans* до 2%) [2]. Часто солерос и сведа образуют смешанные сообщества, что указывает на перекрытие их экологических амплитуд по отношению к засоленности субстрата. В этом случае соотношение компонентов в сведово-солеросовых сообществах определяется уровнем увлажнения местообитания – солерос доминирует на экотопах большей степени увлажненности по сравнению с экотопами, которые занимает сведа. Погодичная динамика сообществ однолетних суккулентных галофитов также связана с уровнем влагообеспеченности. В годы с меньшим количеством осадков тренд в распространении сообществ с участием сведы и солероса смещается в направлении доминирования ценопопуляций сведы и, наоборот, при большем влагообеспечении преобладают ценопопуляции солероса. Так, 2001 г. отличался большей засушливостью по сравнению с предыдущим годом и осадки выпадали неравномерно - обильные дожди перед вегетацией растений солончаков сменились на продолжительную засуху в течение всего вегетационного периода. На солончаковых местообитаниях в районе пос. Мелководное (Центральное Присивашье) это привело к появлению сообществ ассоциаций Suaedetum (prostratae) salicorniosum и Suaedetum prostratae purum, которые в более обильном на осадки 2000 г. отсутствовали; одновременно сократились площади занятые ценопопуляциями *S. perennans* в составе сообществ ассоциаций Salicornietum purum и Halimionetum (pedunculatae) salicorniosum.

Распределение значений вышеуказанных абиотических факторов коррелятивно связано со степенью развития микрорельефа [1, 2, 27, 28]. Рельеф является опосредованным экологическим фактором. Повышения в рельефе коррелятивно связано с уменьшением влажности и засоления почвы. Поэтому изменения в характере рельефа, а именно развитый микрорельеф, обуславливает высокую степень мозаичности растительности солончаков и влияет на распределение растительных сообществ галофитов [2, 29].

Распространение растительных сообществ может быть обусловлено влиянием абиотических факторов, взаимодействием между растениями, повреждениями со стороны травоядных животных и вредителей. В экспериментах с корневой изоляцией растений и удалением ближайших соседей установлено наличие взаимодействий в популяциях однолетних галофитов – растения изолированные от влияния соседей характеризуются более высокими значениями параметров жизнестойкости [6, 28]. Специфичность растительного организма проявляется в его малой подвижности и привязанности к месту произрастания. Поэтому, влияние растений друг на друга осуществляется опосредованно, путем изменения условий местообитания: влажности, освещенности, потребления ресурсов среды и др. В силу

низкой пищевой специализации и неподвижности растений преобладающим типом взаимодействий в фитоценозе является т.н. эксплуатационная конкуренция; при этом зона, из которой растение получает ресурсы, перекрывается зонами изъятия ресурса (фитогенными полями по А.А. Уранову, [30]) ближайших соседей. Сущность эксплуатационной конкуренции заключается в снижении обеспеченности одной особи каким-либо ресурсом (или несколькими ресурсами) за счет потребления его другой особью. Результатом конкурентного взаимодействия растений друг с другом является дифференциация особей в популяциях по основным показателям жизненности: высоте, надземной и подземной массе растений, темпам развития, семенной продуктивности и др. [31, 32].

В результате конкурентных взаимодействий в ценопопуляциях *S. acuminata* наблюдается значительное снижение жизненного состояния особей. В ходе исследования установлено, что средние морфометрических параметров растений, выросших в условиях эксперимента, достоверно ($P \leq 0,05$) превышают аналогичные средние у растений, произрастающих при конкуренции, на контрольных участках. Параметры жизненности особей являются плотностно - зависимыми характеристиками и тренд в увеличении высоты и диаметра стебля экспериментальных растений закономерен. Практически во всех ценопопуляциях, в период формирования вегетативной сферы, высота особей *S. acuminata*, растущих в отсутствие ближайших соседей, превышает высоту контрольных растений примерно в 1,5-2 раза. Ценопопуляционные взаимодействия происходят одновременно за весь спектр питательных веществ, находящихся в среде, но их интенсивность и направленность различны в отношении отдельных ресурсов [33, 34]. У ряда однолетних растений, увеличение высоты в густых посевах, связано с конкуренцией за свет [34]. Недостаток освещенности стимулирует вытягивание растений в высоту из-под полога соседей для создания оптимальных условий аккумуляции лучистой энергии ассимилирующими органами. В силу особенностей архитектоники надземных органов *S. acuminata* вряд ли можно ожидать напряженную конкуренцию за свет и CO_2 . Значительная разница в высоте контрольных и экспериментальных растений указывает на наличие в сообществах сведы подземной конкуренции за почвенные ресурсы. Почвенный азот, один из основных элементов минерального питания растений, недостаток которого в почве чаще всего приводит к конкуренции. Низкопродуктивные местообитания, каковыми являются приморские солончаки, обуславливают существование конкурентных взаимодействий между растениями за почвенные ресурсы [6, 35].

Для изучения динамики роста *S. acuminata*, мы рассчитывали выборочные средние показатели относительной скорости роста в высоту ($RGR_{\text{рф}}$) и воздушно-сухой массе ($RGR_{\text{рм}}$) в единицу времени (одна неделя). Исключение внутривидовой конкуренции на экспериментальных участках не повлияло на характер кривых роста особей *S. acuminata* в высоту ($RGR_{\text{рф}}$), которые соответствуют основным фенологическим фазам развития однолетнего растения. Приуроченность относительной скорости роста особи к тому или иному сроку вегетации в основном определяется метеорологическими условиями, а так же видовыми и возрастными особенностями растения [19]. Отсутствие различий в динамике кривых $RGR_{\text{рф}}$ у

ВЛИЯНИЕ ВЛАЖНОСТИ, ЗАСОЛЕНИЯ, КОНКУРЕНЦИИ

контрольных и экспериментальных растений *S. acuminata*, согласуется с указанной особенностью: особи обеих групп (контроль - эксперимент) идентичны в возрастном состоянии и произрастают в однотипном эктопическом и метеорологическом режиме. Более высокая скорость роста отмечена в первую фазу жизненного цикла растений (июль - август), в момент формирования вегетативной сферы (табл. 1).

Таблица 1.
Динамика конкурентных взаимодействий между растениями
в ценопопуляциях *S. acuminata*

Параметр	Сроки отбора					
	10.07.99	16.07.99	03.08.99	11.08.99	04.09.99	07.10.99
Плотность, особей на м ² , $\bar{x} \pm m_x$	751,9±34,8	---	---	938,7±39,3	---	717,2±63,3
$\frac{h_{cp.}}{\bar{x} \pm m_x}$, м ⁻³	$\frac{49,1 \pm 5,2}{84,3 \pm 3,6}$	$\frac{85,7 \pm 9,1}{139,0 \pm 6,2}$	$\frac{105,4 \pm 1,2}{150,9 \pm 1,4}$	$\frac{112,4 \pm 0,8}{158,7 \pm 2,8}$	$\frac{110,0 \pm 6,4}{159,3 \pm 2,6}$	$\frac{110,8 \pm 1,7}{158,7 \pm 5,2}$
$\frac{m_{cp.}}{\bar{x} \pm m_x}$, г	$\frac{0,05 \pm 0,01}{0,16 \pm 0,01}$	$\frac{0,08 \pm 0,02}{0,28 \pm 0,02}$	$\frac{0,21 \pm 0,01}{0,52 \pm 0,07}$	$\frac{0,26 \pm 0,03}{0,57 \pm 0,10}$	$\frac{0,33 \pm 0,01}{0,71 \pm 0,02}$	$\frac{0,24 \pm 0,11}{0,65 \pm 0,07}$
CI	0,687	0,714	0,596	0,543	0,535	0,630
$RGR_{cp.}(h)$, м ³ /м ³ * неделю	---	$\frac{0,542}{0,606}$	$\frac{0,085}{0,037}$	$\frac{0,065}{0,044}$	$\frac{-0,007}{0,001}$	$\frac{0,002}{-0,001}$
$RGR_{cp.}(m)$, г/г * неделю	---	$\frac{0,646}{0,764}$	$\frac{0,370}{0,247}$	$\frac{0,213}{0,092}$	$\frac{0,072}{0,067}$	$\frac{-0,069}{-0,019}$

Примечание. Над чертой указаны значения морфометрических параметров особей в ненарушенных сообществах (контроль), под чертой - в эксперименте с удалением соседей.

С переходом к цветению (конец августа - начало сентября), т.е. в период образования генеративных органов, интенсивность ростовых процессов снижается до невысоких положительных величин, причем, в некоторых ценопопуляциях *S. acuminata* $RGR_{cp.}$ достигает отрицательных значений. Говоря об отрицательных значениях $RGR_{cp.}$, следует учитывать их относительный характер, поскольку отрицательный расчет прироста растения за единицу времени не совсем корректен.

В отличие от $RGR_{cp.}(h)$ динамика относительной скорости аккумуляции сухого вещества в единицу времени $RGR_{cp.}(m)$ у контрольных и экспериментальных экземпляров *S. acuminata* имеет двухвершинный характер (рис. 1).

В первую фазу жизненного цикла однолетних эугаллофитов происходит интенсивное поглощение ресурсов среды и накопление ассимилятов для последующего формирования генеративных органов. В это время наблюдаются максимальные значения $RGR_{cp.}(m)$ (Табл.1). Второй пик прироста биомассы ниже первого, но отчетливо выявляется при анализе формы кривой роста (рис. 1). Он соответствует

периоду формирования семян, воздушно-сухая масса которых у эугаллофитов составляет около 10% от воздушно-сухой массы всего растения.

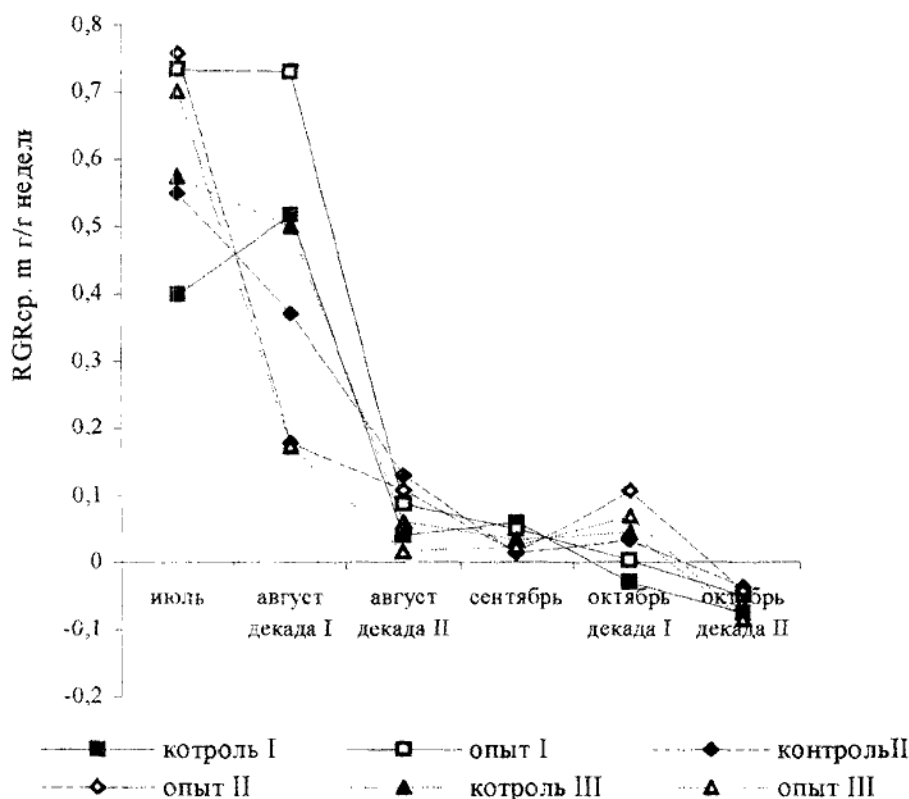


Рис. 1. Динамика RGR_{cpm} растений за период вегетации в ценопопуляциях *Suaeda acuminata*.

Характер изменения относительной скорости роста у особей разных размеров косвенно свидетельствует о разной напряженности конкурентных отношений в ценопопуляции. Одинаковая скорость роста особей, независимо от их размера, является показателем относительно невысокой напряженности конкуренции. Чем резче дифференциация растениями по основным показателям жизнестойкости и в относительной скорости роста, тем напряженнее конкурентные отношения между ними [36]. В ценопопуляциях *S. acuminata* конкуренция тормозит ростовые процессы: значения $RGR_{срн}$ и $RGR_{срп}$ в вегетативную фазу развития (июль - начало сентября) у экспериментальных особей значительно превышают аналогичные показатели у контрольных (Табл. 1.). Средняя величина относительной скорости роста в высоту опытных растений *S. acuminata*, достигает $0,606 \text{ м}^3/\text{м}^3 \cdot \text{неделю}$ и снижается в группе контрольных особей до $0,542 \text{ м}^3/\text{м}^3 \cdot \text{неделю}$ (Табл.1). При переходе растений в генеративную фазу развития скорость роста особей из обеих

ВЛИЯНИЕ ВЛАЖНОСТИ, ЗАСОЛЕНИЯ, КОНКУРЕНЦИИ

групп практически одинакова и не зависит от их размера (опыт - $RGR_{срн} = 0,065 \text{ м}^3/\text{м}^3 \cdot \text{неделю}$, контроль - $RGR_{срн} = 0,044 \text{ м}^3/\text{м}^3 \cdot \text{неделю}$). Высокие значения относительной скорости роста в высоту у экспериментальных растений в первые две недели после удаления конкурентов, являются доказательством того, что конкуренция тормозит развитие особей на ранних этапах. В данный период, индекс конкуренции достигает максимальных значений. В разных ценопопуляциях его величина колеблется от 0,622 до 0,714. Примерно одинаковая скорость роста растений при переходе к репродукции свидетельствует об ослаблении конкуренции. Действительно, в фазу диссеминации растений, во всех ценопопуляциях, значение индекса конкуренции уменьшается (до 0,535-0,552).

Наряду с конкуренцией на структуру галофитных сообществ оказывает влияние и другие биотические факторы, в том числе и аллелопатия [13]. *S. prostrata*, произрастая в моноценозах и смешанных сообществах, участвует в аллелопатических взаимодействиях. Взаимодействия проявляются, как в надземной, так и в подземной сферах растений. В смешанных сообществах *S. prostrata* выступает как акцептор аллелопатических веществ, т.е. испытывает воздействие комплекса экзогенных органических соединений. На начальном этапе круговорота физиологически активных веществ, отчуждение органических веществ растением-донором в среду происходит вследствие нормальной экскреции, как проявление основного свойства живых организмов – постоянного обмена веществ и энергии с окружающей средой [37]. Среди веществ, обуславливающих аллелопатическую активность *A. santonica*, *H. strobilaceum*, *L. gmelinii*, были выявлены фенольные соединения (фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества, флавоноиды), алкалоиды, амины, аминокислоты, тритерпеновые гликозиды. Вследствие выделений в среду аллелопатически активных веществ многолетниками, жизненность *S. prostrata* снижается по сравнению с жизненностью растений в моноценозах *Suaedetum prostratae purum*. С увеличением расстояния между растением-донором и растением-акцептором возрастают средние морфометрические параметры *S. prostrata*. По мере удаления от центра фитогенного поля растений-доноров (*A. santonica*, *H. strobilaceum*, *L. gmelinii*) снижается их аллелопатическое воздействие на *S. prostrata*. На это указывает положительная корреляционная связь, установленная между морфометрическими параметрами *S. prostrata* и расстоянием до *A. santonica*, *H. strobilaceum*, *L. gmelinii* (табл. 2). В течение вегетационного периода напряженность аллелопатических взаимодействий возрастает. Значения коэффициентов корреляции между параметрами, характеризующими жизненность *S. prostrata*, и расстоянием до растений-доноров аллелопатических веществ увеличиваются с июня по октябрь. Наиболее тесная корреляционная связь выявлена для биомассы, высоты *S. prostrata* по градиенту удаленности от *A. santonica*, *H. strobilaceum*, *L. gmelinii*. Показатели относительной скорости роста *S. prostrata* в течение периода вегетации в 2,5 раза выше в моноценозе *Suaedetum prostratae purum*, чем в сообществах ассоциаций *Artemisietum (santonicae) suaedosum (prostratae)*, *Halocnemum (strobilacei) suaedosum (prostratae)*, *Limonietum (gmelinii) suaedosum (prostratae)*.

Аллелопатические взаимодействия оказывают влияние и на семенную продуктивность *S. prostrata*. У *S. prostrata*, которая является акцептором, основные

показатели, характеризующие уровень репродукции особей, значительно ниже в фитогенном поле растений-доноров аллелопатических веществ, чем в моноценозах. Аллелопатическое влияние *A. santonica* снижает реальную семенную продуктивность *S. prostrata* на 85% по сравнению с контролем, всхожесть семян – на 12%, репродуктивное усилие на 69%. Будучи акцептором аллелопатических веществ *S. prostrata* не может достичь максимальных показателей жизнеспособности и репродукции особей в течение онтогенеза.

В сообществах ассоциации *Salicornietum (perennans) suaedosum (prostratae)* конкурентные взаимодействия протекают достаточно интенсивно ($CI = 0,682$). На фоне конкурентных взаимодействий за элементы корневого питания в течение вегетации проявляются активные аллелопатические взаимодействия. При прорастании *S. perennans* выделяет вещества (фенольные соединения, алкалоиды, органические кислоты), снижающие всхожесть семян *S. prostrata* на 10-20%, по сравнению с монокультурой. При действии водных экстрактов из надземных органов растений *S. perennans* всхожесть семян *S. prostrata* снижается на 40-95%, по сравнению с контролем. Также снижается интенсивность развития проростков *S. prostrata*. В естественных местах обитания при наличии растительных остатков *S. perennans*, прорастание семян *S. prostrata* ингибировано из-за высокой концентрации аллелопатических веществ в среде.

Таблица 2.

Корреляционная зависимость параметров жизнеспособности *S. prostrata* по градиенту удаленности от *A. santonica*, *H. strobilaceum*, *L. gmelinii* ($r \pm m r$)

Сообщество ассоциации	Параметры жизнеспособности <i>S. prostrata</i>	Июль	Август	Сентябрь
<i>Artemisietum (santonicae) suaedosum (prostratae)</i>	Биомасса	0,48±0,09	0,65±0,08	0,74±0,11
	Высота	0,53±0,06	0,60±0,05	0,70±0,06
	Ветвление	0,30±0,05	0,51±0,13	0,60±0,17
<i>Halocnematum (strobilacei) suaedosum (prostratae)</i>	Биомасса	0,30±0,11*	0,57±0,09	0,85±0,06
	Высота	0,39±0,15	0,76±0,12	0,91±0,06
	Ветвление	0,79±0,06	0,45±0,10	0,94±0,03
<i>Limonietum (gmelinii) suaedosum (prostratae)</i>	Биомасса	0,35±0,14*	0,54±0,08	0,62±0,03
	Высота	0,34±0,09	0,56±0,10	0,65±0,08
	Ветвление	0,14±0,09*	0,22±0,10*	0,39±0,09

Примечание: * отмечены статистически недостоверные значения коэффициентов корреляции ($P > 0,05$)

В сообществах ассоциации *Salicornietum (perennans) suaedosum (prostratae)* сведа выступает также донором аллелопатических веществ на некоторых стадиях онтогенеза. При действии водных экстрактов из надземных органов *S. prostrata*, всхожесть семян *S. perennans* оставалась высокой (94%). Однако экстракт *S. prostrata* оказывал ингибирующее воздействие на развитие проростков *S. perennans*. Средняя длина их при этом была в 1,9 раза меньше, чем в контроле. У сведы было отмечено проявление ауталлелопатических свойств, выражающихся в снижении всхожести семян *S. prostrata* на 30% при избытке водорастворимых выделений побеговой и корневой системы *S. prostrata* в среде.

ВЫВОДЫ

1. Ценопопуляции сведы занимают местообитания с содержанием хлорид аниона до 1%. В сообществах ас. *Salicornietum suedosum*, в пределах галотолерантности сведы, основным регулятором распространения ценопопуляций солероса и сведы является степень увлажнения экотопа.

2. Конкуренция за ресурсы почвенного питания тормозит рост растений в ценопопуляциях сведы и снижает скорость накопления органического вещества, примерно в 2,5 раза. Динамика относительной скорости роста в течение вегетационного периода сведы не зависит от интенсивности внутривидовых взаимодействий, поскольку определена фенологическими фазами индивидуального развития растений.

3. Значения морфометрических параметров, отражающих жизненность сведы (высота, масса, диаметр стебля, степень вствления), реальная семенная продуктивность и репродуктивное усилие при аллелопатических взаимодействиях увеличиваются по градиенту удаленности от растений-доноров аллелопатических веществ.

Список литературы

1. Білик Г. І. Рослинність засолених ґрунтів України, її розвиток, використання та поліпшення. - Київ: Вид-во АН УРСР, 1963. - 299 с.
2. Багрикова Н.А., Котов С.Ф. Распространение и структура сообществ однолетних суккулентных галофитов в центральной и восточной части Крымского Присивашья // Уч. зап. Таврич. нац. ун-та. - 2003. - Т. 16 (55), №2. - С. 3-13.
3. Котов С.Ф., Вахрушева Л.П. Растительный покров Калиновского регионального ландшафтного парка (современное состояние и перспективы сохранения ценогенофонда) // Бюл. ГНБС. - 2003. - Вып. 88. - С. 34-38.
4. Котов С.Ф. Количественный подход к оценке конкурентных взаимодействий на уровне сообщества. Моноценозы однолетников // Экологія та ноосферологія. - 1996. - Т. 2, №3-4. - С. 134-139.
5. Котов С.Ф. Количественный анализ взаимодействий в ценопопуляциях некоторых галофитных растений // Укр. ботан. журн. - 1997. - Т. 54, № 1. - С. 57-62.
6. Котов С.Ф. Конкуренция в сообществах галофитов при двух уровнях почвенного плодородия // Укр. бот. журн. - 1997. - Т. 54, №6. - С. 525 - 528.
7. Котов С.Ф., Репецкая А.И. Взаимодействие между *Limonium gmelinii (Willd.) O. Kuntze* и *Salicornia europaea L.* в онтогенетическом аспекте // Укр. бот. журн. - 1998. - Т. 55, №1. - С. 37-40.

8. Котов С.Ф. Конкурентные взаимодействия и аллометрия растений в ценопопуляциях *Salicornia europaea* L. (Chenopodiaceae Vent.) // Укр. ботан. журн. – 1999. – Т. 56, № 4. – С. 369-373.
9. Жалдак С.Н., Котов С.Ф. Анализ влияния конкурентных взаимодействий на продукционную деятельность растений в моноценозах *Salicornia europaea* L. // Укр. фітоцен. зб. – К.: Фітосоціоцентр, 1999. – Сер. С, вип. 1 (15). – С. 62 – 68.
10. Котов С.Ф., Репецкая А.И. Влияние эколого-ценотических факторов на жизненное состояние *Salicornia europaea* L. // Уч. зап. Таврич. нац. универ. – 2002. – Т. 15 (54), № 1. – С. 41-45.
11. Репецкая А.И., Котов С.Ф. Влияние эколого-ценотических факторов на репродуктивные характеристики *Salicornia perennans* Willd на континентальных солончаках Крыма // Биологический вестник. – 2004. – Т. 8, №2. – С. 64-67.
12. Жалдак С.М. Вплив конкурентних взаємодій між рослинами на анатомо-морфологічну будову, ріст і продуктивність деяких еугалофітів: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Ялта, 2005. – 20 с.
13. Симагина Н.О. Взаємодії між рослинами в угрупованнях галофітної рослинності Криму: аллопатичний аспект: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Ялта, 2006. – 20 с.
14. Василевич В.И. Очерки теоретической фитоценологии. – Л.: Наука, 1983. – 232 с.
15. Котов С.Ф. Количественный подход к оценке конкурентных взаимодействий на уровне сообщества. II. Двухвидовые сообщества однолетников // Уч. зап. Таврич. нац. ун-та. – 2000. – №13 (52), т. 2. – С. 3-8.
16. Mosyakin S.I., Fedoronchuk M.M. Vascular plants of Ukraine: a nomenclatural checklist. – Kiev: Institute of botany of M.G. Kholodny, 1999. – 346 p.
17. Флора Восточной Европы / под ред. Цвелева Н.Н. – С-Пб.: Мир и семья, 1996. – Т. IX. – 456 с.
18. Cottam G., Curtis J.T. The use of distance measures in phytosociological sampling // Ecology. – 1956. – V. 37, №3 – P. 451-460.
19. Карманова И.В. Математические методы изучения роста и продуктивности растений. – М.: Наука, 1976. – 222 с.
20. Wilson S.D., Shay J.M. Competition, fire and nutrients in a mixed-grass prairie // Ecology. – 1990. – V. 71, N 5. – P. 1959-1967.
21. Grace J. V. On the measurement of plant competition intensity // Ecology. – 1995. – V. 76, № 1. – P. 305-308.
22. Жалдак С.Н., Котов С.Ф., Степанова О.В. Влияние конкуренции на рост однолетних галофитов. // Уч. зап. Таврич. нац. универ. – 2001. – Т. 14 (53), №1. – С. 70-74.
23. Вайнагий И.В. О методике изучения семенной продуктивности растений // Ботан. журн. – 1974. – Т. 59, №6. – С. 826-837.
24. Злобин Ю.А. Принципы и методы изучения ценологических популяций растений. – Казань: Изд. Казанского ун-та, 1989. – 143 с.
25. Шмидт В.М. Математические методы в ботанике. – Л.: ЛГУ, 1984. – 266 с.
26. Ungar I.A., Benner D.K., McCraw D.C. The distribution and growth of *Salicornia europaea* an inland salt pan // Ecology. – 1979. – V. 60, №2. – P. 329-336.
27. Bertness M.D. Interspecific interactions among high marsh perennials in a New England salt marsh // Ecology. – 1991. – V. 72, № 1. – P. 125-137.
28. Котов С.Ф. Экспериментальное изучение взаимодействий между растениями в сообществах однолетних галофитов // Вісник Запорізького держ. ун-ту. – 2004. – №1. – С. 98-103.
29. Котов С.Ф. Конкуренция между ценопопуляциями некоторых галофитов вдоль градиента повышения рельефа // Питання біондичації та екології. – Запоріжжя, 2000. – Вип. 5., №1. – С. 52-56.
30. Уранов А.А. Фитогенное поле // Проблемы современной ботаники. – Т. 1. – М.: Наука, 1965. – С. 251-254.
31. Злобин Ю.А. Теория и практика оценки виталитетного состава ценопопуляций растений // Ботан. журн. – 1989. – Т. 74, №6. – С. 769-781.
32. Межвидовые и внутривидовые отношения растений в искусственных фитоценозах / Под. ред. Б.И. Якушева. – М.: Наука и техника, 1987. – 175 с.
33. Куркин К.А. Фитоценологическая конкуренция. Системная взаимосвязь между парциальными давлениями конкуренции за различные ресурсы // Ботан. журн. – 1986. – Т. 71, №6. – С. 723-732.

ВЛИЯНИЕ ВЛАЖНОСТИ, ЗАСОЛЕНИЯ, КОНКУРЕНЦИИ

34. Работнов Т.А. Влияние одних растений на другие при совместном произрастании в фитоценозе // Журн. общ. биол. – 1996. – Т. 57, №3. – С. 376-380.
35. Котов С.Ф. Механизмы конкуренции в сообществах однолетних суккулентных галофитов // Укр.бот.журн. – 2001. – Т.58, №4. – С.465-470.
36. Weiner J., Thomas S. Size variability and competition in plant monocultures // Oikos. – 1986. – Vol. 47, №2 – P. 211-222.
37. Рощина В.Д., Рощина В.В. Выделительная функция высших растений. – М.: Наука, 1989. – 173 с.

Поступила в редакцию 04.04. 2006 г.

УДК 581.1:575.2

СОДЕРЖАНИЕ ТОКСИЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ТКАНЯХ БЫЧКА-КРУГЛЯКА, ОБИТАЮЩЕГО В АКВАТОРИЯХ ЧЕРНОГО И АЗОВСКОГО МОРЕЙ

Омельченко С.О., Залевская И.Н.

Чёрное и Азовское моря находятся в зоне интенсивной хозяйственной деятельности человека, в связи, с чем испытывают колоссальную антропогенную нагрузку. Бытовые, промышленные и сельскохозяйственные стоки попадают в морские акватории, что приводит к крайне негативным последствиям для экосистемы и, прежде всего, для биоты. Сбросы промышленных предприятий являются источниками загрязнения водной среды тяжелыми металлами, фенолами, нефтепродуктами, синтетическими поверхностно-активными веществами, органическими растворителями [1].

Ежегодно только с водами Дуная в море попадет 4500 т свинца, 6000 т цинка, 58,9 т ртути [2]. При этом максимальные концентрации меди, мышьяка, марганца, свинца, цинка, содержат сточные воды предприятий цветной металлургии, химической, электронной и машиностроительной промышленности, хрома и кадмия – предприятий химической, электротехнической и электронной промышленности [3].

Тяжелые металлы способны не только широко распределяться в водной среде, взаимодействовать с растворенными солями и изменять тем самым свойства воды, но и накапливаться в донных грунтах и морских организмах, что в значительной степени ухудшает их состояние и потребительские свойства. Токсичные элементы представляют чрезвычайную опасность, поскольку длительно сохраняют свою биологическую активность, и даже в малых концентрациях способны вызывать интоксикацию у водных организмов, приводящую к различным нарушениям их развития и жизнедеятельности [1].

Пагубные эффекты тяжелых металлов связаны с их химическими и физическими свойствами. Влияние токсичных элементов на клетку, в первую очередь, определяется их взаимодействием с клеточной оболочкой и изменением её катионного резерва, а затем - с цитоплазмой и её структурными компонентами.

Попадая в организм рыб с водой или пищей, тяжелые металлы накапливаются в различных тканях и органах, нарушая пищевое поведение, снижая выживаемость и темп роста [1].

Таким образом, рыбы, представляющие собой конечное звено трофической цепи, могут быть биоиндикаторами уровня загрязнения среды обитания. На этом основании целью настоящей работы явилось изучение содержания токсичных элементов в широко распространенном виде бычке-кругляке (*Neogobius melanostomus*), обитающем в прибрежных акваториях Черного и Азовского морей.

СОДЕРЖАНИЕ ТОКСИЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ТКАНЯХ БЫЧКА-КРУГЛЯКА.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследованиях использовали ихтиологический материал, собранный с декабря 2003 г. по ноябрь 2004 г. Материал представлен отделом ихтиологии ИНБИОМ НАН Украины. Определение токсичных элементов проводили в мышечной ткани бычка-кругляка, отловленного в бухте Карантинной, в районе г. Севастополя (Чёрное море) и в прибрежных акваториях с. Семеновка и Мысовое (Азовском море).

Тяжелые металлы: медь, свинец, кадмий, цинк определяли полярографическим методом по ГОСТам 26931-26934-86. Содержание мышьяка анализировали фотоколориметрическим методом по ГОСТ 26930-86. Выявление ртути проводили методом беспламенной атомной абсорбции на ртутном анализаторе «Юлия-2» по МУ 51-78-90.

Полученные экспериментальные данные обрабатывали статистически по Лакину Г.Ф. [4] и сравнивали с предельно допустимыми концентрациями для рыбы, которые для Pb составляли 1,0 мг/кг, Cd – 0,2 мг/кг, Cu – 10 мг/кг, Zn – 40,0 мг/кг, Ag – 5 мг/кг, Hg – 0,4 мг/кг. [Медико-биологические требования (МБТ) – 5061-87].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований токсичных элементов в наиболее массовом мониторинговом виде бычке-кругляке, обитающем в Чёрном и Азовском морях, приведены на рис. 1.

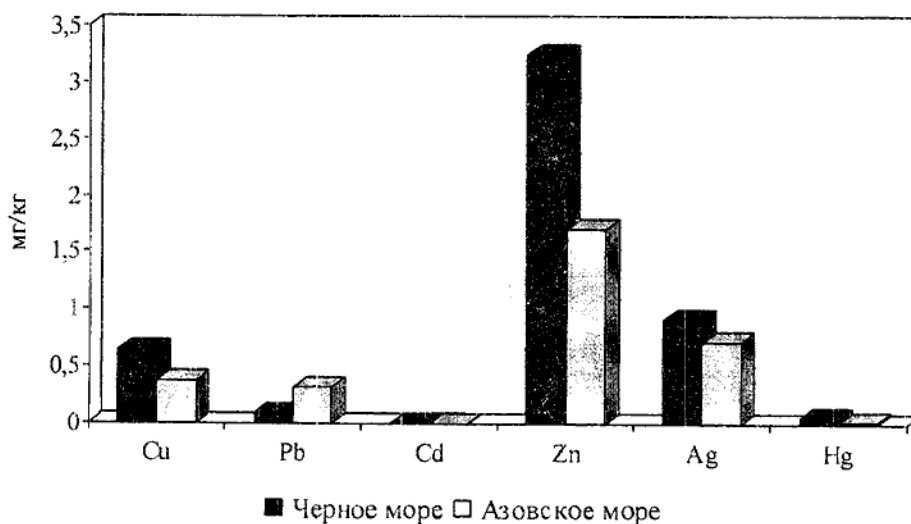


Рис. 1. Содержание токсичных элементов в ткани бычка-кругляка, обитающего в Чером и Азовском моря

Из представленных на рисунке данных, видно, что только уровень свинца в ткани бычка-кругляка, обитающего в Азовском море превышает соответствующий

показатель этого вида, обитающего в Черном море. По содержанию остальных токсичных элементов отмечена противоположная тенденция. Кадмий был обнаружен у бычка-кругляка, обитающего в Черном море в незначительном количестве, а в Азовском море этот элемент у исследуемого вида вообще не выявлен.

В процентном отношении содержание токсичных элементов в ткани бычка-кругляка, обитающего в Чёрном и Азовском морях можно выразить диаграммой (рис. 2.).

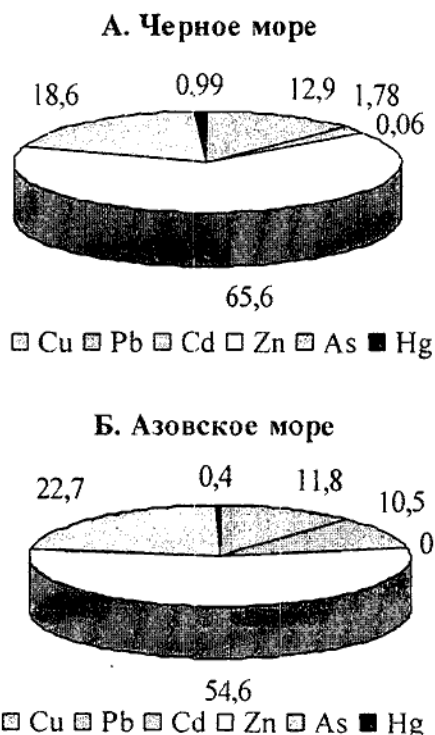


Рис. 2. Относительное содержание (в %) токсичных элементов в ткани бычка-кругляка, обитающего в Черном (А) и Азовском (Б) морях

Данные, представленные на рисунке 2 (А, Б) показывают, что содержание токсичных элементов по степени убывания распределено следующим образом: цинк → мышьяк → медь → свинец → ртуть → кадмий.

Как видно, уровень цинка наиболее высокий из всех присутствующих токсичных элементов в организме бычка-кругляка. Согласно данным литературы, способность ионов кадмия и цинка конкурировать в организме за участие в ферментативном процессе (кадмий замещает цинк в цинкосодержащих ферментах) подтверждает явление снижения накопления и токсичности кадмия в присутствии некоторых количеств цинка [1].

Колоссальное количество выбросов загрязнителей в акватории Черного и Азовского морей загрязняет воду и придонные грунты. По литературным данным, распределение тяжелых металлов в донных грунтах происходит согласно следующей последовательности $Hg < Co < Pb < Cu < Zn < Cr < Si$, в воде $Hg < Co < Cr < Pb < Cu < Zn$ [5, 6]. Попадая в организм гидробионтов, токсиканты включаются в биохимический цикл, крайне медленно покидают его, а в донных отложениях в наибольшей степени происходит накопление токсичных элементов [7].

Бычок-кругляк относится к придонному виду. В связи с особенностями образа жизни и питанием донной пищей, содержащей большее количество токсичных веществ, аккумулированных в грунтах, происходит накопление токсикантов в организме рыб в последовательности, аналогичной таковой в воде.

Как уже отмечали ранее, содержание всех токсичных элементов, кроме свинца, у черноморского бычка-кругляка выше, чем у азовского. Уровень ртути почти в 4 раза, меди и цинка – в 1,5 раза ниже в тканях азовских бычков по сравнению с соответствующими показателями того же вида, отловленного в Чёрном море. При этом следует отметить, что в районе Казантипа, где производился отлов рыбы, Азовское море более чистое, чем Черное море.

Известно, что медь, как и другие токсичные элементы, поступает в организм рыб в основном с пищей. Уровни поглощения меди находятся в прямой зависимости от концентрации иона в воде и времени воздействия, но в обратной зависимости от наличия в среде хелатов и неорганических ионов [8, 9]. При этом проявляется явный токсичный эффект, выражающийся в нарушении жизнедеятельности организма.

Кроме того, токсичные элементы, подвергаются в организме химическому превращению, в результате чего образуются более устойчивые формы. Например, ртуть присутствует в виде метилированных соединений, которые выводятся из организма крайне медленно. Более интенсивное накопление таких соединений в рыбе происходит в регионах с промышленными выбросами [1, 10].

Таким образом, в наших исследованиях выявлены существенные различия в содержании токсичных элементов в тканях бычка-кругляка, обитающего в акваториях Черного и Азовского морей, что зависит от места вылова и особенностей экологии. В целом, полученные данные не превышают предельно допустимых концентраций.

ВЫВОДЫ

1. Содержание токсичных элементов в организме бычка-кругляка, обитающего в Чёрном и Азовском морях по степени убывания распределено следующим образом: цинк → мышьяк → медь → свинец → ртуть → кадмий.
2. Все токсичные элементы, кроме свинца, преобладают у бычка-кругляка, обитающего в Черном море по сравнению с показателями азовского.
3. Кадмий был обнаружен в тканях бычка-кругляка, обитающего в Черном море в незначительном количестве, в Азовском море этот элемент у исследуемого вида не выявлен.

4. Содержание токсичных элементов у бычка-кругляка не превышало предельно допустимых концентраций.

5. Существенные различия в содержании токсичных элементов в тканях бычка-кругляка, обитающего в акваториях Чёрного и Азовского морей, зависят от места вылова и особенностей экологического состояния акваторий.

Благодарности. Авторы выражают благодарность сотрудникам отдела ихтиологии ИнБЮМ НАНУ Кузьминовой Н.С. и Вахтиной Т.Б. за сбор, предоставление и биологическую обработку материала исследований.

Список литературы

1. Будников Г.К. Тяжелые металлы в экологическом мониторинге водных систем // Соросовский Образовательный Журнал. – 1998. – №5. – С. 23-39.
2. Поликарпов Г.Г., Егоров В.Н., Кулебакина Л.Г., Лазоренко Г.Е., Цыпутина В.Г., Рисик И.С., Гулин С.Б., Гулин М.Б., Стокозов Н.В., Жерко Н.В., Светашева С.К. Исследования в области радиационной и химической биологии в СБС АН СССР-ИнБЮМ НАНУ (1956-1994). Морские биологические исследования. Из-во ИнБЮМ НАНУ, 1994. – С. 171-183.
3. Фацук Д.Я., Сапожников В.В. Антропогенная нагрузка на геосистему море-водосбор и ее последствия для рыбного хозяйства (методы диагноза и прогноза на примере Черного моря). М.: ВНИРО, 1999. – 124 с.
4. Кеньян В.П., Кубин А.М., Терехин Ю.В. Прикладная экология морских районов. Черное море. Киев: Наукова Думка, 1990. – 251 с.
5. Гидрометеорология и гидрохимия морей. Т. 4. Черное море. Вып. 3. Современное состояние загрязнения вод Черного моря / Под ред. А.И.Симонова, А.И.Рябицина. – Севастополь: ЭКОСИ – Гидрофизика, 1996. – 230 с.
6. Перевозников М.А., Светашова Е.С., Табернюк А.А. Сравнительное исследование накопления тяжелых металлов в различных компонентах водной экосистемы: Тезисы докладов // Актуальные проблемы водной токсикологии. – Борок, 2004. – С. 22.
7. Себах Л.К., Панкратова Т.М. Оценка загрязненности Черного и Азовского морей в современных антропогенных условиях // Труды Юг НИРО. – 1995. – Т. 41. – С. 91-93.
8. Себах Л.К., Панкратова Т.М., Авдеева Т.М. Оценка накопления тяжелых металлов в промышленных объектах Азово-Черноморского бассейна // Труды Юг НИРО. – 1995. – С. 87-90.
9. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1973. – 343 с.
10. Rudneva, I. Impact of metallurgical industry on the coastal ecosystem of Black Sea countries. In: Approaches to Handling Environmental Problems in the Mining and Metallurgical regions. Ed. L. Filho and I. Butorina. Kluwer Academic Publishers. Netherlands. – 2003. – P. 27-33.

Поступила в редакцию 20.02.2006 г.

УДК 579.8:579.26

ДИНАМИКА АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Отурина И.П., Зацепина Б.В.

Одним из основных методов борьбы с патогенными и условно-патогенными микроорганизмами является использование высокоэффективных препаратов, быстро действующих на возбудителя и не влияющих на физиолого-биохимические процессы в самом пораженном организме. Однако чувствительность бактерий, периодически оказывающихся в контакте с определенными антибиотиками, постепенно снижается, что необходимо учитывать, особенно при диагностике и лечении недостаточно изученных инфекционных заболеваний разной этиологии, среди которых особое место занимают клебсиеллёзные инфекции, обычно не распознаваемые, а потому протекающие под другими диагнозами [1]. Клебсиеллы вызывают интерес также и у специалистов ветеринарной службы, ботаников и гигиенистов, т. к. этих бактерий обнаруживают при заболеваниях животных (пневмониях, септицемиях), выделяют из пищевых продуктов, с поверхности овощей, семян, цветов, из различных водоемов.

Для бактерий рода *Klebsiella* характерна значительная устойчивость к воздействию факторов внешней среды [2], в том числе и высокая антибиотикорезистентность. Определение динамики колебаний чувствительности клебсиелл к антибиотическим препаратам – одно из важных условий совершенствования антибиотикотерапии инфекционных заболеваний, поскольку систематический контроль распространения антибиотикоустойчивых штаммов является основой для поиска и синтеза новых, обладающих более широким спектром действия антибактериальных соединений. К сожалению, исследование антибиотикочувствительности штаммов клебсиелл, высеянных в Крыму, на современном методическом уровне не проводилось, вследствие чего целью данной работы явилось изучение ответной реакции штаммов *Klebsiella pneumoniae* на воздействие различных групп антибиотиков в динамике.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Klebsiella pneumoniae – представитель кишечных бактерий из семейства *Enterobacteriaceae* [3], обитающий в кишечнике человека и животных, а также выделяющийся из человеческого организма при инфекциях мочевыделительной и дыхательной систем.

Для исследований были использованы штаммы *Klebsiella pneumoniae*, выделенные от больных людей с 2002 по 2004 гг. в бактериологической лаборатории санитарно-эпидемической станции г. Феодосия АР Крым.

Для определения культуральных и физиолого-биохимических свойств исследуемые бактерии культивировались в термостате в течение 24-48 часов на селективных (среды Эндо, Плоскирева, Левина) и дифференциально-диагностических (среды Олькеницкого, Кларка, Симмонса и др.) питательных средах, рекомендованных Международным подкомитетом по *Enterobacteriaceae* (1963).

Степень чувствительности клебсиелл к антибиотикам определялась с помощью дискодиффузного метода путем сравнения диаметров зон задержки роста (ДЗЗР) вокруг бумажных дисков, пропитанных растворами антибиотиков определенных концентраций, со стандартными значениями для каждого отдельного лекарственного препарата (табл. 1) [4]. Результаты обрабатывались статистически.

Таблица 1.
Стандартные показатели ДЗЗР микроорганизмов к антибиотикам при использовании дискодиффузного метода

№	Антибиотики	ДЗЗР, мм		
		R	I	S
1	Амикацин (AM)	≤14	15-16	≥17
2	Ампициллин (AMP)	≤9	10-13	≥14
3	Гентамицин (GEN)	≤15	-	≥16
4	Доксициклин (Do)	≤15	16-19	≥20
5	Канамицин (CAN)	≤14	15-18	≥19
6	Левомецетин (LEV)	≤15	16-18	≥19
7	Линкомицин (LIN)	≤19	20-23	≥24
8	Оксациллин (Ox)	≤19	20-23	≥24
9	Олеандомицин (OL)	≤12	13-17	≥18
10	Офлоксацин (OFL)	≤12	13-16	≥17
11	Пенициллин (PE)	≤9	10-20	≥21
12	Рифампицин (RA)	≤12	13-15	≥16
13	Стрептомицин (STR)	≤16	17-19	≥20
14	Тетрациклин (TET)	≤16	17-21	≥22
15	Цефотаксим (СТК)	≤14	15-20	≥21
16	Цефалексин (Ch)	≤12	13-19	≥20
17	Цефтазидим (CAZ)	≤14	15-17	≥18
18	Цефазолин (CZ)	≤14	15-18	≥19
19	Цефтриаксон (CRK)	≤14	15-20	≥21
20	Цефиксим (CM)	≤12	13-17	≥18
21	Эритромицин (ERY)	≤17	18-21	≥22

Условные обозначения: R – устойчивые; S – чувствительные;

I - умеренно чувствительные штаммы

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Морфолого-культуральные свойства клебсиелл изучались методом светлопольной микроскопии. В мазках из исследуемых штаммов клебсиелл, окрашенных по Граму, обнаружены короткие, толстые, капсулообразующие грамотрицательные палочки с закругленными концами, располагающиеся одиночно, попарно или короткими цепочками. Клебсиеллы – факультативные неподвижные анаэробы, оптимальная температура их роста при pH 7,2 35-37° С.

В отношении источников питательных веществ клебсиеллы исключительно нетребовательны – растут на простых синтетических средах, содержащих минеральные соли, углеводы и аммоний [5]. Представители исследуемых штаммов *Klebsiella pneumoniae* проявили себя ферментативно активными энтеробактериями, утилизирующими многие субстраты (табл. 2).

При посеве на питательную среду Эндо они формировали крупные, выпуклые, красного цвета с металлическим блеском колонии слизистой консистенции; на средах Плоскирева и Левина – колонии брусничного или розово-малинового цвета, пигментация которых свидетельствовала о наличии у клебсиелл выраженных лактозоположительных свойств.

Анализ результатов проведенных биохимических тестов по исследованию ферментативной активности *K. pneumoniae* подтвердил их типичные в видовом отношении характеристики, свидетельствующие о преобладании у клебсиелл сахаролитической активности над протеолитической.

Саморегуляция жизнедеятельности *K. pneumoniae* обеспечивается адаптационной изменчивостью в ответ на изменения условий среды обитания за счет механизмов, заложенных в генофонде популяций возбудителя. Так, при воздействии антибиотиков на чувствительные к ним штаммы бактерий могут возникать устойчивые формы, не теряющие вирулентности и вызывающие патологический процесс в организме [6], причем в отдельных случаях патогенные микроорганизмы могут достигать такой высокой степени устойчивости, что дальнейшее использование ранее эффективных лечебных препаратов становится бессмысленным. Чем шире применяется тот или иной антибиотик, тем чаще и быстрее возникают устойчивые к его действию бактерии, причем отдельные штаммы микроорганизмов неодинаково чувствительны к одному и тому же антибиотику [8]. Интенсивное применение в медицинской практике определенных групп антибиотиков явилось причиной селективного распространения антибиотикорезистентных штаммов возбудителей клебсиеллёзной инфекции.

Устойчивость клебсиелл к антибиотическим веществам связана с высокой пластичностью этих микроорганизмов, позволяющей им быстро приспосабливаться к неблагоприятным условиям окружающей среды. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что чувствительные и резистентные штаммы клебсиелл могут иметь практически одинаковые морфологические и физиолого-биохимические характеристики, отличаясь лишь по степени устойчивости к используемым для подавления роста микробной культуры препаратам.

Таблица 2.
Биохимические свойства штаммов *K. pneumoniae*, высеянных в г. Феодосия
в 2002-2004 гг.

Тест или субстрат		Признак или реакция
Гидролиз мочевины		+
Разложение триптофана с образованием индола		-
Интенсивность кислотообразования (реакция с метиловым красным)		-, +
Образование ацетона		+
Образование H ₂ S		-
Рост в среде с KCN		+
Разжижение желатина (при 22° С)		-
Ферментация	глюкозы	+
	лактозы	+
	сахарозы	+
	рамнозы	+
	ксилозы	+
	мальтозы	+
	арабинозы	+
	раффинозы	+
	крахмала	+
	инозита	+
	маннита	+
Утилизация	цитрата в среде симмонса	+
	малоната	+
	ацтата натрия	+
Наличие	фенилаламиндезаминазы	-
	аргинингидролазы	-
	орнитиндекарбоксилазы	-
	лизиндекарбоксилазы	+
«+» – 90 % и более штаммов проявляют положительную реакцию		
«-» – 90 % и более штаммов проявляют отрицательную реакцию		
«-, +» – большинство штаммов проявляют отрицательную реакцию		

Так, анализ полученных экспериментальных данных свидетельствует о том, что в 2002 г. бактерии исследуемых штаммов *K. pneumoniae* проявили выраженную чувствительность к целой группе антибиотических препаратов, ингибирующих синтез компонентов клеточной стенки, нуклеиновых кислот и белков, а также нарушающих считывание генетического кода: амикацину, доксициклину, канамицину, офлоксацину, рифампицину, стрептомицину, тетрациклину (AM, Do, CAN, OFL, RA, STR, TET) и препаратам группы цефалоспоринов – цефотаксиму, цефтазидиму, цефазолину и цефтриаксону (CTK, CAZ, CZ, CRK). Выделенные в 2002 г. штаммы клебсиелл были умеренно чувствительны к гентамицину,

левомицетину, оксациллину, цефалексину, цефиксиму, эритромицину (GEN, LEV, Oх, Ch, CM, ERY); к воздействию ампициллина, линкомицина, олеандомицина, пенициллина (AMP, LIN, OL, PEN) эти бактерии были устойчивы (табл. 3).

В ходе проведенных исследований установлено, что бактерии из выделенных в 2003 г. штаммов *K pneumoniae* проявляли высокую степень чувствительности к амикацину, рифампицину, тетрациклину, цефотаксиму, цефтазидиму, цефазолину и цефтриаксону (AM, RA, TET, CTK, CAZ, CZ и CRK); умеренную чувствительность к канамицину, левомицетину, оксациллину, офлоксацину, цефалексину, эритромицину (CAN, LEV, Oх, OFL, Ch, ERY); были устойчивы к ампициллину, гентамицину, доксициклину, линкомицину, олеандомицину, пенициллину, стрептомицину, цефиксиму (AMP, GEN, Do, LIN, OL, PEN, STR, CM) (см. табл. 3). Таким образом, у клебсиелл, высеянных в г. Феодосия, в течение одного года сформировалась множественная лекарственная устойчивость к таким антибиотикам, как доксициклин (Do), стрептомицин (STR), гентамицин (GEN) и цефиксим (CM), а бактерицидный эффект канамицина (CAN) и офлаксацина (OFL) достоверно снизился. Существенно уменьшился ДЗЗР даже для таких эффективных ранее антибиотиков, как ампициллин (AM) и тетрациклин (TET) (см. табл.3), что может свидетельствовать о постепенной утрате чувствительности изучаемых бактерий к этим препаратам.

Результаты исследований, проведенных в 2004 г., показали, что клебсиеллы проявили чувствительность лишь к присутствию β -лактамов антибиотиков цефалоспоринового ряда II-III поколений – цефотаксиму, цефазолину, цефалексину, цефтриаксону (CTK, CZ, Ch, CRK), подавляющих синтез компонентов клеточной стенки (см. табл. 3).

К эффективным ранее амикацину (AM), рифампицину (RA), тетрациклину (TET), а также к канамицину (CAN), офлоксацину (OFL) и цефалексину (Ch) – цефалоспорины I поколения у изучаемых бактерий выработалась выраженная устойчивость, обусловленная, по-видимому, персистенцией микробов в тканях и инактивацией лекарственных препаратов бактериальными ферментами (такими, например, как β -лактамазы, ацетилтрансферазы, нуклеотидазы), передачей генетического материала (хромосомного и внехромосомного – R-плазмид) от одной микробной клетки к другой, а также изменением проницаемости клеточной стенки и внутриклеточных рецепторов – рибосомальных белков, следствием чего является нарушение связывания антибиотиков со структурами микробной клетки [7].

В связи с множественностью причин возникновения антибиотикоустойчивости у микроорганизмов данный феномен должен рассматриваться не только с клинической позиции, определяющей неэффективность применения используемых терапевтических препаратов [8], но и с чисто микробиологической точки зрения, характеризующей взаимоотношения микроорганизмов с антибиотиками.

Таким образом, все более расширяющиеся проблемы антибиотикорезистентности возбудителей инфекционных заболеваний, в частности, клебсиелл, смена патогенов почти в каждом десятилетии, расширение спектра их вирулентности определяет необходимость оптимального подбора антибактериальных препаратов, который должен зависеть от чувствительности к нему возбудителя данного заболевания.

Таблица 3.
Динамика антибиотикочувствительности штаммов *Klebsiella pneumoniae*,
высвьянных в г. Феодосия в 2002-2004 гг.

Антибиотики	Содержание антибиотика в диске, мкг	Средний диаметр зоны задержки роста, мм			Степень чувствительности*		
		2002г.	2003г.	2004г.	2002г.	2003г.	2004г.
Амикацин (AM)	10	25,33 ± 0,83	19,6 ± 0,20	15,6 ± 0,30	S	S	I
Ампициллин (AMP)	10	0	0	0	R	R	R
Гентамицин (GEN)	10	16,1 ± 0,70	13,8 ± 0,30	13,4 ± 0,30	I	R	R
Доксициклин (Do)	10	25,0 ± 1,00	12,4 ± 0,80	12,1 ± 0,20	S	R	R
Канамицин (CAN)	30	26,1 ± 0,40	16,4 ± 0,30	16,1 ± 0,60	S	I	I
Левомецетин (LEV)	30	16,7 ± 0,28	17,1 ± 0,50	11,8 ± 0,20	I	I	R
Линкомицин (LIN)	30	13,6 ± 0,20	10,4 ± 0,70	10,4 ± 0,70	R	R	R
Оксацелин (Ox)	10	19,8 ± 0,35	20,3 ± 0,30	17,4 ± 0,30	I	I	R
Олеандомицин (OL)	15	0	0	0	R	R	R
Офлоксацин (OFL)	5	20,8 ± 0,43	14,4 ± 0,30	14,3 ± 0,30	S	I	I
Пенициллин (PEN)	6	0	0	0	R	R	R
Рифампицин (RA)	5	22,3 ± 0,50	21,9 ± 0,70	13,8 ± 0,30	S	S	I
Стрептомицин (STR)	10	21,3 ± 0,67	15,5 ± 0,60	14,3 ± 0,50	S	R	R
Тетрациклин (TET)	30	33,4 ± 0,67	28,4 ± 0,70	18,6 ± 0,20	S	S	I
Цефотаксим (CTK)	30	29,1 ± 0,39	29,0 ± 0,20	25,3 ± 0,80	S	S	S
Цефалексин (Ch)	30	18,4 ± 0,30	18,0 ± 0,10	15,4 ± 0,70	I	I	I
Цефтазидим (CAZ)	30	18,5 ± 0,40	18,2 ± 0,20	18,4 ± 0,30	S	S	S
Цефазолин (CZ)	30	21,0 ± 0,60	20,8 ± 0,10	19,6 ± 0,20	S	S	S
Цефтриаксон (CRK)	75	30,7 ± 0,20	30,3 ± 0,30	30,4 ± 0,30	S	S	S
Цефиксим (CM)	5	16,3 ± 0,70	0	0	I	R	R
Эритромицин (ERY)	15	19,4 ± 0,50	19,2 ± 0,30	12,3 ± 0,40	I	I	R

$p \leq 0,05$

* – чувствительные (S), умеренно чувствительные (I) и устойчивые (R) к антибиотикам штаммы.

ВЫВОДЫ

1. Для штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от больных людей в период с 2002 по 2004 гг. в бактериологической лаборатории санитарно-эпидемиологической станции г. Феодосия АР Крым, характерны типичные для данного вида бактерий морфолого-культуральные и физиолого-биохимические признаки.

2. Исследуемые штаммы *Klebsiella pneumoniae* относятся к активно ферментирующим бактериям, у которых сахаролитические свойства преобладают над протеолитической активностью.

3. Штаммы *K. pneumoniae*, выделенные в г. Феодосия в 2004 г., проявляют высокую степень чувствительности к β -лактамам антибиотикам цефалоспоринового ряда II-III поколений: цефатоксиму, цефтазидиму, цефазолину и цефтриаксону. К таким препаратам, как ампициллин, гентамицин, доксициклин, левомицетин, линкомицин, оксациллин, олеандомицин, пенициллин, стрептомицин, цефиксим и эритромицин в период с 2002 по 2004 гг. у клебсиелл выработалась стойкая множественная лекарственная устойчивость.

4. К амикацину, канамицину, офлоксацину и рифампицину у *K. pneumoniae* проявляется тенденция выработки устойчивости.

5. Полученные данные указывают на необходимость систематического определения чувствительности *Klebsiella pneumoniae* к антибиотикам, т. к. широко и длительно применяемые лекарственные препараты способствуют возникновению устойчивых к ним штаммов микроорганизмов.

Список литературы

1. Киселева Б.С., Голубева И.В. Роль *Klebsiella pneumoniae* в этиологии заболеваний, протекающих с разной клинической симптоматикой // Материалы 4-ого Республиканского съезда эпидемиологов, микробиологов, инфекционистов и гигиенистов Эстонской ССР. – Таллин, 1982. – С. 22-24.
2. Журавлев П.В. Динамика выживаемости *Klebsiella pneumoniae* и *P. aeruginosa* в водной среде в экспериментальных условиях // Гигиена и санитария. – 1991. – №7. – С. 27-28.
3. Энтеробактерии. Классификация и номенклатура. Приложение к главе I/ Под ред. Покровского В.И. – М.: Медицина, 1985. – С. 5-16, 305-309.
4. Гивенталь Н.И., Соболев Е.Р., Ведьмина Е.А. Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам методом диффузии в агар // Лабораторное дело. – 1982. – № 1. – С. 44-48.
5. Мирошниченко И.В., Киселева Б.С., Машилова Г.М. и др. Выбор питательной среды для культивирования *Klebsiella pneumoniae* // Сб. трудов: Разработка и стандартизация бактериологических питательных сред. – М., 1980. – С. 150-154.
6. Цинзерлинг В.А., Бойков С.Г., Леёман Е.Е. и др. Клебсиеллезные пневмонии в настоящее время // Арх. пат. – 1991. – Т. 53, № 9. – С. 22-27.
7. Поздеев О.К. Медицинская микробиология / Под ред. Покровского В.И. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 765 с.
8. Слешов В.П., Бондаренко И.В. Антимикробные препараты в клинической медицине. Практическое руководство. – Симферополь: КГМУ, 2002. – 224 с.

Поступила в редакцию 20.02.2006 г.

УДК: 591.135+591.4:577.1:612.014.48

МОРФО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТОНКОМ КИШЕЧНИКЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Палёная Ю.В., Филоненко Т.Г., Казакова В.В.

С анатомо-гистологических позиций пищеварительный тракт представляет собой мышечную «трубку», которая изнутри выстлана слизистой оболочкой. Последняя, как правило, состоит из трех компонентов: эпителиального покрова, собственной пластинки из соединительной ткани, которая поддерживает этот покров, и мышечной пластинки, выполняющей локальную функцию «контракция-релаксация». Под слизистой оболочкой располагается подслизистая основа в виде рыхлой соединительной ткани с расположенными в ней кровеносными и лимфатическими сосудами, количество которых и степень распределения вариабельны в разных анатомических участках кишечника. В подслизистом слое также располагаются лимфоидные фолликулы, выполняющие функцию иммунного надзора. Мышечная оболочка кишечника состоит из переплетающихся между собой в различных направлениях мышечных волокон. Серозная оболочка представлена рыхлой соединительной тканью, покрытой мезотелием [1].

Эпителиальная выстилка слизистой оболочки выполняет различные специализированные функции, благодаря разнообразию составляющих ее эпителиальных клеток (ЭК) с различной функциональной морфологией. Структурно-функциональная гетерогенность ЭК имеет особое биологическое предназначение и отвечают за увлажнение и мукопротекторную функцию, функцию всасывания. Перманентное обновление ЭК слизистой оболочки протекает относительно быстро, в среднем в течение суток. При такой интенсивности клеточной пролиферации неизбежны «ошибки» роста и размножения камбиальных клеток, возникновение альтеративных и экссудативных реакций, а также ответные реакции на раздражение в виде гиперплазии фолликулов, особенно под воздействием различных экзогенных факторов [2].

Одним из наиболее активных факторов разрушающих нормальную структуру эпителия кишечника является воздействие ионизирующей радиации (ИР), которая возникает как в условиях техногенных катастроф, так и при применении лучевой терапии. Частота лучевых повреждений кишечника по данным разных авторов, в зависимости от сроков проявления радиационных поражений, встречается от 1 до 68% случаев [3 – 5]. Известно, что под воздействием ионизирующей радиации страдают функции клеточных и сывороточных протеолитических и

антиоксидантных ферментов, что может являться причиной радиационного эндотоксикоза [6, 7].

В связи с этим целью нашего исследования явилось определение взаимосвязи морфогенеза и морфологических проявлений в кишечнике с биохимическими изменениями, происходящими под воздействием ионизирующего излучения, что и явилось целью нашего исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты были проведены на 80 белых лабораторных крысах-самцах линии «Вистар» массой 180-220 г. Однократное облучение животных в дозе 6 Гр проводили с использованием установки «АГАТ-Р1».

Все крысы были разделены на 5 экспериментальных групп в зависимости от времени, которое прошло после облучения. Забой животных проводили путем декапитации через 24 часа, 3 дня, 7, 14 и 30 дней после воздействия ионизирующего излучения.

Материалом для исследования служили отдельные участки и супернатант гомогената тканей слизистой тонкого кишечника, взятые после забоя крыс.

Качественная оценка патологических изменений слизистой оболочки тонкого кишечника проводилась с помощью гистологического исследования с использованием окраски гематоксилин-эозин [1, 8]. Просмотр и фотографирование слайдов осуществляли на световом микроскопе Olympus CX-41.

Определение трипсиноподобных ферментов и уровня α_1 -ингибитора протеиназ (ИП) проводили с использованием специфического субстрата – этилового эфира N-бензоил-L-аргинина (БАЭЭ) фирмы «Reanal» [9]. Определение концентрации среднемолекулярных олигопептидов (СМО) проводили по методике Н.И. Габриэлян и соавторов [10, 11].

Статистическую обработку результатов исследования выполняли с помощью программы MS Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований выявлены биохимические и морфологические изменения в тканях тонкого кишечника, индуцированные ионизирующим излучением. Закономерность развития данных изменений прослеживалась следующим образом.

Через 24 после воздействия ИР в супернатанте гомогената слизистой оболочки тонкого кишечника происходило падение трипсиноподобной активности на 18,38% по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Уровень α_1 -ингибитора протеиназ, в свою очередь, возрастал и на 30,03% превышал показатели контрольной группы.

При этом концентрация среднемолекулярных олигопептидов была на 165,12% выше контрольных значений.

При морфологическом исследовании в слизистой стенки тонкого кишечника преобладали умеренные проявления нарушения кровообращения и интерстициальный отек. Отмечалось полнокровие капилляров ворсин и сосудов собственной оболочки. Со стороны ЭК отмечалась гиперсекреция бокаловидных клеток, способствующих

выделению секрета, покрывающего поверхность эпителия, что можно расценить как начальную компенсаторно-приспособительную защитную реакцию на воздействие повреждающего агента.

В дальнейшем, происходило постепенное увеличение трипсиноподобной активности, которая как на 3 день, так и на 7 день эксперимента была на 6,73% и на 65,92% выше показателей контрольной группы, соответственно. Уровень ингибитора протеиназ на 3 сутки после облучения продолжал возрастать, и на 60,72% был выше контроля, а затем происходило постепенное снижение его концентрации. Уровень эндотоксикоза повышался и на 3, 7 сутки после действия ИР содержание СМО на 270,59% и 241,17% превышало значение показателей, которые были зарегистрированы у животных, не подвергавшихся облучению ($p < 0,05$). Повышение уровня СМО в начальный период свидетельствует о немедленном реагировании тканей на повреждающее действие ионизирующего излучения, вследствие дисбаланса протеазо-антипротеазной системы и смещения равновесия в сторону усиления протеолитических процессов.

При исследовании на 3-й и 7-й день также отмечались функционально-морфологические изменения слизистой тонкого кишечника. При микроскопическом исследовании наблюдали нарастание дистрофических и деструктивных изменений. Ворсинки резко отечны, полнокровны. Отмечалась десквамация эпителиальных клеток. В некоторых участках тонкого кишечника появлялись эрозии, проявляющиеся отторжением ворсинок с оголением собственной пластинки эпителия.

На 7 сутки обнаруживали язвенные дефекты слизистой, распространяющиеся вплоть до мышечного слоя. Дно таких язв покрыто лейкоцитарным инфильтратом. Лейкоцитарная инфильтрация также появлялась и в сохранных ворсинках, что свидетельствовало о воспалительной реакции. Нарастали расстройства кровообращения, проявляющиеся полнокровием сосудов, периваскулярным отеком и периваскулярными кровоизлияниями. При этом сосудистая стенка находилась в состоянии повышенной проницаемости. В интерстиции отмечали отек и набухание коллагеновых волокон (рис. 1).

Зарегистрированные изменения можно объяснить немедленной реакцией чувствительных тканей тонкого кишечника на повреждающее действие радиации. При этом активация протеолиза может приводить к накоплению эндогенных токсинов не только в сыворотке крови, но и тканях. Эндогенные токсины, циркулирующие в крови, воздействуют на сосудистую стенку, в связи с чем, повышается проницаемость последней, что проявляется выраженными экссудативно-некротическими изменениями в тонком кишечнике. Именно этим можно объяснить падение ферментативной активности в дальнейшие сроки эксперимента.

На 14 день активность трипсиноподобных ферментов была на 8,07% выше контрольных значений, а к 30 дню падение активности стало более выраженным. При этом показатели ТПА были ниже на 31,84% по сравнению со значениями, зарегистрированными в контрольной группе. Уровень ингибитора на 14 день исследования снижался на 22,23% по сравнению со значениями данного показателя у здоровых животных, а в отдаленные сроки эксперимента отмечалось

незначительное повышение его содержания ($p < 0,05$). Однако контрольных значений уровень α_1 -ингибитора протеиназ так и не достигал, что свидетельствует о продолжающихся патологических процессах в данной ткани.

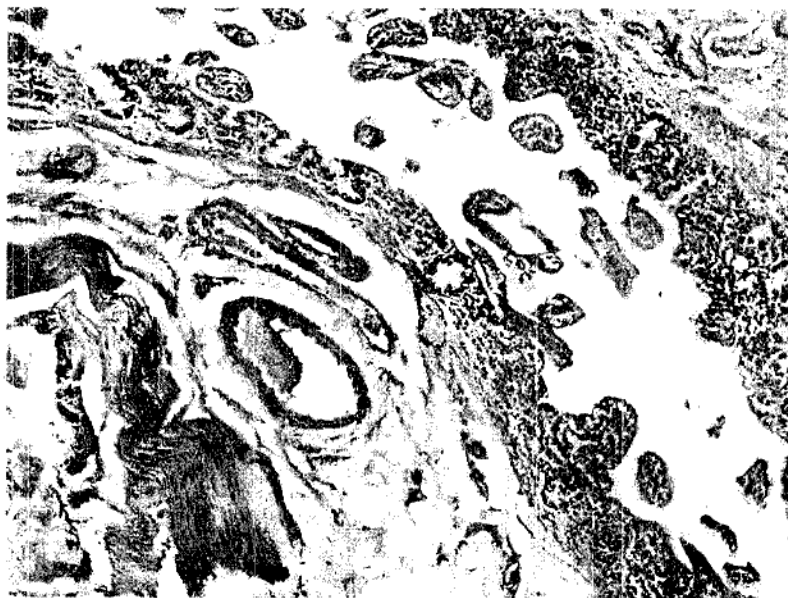


Рис. 1. Стенка тонкого кишечника через 7 дней после воздействия ионизирующего излучения (некроз поверхностного эпителия, отек интерстиция, полнокровие сосудов). Ув. 100.

При гистологическом исследовании стенки тонкого кишечника в слизистой отмечались признаки острого катарального энтерита, проявляющиеся десквамацией ЭК на большом протяжении исследуемых препаратов, некрозом ворсин, выраженным нарушением кровообращения в виде наличия стаза и множественных периваскулярных кровоизлияний, лейкоцитарной и лимфогистиоцитарной инфильтрацией в подслизистом слое, что является проявлением эндотоксической реакции (рис. 2).

На 30 сутки уровень токсических продуктов в супернатанте гомогената тканей слизистой тонкого кишечника оставался на достаточно высоком уровне и был на 171,1% выше показателей, зарегистрированных в контрольной группе ($p < 0,05$). Но при морфологическом исследовании четко обнаруживались признаки компенсаторно-приспособительных процессов, проявляющиеся на некоторых участках регенерацией эпителия ворсин и эпителизацией эрозий. При этом набухшие и деформированные ворсины имели различную форму, а эпителиальные клетки не достигли своей дифференцировки. Гиперемия сосудов и отек интерстиция постепенно уменьшались.

Следует отметить, что на 30-е сутки воспалительный инфильтрат был представлен в основном лимфоцитами и гистиоцитами, появлялись единичные плазматические клетки и фибробласты, что говорит о хронизации воспалительного процесса и начальных проявления склеротических изменений (рис. 3).

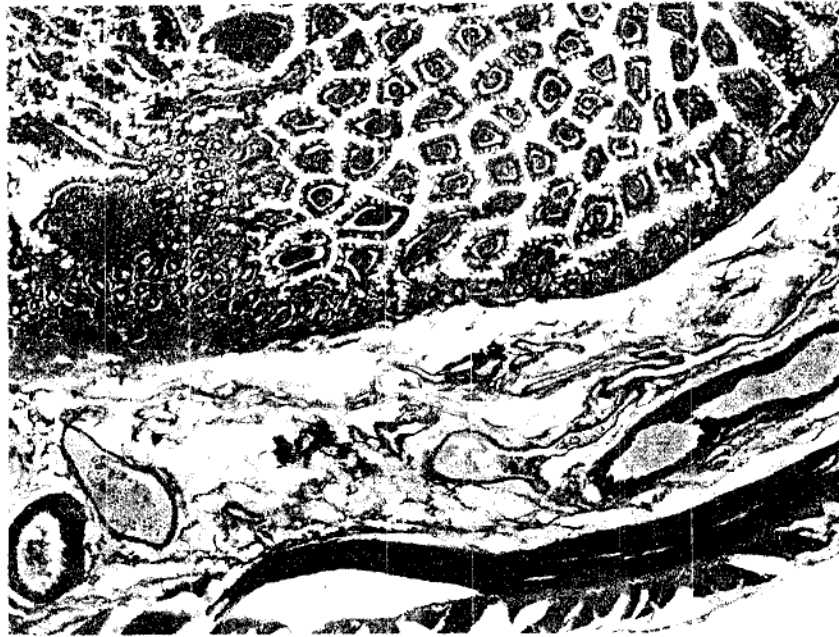


Рис. 2. Стенка тонкого кишечника через 14 дней после действия тотального гамма-облучения (лейко-лимфоцитарная инфильтрация слизистой, отек интерстиция). Ув. 40.

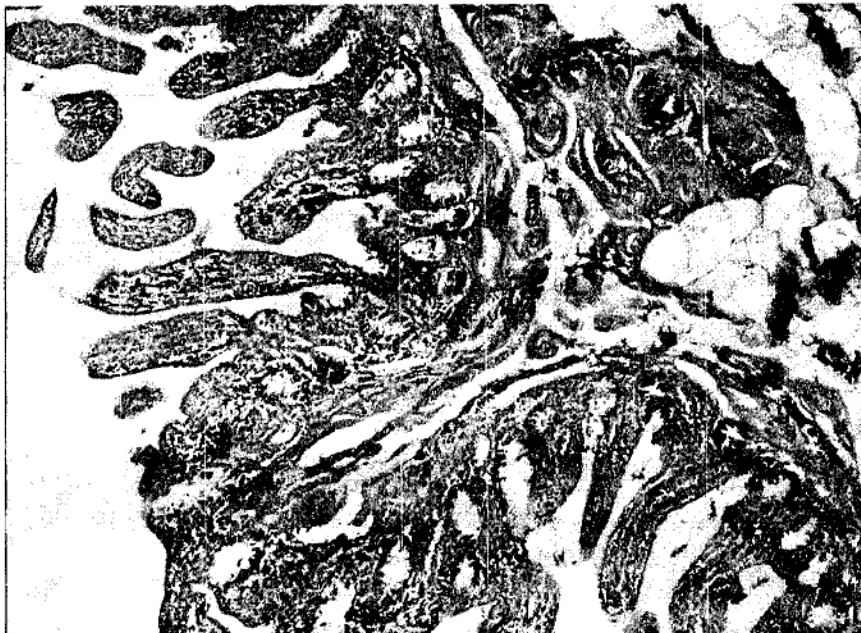


Рис. 3. Стенка тонкого кишечника через 30 дней после действия ионизирующего излучения (регенерация слизистой с деформацией ворсин). Ув. 100.

ВЫВОДЫ

1. Проведенные нами исследования показали, что ИР оказывает повреждающее действие на достаточно васкуляризованную ткань тонкого кишечника, и вызывает развитие эндотоксических реакций.

2. Полученные данные свидетельствуют о четкой взаимосвязи функционально-морфологических изменений и биохимическими показателями. Уже на 1 сутки после воздействия ИР наряду с дисбалансом протеазо-ингибиторной системы в тканях тонкого кишечника отмечалась сосудистая реакция, которая в дальнейшем нарастала на 3 - 14 сутки. Это было выражено как изменением биохимических показателей, так и экссудативно-некротическими повреждениями в стенке тонкого кишечника, проявляющихся острым катаральным энтеритом, а в некоторых случаях и язвенным энтеритом.

3. Установлено, что на 30-е сутки после облучения в тканях лабораторных животных происходило снижение концентрации СМО₂, возможно, за счет включения компенсаторно-приспособительных механизмов. Однако, сохраняющийся эндотоксикоз, является подтверждением развивающихся дальнейших деструктивных процессов, проявляющихся в хронизации воспалительного процесса.

Список литературы

1. Гистология, цитология и эмбриология. / Под ред. Афанасьева Ю.И., Юриной Л.А. – М.: Медицина, 2002. – 743 с.
2. Крстич Радивой В. Иллюстрированная энциклопедия по гистологии. – СПб.: СОТИС, 2001. – 536 с.
3. Кожемякин Л.А., Краевой С.А. Молекулярные механизмы действия ионизирующей радиации // Военно-медицинский журнал. – 1993. – № 4. – С. 33-37.
4. Мороз В.А. Діагностика та лікування місцевих променевиx ушкоджень після променевої терапії та радіаційних аварій: Автореф. дис...д-ра мед.наук: 14.01.23 / Інститут онкології АМН України. – К., 2001. – 26 с.
5. Gunderson L., Martenson J. Gastrointestinal tract radiation tolerance // Radiat. Tolerance Norm. Tissues: 23 rd Annu. San-Francisco Cancer Sump. – Basel etc. – 1989. – P. 274-298.
6. Петришин Ю.С., Мельник О.І., Терлецькі О.І. Зміни в системі пероксидне окислення ліпідів – антиоксидантна активність при дії малих доз іонізуючого випромінювання як прояв компенсаторних можливостей різних секреторних органів шлунково-кишкового тракту // Буковинський медичний вісник. – 2003. – Т.7, № 1-2. – С. 124-126.
7. Чорна В.І. Цистеїнові катепсина в умовах променевого ураження та злоякісного росту: Автореф. дис...д-ра біол.наук: 03.00.01 / Київський національний університет ім. Т.Г. Шевченка. – Дніпропетровськ, 2001. – 25 с.
8. Bock P., Tillmann B., Osterkamp U. Grid electron microscopy studies of isolated intestinal epithelium // Z. Microsk. Anat. Forsch. – 1980. – Vol.94, № 6. – P. 1077-89.
9. Кринская А.В., Пасхина Т.С. Количественное определение калликрейна и калликрейногена в сыворотке (плазме) крови человека // Современные методы биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 163-170.
10. Габриэлян Н.И., Липатова В.И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей // Лабораторное дело. – 1984. – № 3. – С.138-140.
11. Карякина Е.В., Белова С.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 3. – С. 3-8.

Поступила в редакцию 04.04. 2006 г.

УДК 612.769:796.015.572

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИЙ КАРДИО-РЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ ПЛОВЦОВ В ПРОЦЕССЕ АДАПТАЦИИ К СПЕЦИФИЧЕСКИМ ФИЗИЧЕСКИМ НАГРУЗКАМ

Погодина С.В.

Изучение адаптивных возможностей организма спортсменов с целью дальнейшего повышения спортивного мастерства, расширения функциональных резервов и сохранения здоровья является актуальной проблемой многолетней спортивной тренировки [1]. Особенно важным в современных условиях следует считать исследование возрастных особенностей адаптивных реакций организма к тренировочным нагрузкам, которые детерминированы уровнем энергетического обмена [2 – 4]. Известно, что в результате долговременной адаптации формируется функциональная система оптимального энергообеспечения организма, специфической особенностью которой является функциональная сопряженность и коррелированность различных составляющих, возрастные особенности и физиологическое значение которых полностью не выяснено [5]. До сих пор недостаточно также изучены многие аспекты возрастной динамики вентиляторной и газообменной функции легких юных спортсменов в процессе адаптации к физическим нагрузкам, в особенности в видах спорта, в которых кроме физической нагрузки присутствует дополнительный внешний фактор [6]. Такой спецификой обладает спортивное плавание. Поэтому целью исследования стало изучение возрастных закономерностей формирования энергетического потенциала и особенностей реакций кардио-респираторной системы юных пловцов в процессе адаптации к специфическим физическим нагрузкам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование осуществлялись в 2 этапа. На первом этапе были проведены исследования физического развития спортсменов с помощью антропометрии, спирометрии, динамометрии. Исследование физической работоспособности проводили с помощью велоэргометрического теста с последующим расчетом максимальной скорости потребления кислорода. В исследованиях приняли участие 603 пловца мужского пола в возрасте от 9 до 18 лет. На этом же этапе проводили гематологические исследования, включавшие в себя определение лейкоцитарной формулы, концентрации гемоглобина, величины гематокрита, скорости оседания эритроцитов (обследовано 75 пловцов мужского пола в возрасте от 9 до 16 лет) и биохимические исследования для определения концентрации молочной кислоты в

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИЙ КАРДИО-РЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ

периферической крови пловцов, и скорости образования порога анаэробного обмена (обследовано 75 пловцов мужского пола в возрасте от 14 до 18 лет). На втором этапе проводили исследования систем кровообращения и дыхания. Исследование системы кровообращения спортсменов проводили реографическим методом. Для этого использовали реоанализатор РА 5-01. Исследование функций системы внешнего дыхания проводили спиропневмотахометрическим методом с помощью прибора Спиро-тест-РС. Газообменную функцию изучали с помощью газоанализаторов типа ПГА-КМ, ПГА-ДУМ. Для нивелирования влияния на показатели функционального состояния легких ряда величин и внутренних факторов все объемные показатели приводили к условиям ВTPS, а показатели газов к условиям STPD (т.е. учитывалась температура воздуха, окружающее атмосферное давление, насыщение водяными парами). Исследования проводили как в состоянии покоя, так и при выполнении ступенчато-повышающейся нагрузки на велоэргометре. В исследованиях приняли участие 75 спортсменов в возрасте от 9 до 16 лет. Полученные данные обрабатывали статистически.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты исследований юных пловцов в возрасте от 9 до 18 лет, большинство частных и интегральных морфофункциональных показателей изменялись по мере их взросления, оказывая при этом существенное влияние на формирование аэробного потенциала организма спортсменов. Так, выявлено, что наиболее выраженные скачки ростовых процессов наблюдались в возрасте 12-13 и 14-16 лет, которые совпали с изменениями в функциональном состоянии мышечной ткани. Показано, что по мере взросления спортсменов расширение аэробных возможностей сопровождалось уменьшением влияния антропометрических параметров и усилением влияния функциональных показателей. Так, в 9-10 лет выявлены существенные корреляционные взаимосвязи максимального потребления кислорода (МПК) с показателями массы тела ($r=0,66$), окружностью грудной клетки на вдохе и на выдохе ($r=0,88$; $r=0,76$), жизненного индекса ($r=0,49$), жизненной емкостью легких ($r=0,47$). В 11-13 лет в большей степени на аэробные возможности влияли тотальные размеры тела, а в возрасте 14-16 лет - резервы системы внешнего дыхания, ($r=0,88$), силовые возможности мышечной ткани ($r=0,48$).

Изучение энергообеспечения нагрузок при плавании проводилось нами по показателями концентрации молочной кислоты в крови при проплывании спортсменами трех дистанций различной интенсивности. Результаты исследований показали, что увеличение концентрации молочной кислоты при предельной мощности до $8,42 \pm 0,157$ ммоль/л ($p < 0,01$) у спортсменов 14 лет, в сравнении со старшими спортсменами, свидетельствовало об усилении анаэробного звена энергообмена в обеспечении мышечной деятельности. Наиболее низкие темпы продукции молочной кислоты (La) при предельной мощности плавательных нагрузок зарегистрированы у 18-летних пловцов. Максимальная концентрация La у них не превышала величины $6,189 \pm 0,138$ ммоль/л, ($p < 0,01$), что свидетельствовало об усилении аэробного звена энергообеспечения. Повышение спортивного мастерства юных спортсменов сопровождалось увеличением скорости плавания в

условиях аэробного энергообеспечения. Так, в возрасте 14 лет порог анаэробного обмена (ПАНО) равнялся 1,4 м/с, тогда как у 18-летних пловцов он возрос до 1,6 м/с, ($p < 0,01$). Основной причиной увеличения скорости образования ПАНО и усиления продукции La явился значительный ацидотический сдвиг, который произошел в результате применения высокого циклового темпа при плавании, что потребовало вовлечения большого количества мышечной массы.

Оценка эффективности адаптации к физическим нагрузкам, которую проводили по соотношению лейкоцитов в лейкограмме, показала, что для детей в возрасте 9-10 лет характерным явилась эозинофилия на фоне реакции спокойной активации, что указывает на наличие элементов напряженности в регуляции механизмов адаптации [7]. В более старших возрастных группах характерным было формирование гармоничной реакции повышенной активации, что свидетельствует о переходе организма на более эффективный уровень функционирования. Выявлено, что высокий уровень адаптивных возможностей определялся усилением корреляционной зависимости между уровнем МПК и концентрацией гемоглобина, эозинофилами и нейтрофилами.

При исследовании приспособительных реакций системы кровообращения нами показано, что с возрастом в состоянии покоя происходило снижение частоты сердечных сокращений (ЧСС), а величины ударного объема сердца (УО) и минутного объема кровотока (МОК) наоборот увеличивались. У детей 9-10 лет увеличение МОК обеспечивалось реципрокными взаимодействиями между ЧСС и УО, который снизился на 10 мл в сравнении с уровнем покоя. Очевидно, основной причиной данного феномена нужно считать несовершенство механизмов миогенной ауторегуляции сердечной деятельности, а достигнутый уровень тахикардии в этом случае был причиной укорочения времени диастолического наполнения желудочков [3]. У детей 11-13 лет повышение объемной скорости кровотока обеспечивалось за счет частотных характеристик сердечной деятельности, УО практически не изменился. Отмеченная дисгармония очевидно связана с временной задержкой развития, когда структура миокарда может сохранять свойства, присущие ей в предшествующем возрасте. Кроме того, интенсивный рост мышечной ткани, присущий началу пубертатного периода, не сопровождался адекватным увеличением полостей сердца. У спортсменов 14-16 лет увеличение УО при субмаксимальных нагрузках осуществлялось за счет использования базального резервного объема. Возрастные этапы онтогенетического развития сопровождалась формированием различных типов кровообращения. Для детей 9-10 лет характерным явился резистивный тип, с наименьшими приспособительными возможностями. По мере взросления спортсменов и совершенствования механизмов адаптации, система кровообращения принимала черты присущие емкостному типу. С возрастом увеличение массы сердечной мышцы и повышение функциональных возможностей системы кровообращения сопровождалось увеличением, с одной стороны, работоспособности левого желудочка, а с другой - повышением экономичности миокарда. Усиление нагнетательной способности сердца обеспечивалось у спортсменов 14-16 лет увеличением работоспособности левого желудочка более чем в 3 раза. В возрасте 11-13 лет этот прирост составлял 33,4 %, а у детей 9-10 лет лишь 18,5 %.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИЙ КАРДИО-РЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ

В процессе роста и развития организма формируется тип взаимодействия кардио-гемодинамических параметров, направленный на обеспечение максимального приспособительного эффекта. Количество достоверных внутрисистемных взаимодействий может характеризовать активность системы в регуляции уровня кровотока. Так, у детей 9-10 лет в состоянии покоя выявлено 20 внутрисистемных корреляционных взаимосвязей. Очевидно, вследствие недостаточной сократительной способности миокарда включение большего числа внутрисистемных взаимодействий повлекло за собой снижение экономичности функционирования всей системы. У спортсменов 11-13 лет число взаимосвязей уменьшилось до 14, что можно связать с разбалансировкой системы, которая происходит в разных фазах пубертатного периода. У спортсменов 14-16 лет повышение числа связей до 18 может быть связано с формированием оптимальной координированности системы кровообращения после пубертатного скачка. При субмаксимальной нагрузке уменьшение числа взаимосвязей до 11 у детей 9-10 лет может свидетельствовать о напряжении в работе системы. В дальнейшем с возрастом повышение числа достоверных корреляционных взаимосвязей, обусловлено ростом степеней свободы, которые регулируют формирование оптимального варианта включения системы в обеспечение уровня МОК в условиях мышечной деятельности [5].

Исследование функций системы внешнего дыхания показало, что физическая нагрузка оказывала воздействие на мобилизацию дыхательной функции легких у всех спортсменов. Так, у детей 9-13 лет прирост вентиляции в большей мере осуществлялся за счет частоты дыхательных движений. Увеличение дыхательного объема происходило за счет резервного объема вдоха при почти полной мобилизации функциональных резервов респираторной системы. Такая неэффективная вентиляторная реакция способствовала снижению жизненной емкости легких вследствие уменьшения резервного объема выдоха. То есть приспособительные реакции организма юных пловцов к физическим нагрузкам протекали по респираторному типу. У спортсменов старшей группы отмечалось значительное увеличение объемных характеристик в формировании минутного объема дыхания. При увеличении дыхательного объема более чем на 1500 мл, частота дыхания возросла всего на 8 циклов. Сформировавшийся паттерн дыхания явился предпочтительным с точки зрения повышения эффективности вентиляции. Однако, обеспечить продолжительно в условиях физических нагрузок режим дыхания с показателями дыхательного объема в пределах 57% от жизненной емкости легких довольно сложно, поскольку это влечет за собой развитие утомления респираторных и вспомогательных мышц. Это и явилось причиной снижения жизненной емкости легких у пловцов приблизительно на 500 мл на последней ступени нагрузки. С повышением объема воздушного потока, проходящего через легкие, увеличивалась бронхиальная проходимость. Интенсивность воздушного потока определялась объемом легких спортсменов и силой дыхательной мускулатуры. Значительными возможностями для реализации метаболического запроса организма обладали спортсмены 14-16 лет. Пиковая объемная скорость (ПОС), характеризующая максимальную интенсивность

воздушного потока во время форсированного выдоха, у них была значительно выше, чем у более молодых спортсменов и возрастала по мере выполнения нагрузок, вплоть до максимальной (рис.1). Та же тенденция проявлялась и на всех уровнях бронхиального дерева. Наибольшие величины объемной скорости воздушного потока в бронхах большого, среднего и малого диаметра были зафиксированы в спортсменов 14-16 лет. У детей 9-13 лет наблюдалась относительная стабилизация объемной скорости выдоха в больших, средних и малых бронхах на последней степени нагрузки. Очевидно, увеличение частоты дыхания способствовало снижению радиально-направленного давления, сдерживающего спадание бронхов, следствием чего может быть уменьшение бронхиальной проходимости при форсированном дыхании. Повышение мощности системы внешнего дыхания в процессе онтогенетического развития и под влиянием плавательных нагрузок сопровождалось ростом ее эффективности.

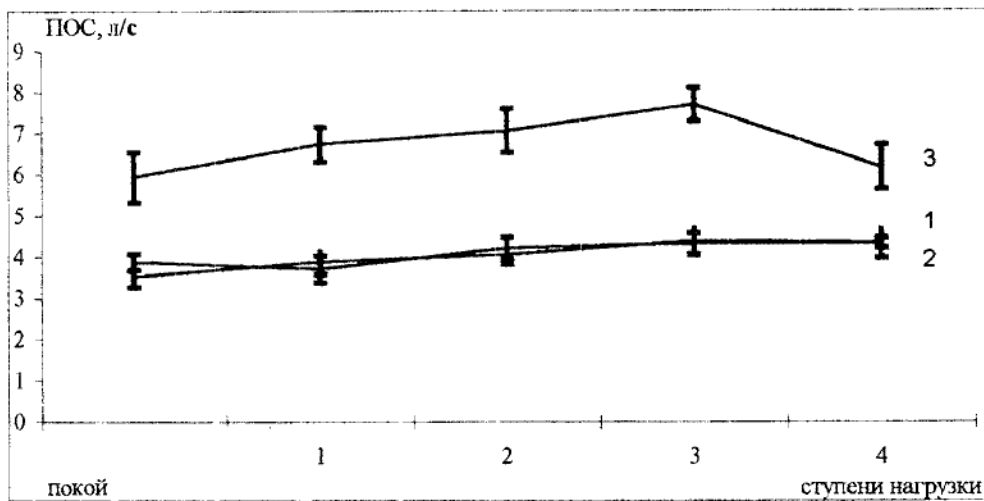


Рис. 1. Возрастная динамика максимальной объемной скорости потока воздуха при форсированном выдохе в состоянии покоя и при физических нагрузках различной мощности.

Примечание: 1- 9—10 лет; 2- 11—13 лет; 3- 14—16 лет.

Кислородный эффект дыхательного цикла у спортсменов старшей группы при мощности нагрузки в 150 Вт равнялся $122,6 \pm 5,1$ мл/мин./цикл., ($p < 0,01$), и значительно превышал этот показатель у других спортсменов. Эффективность приспособительных реакций организма спортсменов определялась нами по энергетической стоимости, которая приходилась на единицу мощности выполняемой работы. Наибольшие относительные энергетические траты были зафиксированы у пловцов 9-10 лет, при нагрузке в 50 Вт скорость потребления кислорода на один ватт мощности составила у них $45,6 \pm 2,7$ мл/мин. В дальнейшем, по мере взросления спортсменов и расширения функциональных резервов организма, отмечалось снижение энергозатрат.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИЙ КАРДИО-РЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ

Для определения степени участия компонентов системы внешнего дыхания в обеспечении максимального приспособительного эффекта нами был проведен корреляционный анализ основных показателей механики дыхания и газообменной функции легких с интегральным энергетическим параметром МПК. Результаты корреляционного анализа представлены на рисунке 2.

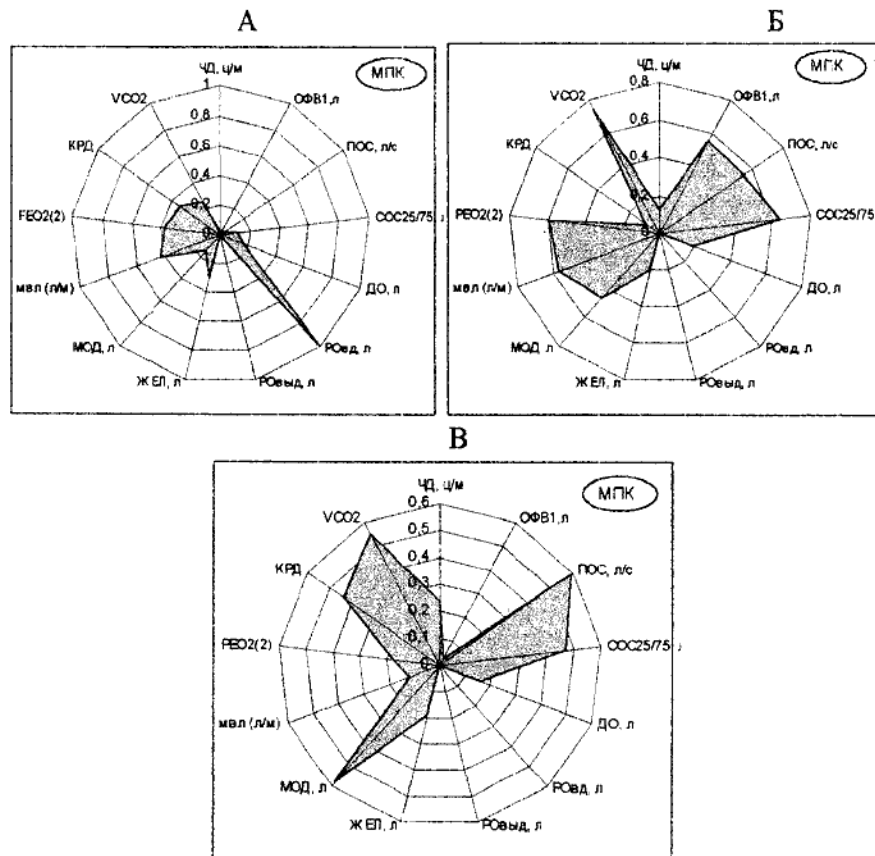


Рис. 2. Корреляционные взаимосвязи между уровнем МПК при выполнении субмаксимальной физической нагрузки и показателями системы внешнего дыхания у пловцов различного возраста.

Примечание: А – 9-10 лет, Б – 11-13 лет, В – 14-16 лет, ЧД- частота дыхания; ОФВ₁- объем форсированного выдоха в 1 секунду; ПОС – пиковая объемная скорость форсированного выдоха; ЖЕЛ – жизненная емкость легких; ДО – дыхательный объем; СОС 25/75 - средняя объемная скорость на уровне 25-75 % ЖЕЛ; РОвд – резервный объем вдоха; РОвыд – резервный объем выдоха; МОД – минутный объем дыхания; МВЛ – максимальная легочная вентиляция; Р_ЕО₂ – напряжение кислорода в выдыхаемом воздухе; VCO₂ – скорость выделения двуокиси углерода; КРД – коэффициент резервных возможностей системы внешнего дыхания.

Исходя из принципа мозаичности, структурные компоненты системы при предъявлении к ним функциональных требований распределяют эту нагрузку

между собой, выбирая такое количество и качество структурных компонентов, которое будет адекватно конкретным требованиям. В зависимости от возраста спортсменов происходили изменения корреляционного паттерна, что показано на плоскости диаграмм А, Б и В. Резкое снижение количества корреляционных связей у пловцов 9-10 лет свидетельствовало о значительном напряжении системы в обеспечении кислородного режима организма. Возрастное увеличение их числа можно связать с расширением степеней свободы с целью реализации приспособительного эффекта.

ВЫВОДЫ

1. Исследования, проведенные на первом этапе показали, что по мере взросления спортсменов расширение аэробных возможностей сопровождалось уменьшением влияния антропометрических параметров и усилением влияния функциональных показателей. Метаболические реакции на нагрузки различной мощности сопровождались расширением аэробного звена в энергообеспечении мышечной деятельности. На гомеостатическом уровне для пловцов младшей возрастной группы, характерным явилось формирование атипичных адаптационных реакций, тогда как для старших спортсменов – формирование гармоничных адаптационных реакций.

2. Результаты второго этапа исследований показали, что приспособительные реакции кардио-респираторной системы пловцов 9-13 лет к физическим нагрузкам были малоэффективными, тогда как для старших спортсменов явилось характерным повышение мощности и экономичности кардио-респираторной системы при выполнении этих нагрузок. Достижение оптимального приспособительного эффекта на разных этапах онтогенеза происходило за счет формирования определенных типов взаимосвязей между компонентами кардио-респираторной системы, а также за счет различной степени вовлечения этих компонентов в обеспечение максимального приспособительного результата. Полученные данные позволяют использовать выявленные закономерности как физиологическое обоснование нормирования физических нагрузок в многолетнем тренировочном процессе юных пловцов.

Список литературы

1. Платонов В.Н. Система подготовки спортсменов в олимпийском спорте. Общая теория и ее практические приложения. – К.: Олимпийская литература, 2004. – 808 с.
2. Апанасенко Г. Л. Физическое развитие детей и подростков. – К.: Здоров'я, 1985. – 80 с.
3. Возрастная физиология: (Физиология развития ребенка): Учеб. Пособие для студ. высш. пед. учеб. заведений / М.М.Безруких, В.Д.Сонькин, Д.А.Фарбер. – М.: Академия, 2002. – 416 с.
4. Матицин О.В. Сенситивные периоды для интенсивного формирования специальной подготовленности юных спортсменов в процессе многолетней тренировки в настольном теннисе // Теория и практика физической культуры. – 2002. – №1. – С. 28-29.
5. Основы физиологии функциональных систем. / Под ред. К.В.Судакова. – М.: Медицина, 1983. – 272 с.
6. Савельев Б.Г., Ширяева И.С. Функциональные параметры системы дыхания у детей и подростков: Руководство для врачей. – М.: Медицина, 2001. – 232 с.
7. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С. Сигнальные показатели антистрессорных адаптационных реакций и стресса у детей // Педиатрия. – 1996. – №5. – С.107-109.

Поступила в редакцию 20.02.2006 г.

УДК 582.594.2:281

МОДЕЛИРОВАНИЕ СИМБИОЗА В КУЛЬТУРЕ СЕМЯН *CERHALANTHERA DAMASONIUM* (MILL.) DRUCE IN VITRO

Теплицкая Л.М.

Все представители семейства *Orchidaceae* Juss природной формы Крыма 47 видов являются редкими и исчезающими растениями, занесены в Красную книгу Украины [1]. В естественных биоценозах у орхидных наблюдается длительное воспроизводство до 8-12 лет, что связано с особенностями биологии, зависимостью от специфических опылителей и микоризных грибов [2, 3].

Важную роль в сохранении этих растений играет поиск методов ускоренного размножения, введение в культуру, репатриация в природные фитоценозы, а также создание генетических банков и коллекций для сохранения генофонда.

Биотехнологические методы позволяют решать проблемы ускоренного и массового размножения орхидей. В настоящее время работы ведутся в двух направлениях: проращивание семян и микроклональное размножение.

Метод асимбиотического семенного размножения *in vitro*, предложенный Кнудсоном [4, 5] получил широкое распространение для тропических видов орхидных, а для видов умеренной зоны этот метод пока не приносит желаемых результатов, в связи с недостаточностью знаний о взаимосвязи растений со специфическими почвенными грибами.

Поскольку грибы, выделяемые из микоризы в искусственных условиях находятся, как правило, в вегетативном состоянии и лишь в исключительных случаях удается вызвать их спороношение, проблемой для исследователей является сложность их таксономической идентификации. Большинство выделенных грибов определены только до родовых названий. Микосимбионты орхидей, по данным Burgeff [6], относятся к базидиомицетам или несовершенным грибам из рода *Rhizoctonia*.

Обсуждается вопрос о взаимодействии неспецифической почвенной микрофлоры на прорастание семян орхидных в природе [7]. Бургефф [6, 8] разработал метод проращивания семян орхидных на искусственных питательных средах в присутствии симбиотических грибов. Однако, этот метод не получил широкого применения на практике из-за трудностей выделения и культивирования гриба.

Несмотря на длительную историю изучения микоризы орхидных в настоящее время остается ряд аспектов, по которым у исследователей не сформировалось единого мнения. Спорными остаются вопросы о видовой специфичности грибов, участвующих в симбиозе, влиянии условий среды и механизмы формирования

симбиотических ассоциаций, влиянии микотрофности растений на процессы онтогенеза и репродукции [7, 10 – 11].

Таким образом, необходимо отметить, что глубокое и разностороннее изучение сложных и до конца не выясненных взаимоотношений орхидных с микоризными грибами является не только важным аспектом в исследовании особенностей биологии орхидей, звеном в установлении путей эволюционного развития семейства, а так же окажет существенную помощь в разработке биотехнологических методов размножения орхидных в связи с задачами их охраны.

Целью работы было моделирование процесса симбиоза в культуре семян орхидных *in vitro*.

В задачи исследований входило решение следующих вопросов:

1. Получение чистой культуры симбиотического гриба.
2. Инокуляция семян грибом.
3. Индукция процесса прорастания семян *in vitro* в симбиотической культуре.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве материала исследования использовали растения *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce. Семена отбирались из незрелых плодов через 30-35 дней после опыления их культивировали на питательной среде Кнудсона с добавлением пептона и активированного угля [4]. Кусочки корней этого вида помещали в чашки Петри с питательными средами Чапека-Докса и Боаса [12]. Стерелентами в работе были спирт (70%) и $AgNO_3$ (0,8%). Культуры выращивали в условиях термостата. Семена культивировали при t 20-25°C, а гриб при t 30°C. Микроскопические исследования проводили с помощью микроскопа Биолам 70, при увеличении $\times 10$, $\times 40$, $\times 90$. фотографирование препаратов проводилось при помощи фотонасадки МФН-12 фотоаппаратом "Зенит-Е" на фотопленку Konica-200, Konica-400.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований была получена чистая культура симбиотического гриба. Наиболее эффективным при получении эндосимбионта был метод множественных пассажей, суть которого заключается в получении смешанной культуры нескольких почвенных грибов, в том числе и эндофитного микоризного гриба полученных при посадке эксплантов корня и последующем их разделении. Участки корня высаживались в чашки Петри и культивировались в условиях термостата в темноте, при t 22-23°C. Через 5-7 дней вокруг эксплантов корней образовались колонии грибов белого цвета (рис. 1).

Через каждые 7-14 дней колонии перепассировались. Таким образом, в результате множественных пассажей была получена чистая культура гриба. Рост колонии происходит равномерно радиально во всех направлениях. При культивировании гриба на питательных средах разного состава была выявлена разная скорость роста колонии. Так, при культивировании на средах Чапека-Докса и

Боаса были выявлены следующие закономерности. На среде Чапека-Докса колония гриба увеличивается интенсивнее, чем на среде Боаса.

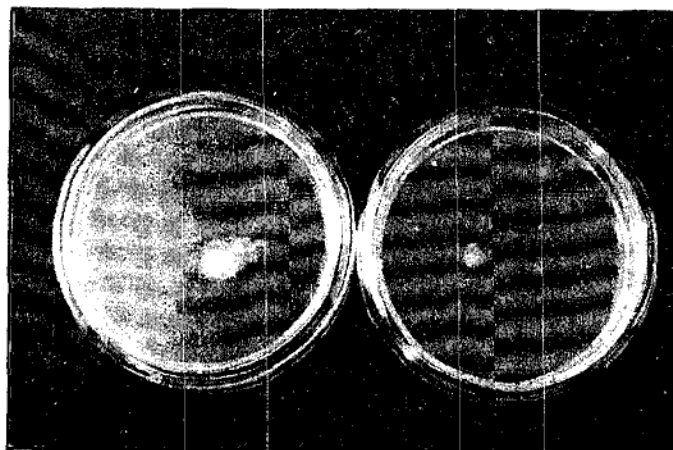


Рис. 1. Первичная культура симбиотического гриба.

К 8 дню культивирования диаметр колонии на среде Чапека-Докса составил 4,5 см, а на среде Боаса только 2,5 см (рис. 2). В генеративную стадию мицелий гриба вступает только к 12 дню культивирования. На среде Боаса спороношение наступает раньше (9-10 день культивирования). Это указывает на приспособление гриба к составу питательной среды Боаса. На основании этих данных логично сделать косвенные выводы о потребностях гриба в конкретных компонентах питательной среды и предположить, что получает гриб от подобных взаимоотношений с растением-хозяином.



Рис. 2. Интенсивность роста колонии эндомикоризного гриба вида *Cephalanthera damasonium*.

При изучении физиологического состояния колонии нами были выделены три стадии развития мицелия. Первая стадия – это молодой активно растущий мицелий, имеющий максимальную для заданных условий культивирования скорость роста. На рисунке (рис. 2) видно, что активный рост мицелия наблюдается до 8-9 дня культивирования и колония на среде Чапека-Докса достигает 4-4,5 см в диаметре. Второй этап развития мицелия, его физиологическое состояние, назван стадией "зрелого мицелия". Этот этап наступает после снижения скорости роста культуры. На рисунке видно, что это 8-10-12 дни культивирования, когда увеличение колонии происходит незначительно. Кривые на графике выходят на плато. У гриба этот период характеризуется началом спороношения – "стареющий мицелий", при этом наблюдается изменение цвета колонии, её деградация.

Микроскопические исследования показали, что гифы гриба септированы (рис. 3).

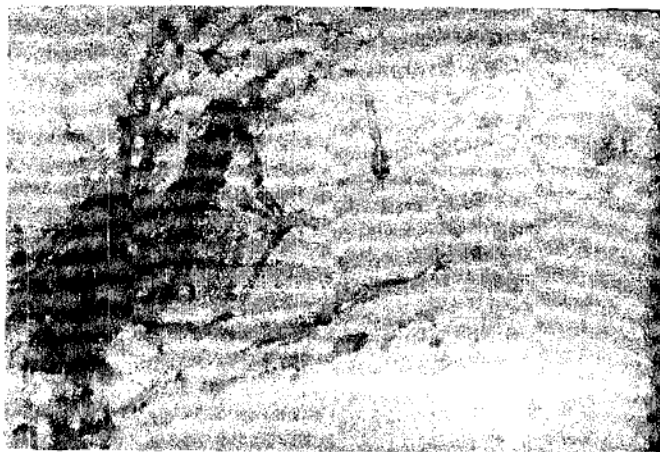


Рис. 3. Монокультура симбиотического гриба.

При изучении гиф мицелия в монокультуре и гиф в клетках корня растения-хозяина в качестве сравнительного морфологического показателя была взята ширина гиф. При измерении гиф гриба в монокультуре, также изучалась частота встречаемости гиф той или иной ширины на колонию в процентах, а в растении частота встречаемости гиф определенной ширины на группу клеток. Полученные данные сведены в таблицу (табл. 1).

Полученные данные могут служить косвенным критерием оценки при определении этапа развития гриба, его возраста. Ширина гиф изолированного гриба варьирует от $7,2 \pm 0,1$ мкм до $12,1 \pm 0,3$ мкм, наиболее часто встречаются гифы шириной $9,2 \pm 0,3$ (50%) и $11,6 \pm 0,2$ (20%) на колонию. Ширина гиф в клетках корня растения варьирует от $0,8 \pm 0,2$ мкм до $14,0 \pm 0,1$ мкм. Наиболее часто встречаются гифы шириной $12,2 \pm 0,3$ мкм (59%) на группу клеток зоны всасывания корня и $13,4 \pm 0,6$ мкм (18%).

Таблица 1.
Сравнительные морфологические показатели мицелия гриба в монокультуре и тканях корня растения вида *C. damasonium*

Ширина гиф в монокультуре гриба, мкм	Частота встречаемости на колонию, %	Ширина гиф в клетках корня, мкм	Частота встречаемости на группу клеток в растении, %
7,2±0,1	4,0	8,1±0,2	2,0
8,0±0,2	17,0	11,3±0,2	15,0
9,2±0,3	50,0	12,2±0,5	59,0
11,6±0,2	20,0	13,4±0,6	18,0
12,1±0,3	9,0	14,0±0,1	6,0

Из данных видно, что в монокультуре изолированного гриба основную массу составляют гифы шириной 9,2±0,3 мкм, а в тканях корня растения *C. damasonium* 12,2±0,5 мкм. На основании данных можно предполагать, что в тканях растения по возрасту гриба продвинул в своем жизненном цикле в отличие от монокультуры, в которой, возможно, недостаточно благоприятные условия для его развития. Ширина гиф мицелия является косвенным показателем физиологического развития гриба, соответствующего среде обитания.

В процессе эволюции у орхидных выработалось приспособление, обеспечивающее образование большого числа семян и широкое их распространение. Малые размеры семян орхидей коррелятивно связаны с возможностью растений производить их в ограниченном количестве, что является важным приспособительным фактором для распространения семян. Наличие однослойной сетчатой семенной оболочки, воздушной полости зародыша с минимальным запасом питательных веществ, отсутствие эндосперма обеспечивает им легкость и летучесть. В период зрелости семени зародыш представляет собой многоклеточное глобулярное образование с выраженной гистологической дифференциацией, которая проявляется в образовании апикально-меристематической и базально-паренхимной зон, наличие эмбриодермы.

Семена вида *C. damasonium* культивировали на среде Кнудсона [4]. Семена отбирались на стадии 30-35 дней после опыления. Зародыши в семенах представляли глобулярное образование, состоящее из однородных, вакуолизированных клеток в базальной зоне и мелких клеток в апикальной зоне (рис. 4).

В апикальной части размер клеток составлял 16,9±1,9 мкм, в базальной 19,2±2,3 мкм. Эндодерма представлена клетками 20,5±1,5 мкм. Семенная оболочка представлена одним слоем крупных клеток 30,35-35,2 мкм. Величина самого зародыша 0,05-0,07 мм. Развитие семени *C. damasonium* в культуре *in vitro* сопровождается следующими преобразованиями.



Рис. 4. Семя *C. damasonium* и мицелий гриба в культуре *in vitro*.

Через 14 дней зародыши набухают, увеличиваются в размерах до 0,09-0,15 мм, приобретают молочно-белую окраску. В апикальной зоне зародыша начинаются активные клеточные деления. Образовавшиеся клетки мелкие 10,5-15,0 мкм, с насыщенной цитоплазмой, слабо вакуолизированные. Одновременно происходит увеличение размеров клеток базальной зоны за счет их роста растяжением. Клетки более крупные 30,4-38,5 мкм, сильно вакуолизированы. Через 23 недели культивирования семян мы наблюдаем разрушение клеточных оболочек и дегенерацию отдельных клеток эмбриодермы. Это связано с началом процесса дифференциации и первыми этапами формирования проростка. Крупные клетки базальной зоны в совокупности со значительно увеличившейся массой клеток апикальной зоны образуют специфическую для орхидных структуру – протокорм, постсеменная стадия прорастания семени (рис. 5).

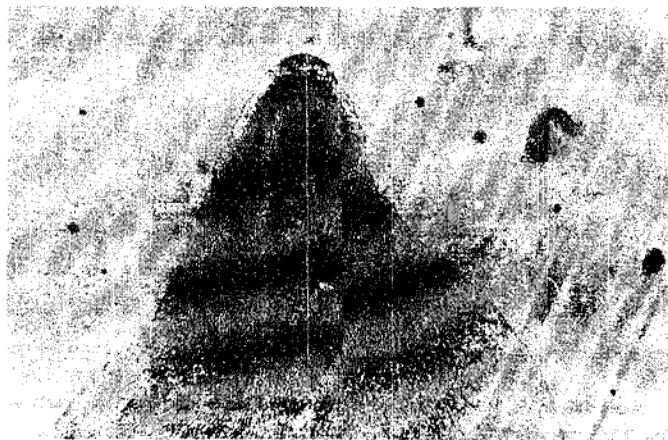


Рис. 5. Протокорм и начало формирования проростка.

МОДЕЛИРОВАНИЕ СИМБИОЗА В КУЛЬТУРЕ СЕМЯН

Через 2 недели культивирования семян в асептических условиях *in vitro* инокулировали монокультуру гриба и выдерживали семена до 6-12 недель. Частично наблюдалось проникновение гиф гриба внутрь семени в базальной зоне (рис. 6).



Рис. 6. Проникновение гиф гриба в зародыш семени *C. Damasonium*.

Проникновение гиф гриба активизировало прорастание семян. Пролиферация клеток зародыша и начало формирования протокормов наблюдалось через 8-12 недель. В то время как в контрольных образцах прорастание наблюдалось не ранее чем через 25-30 недель. В связи с полученными результатами по моделированию симбиоза эндофитных грибов и семян вида *C. damasonium* в экспериментальных условиях *in vitro* можно констатировать стимулирование процесса прорастания семян мицелием эндофитного гриба.

ВЫВОДЫ

1. Выделена чистая культура эндофитного микосимбионта вида *Cephalanthera damasonium*.
2. Даны основные биотехнологические характеристики монокультуры гриба: скорость роста, факторы культивирования, морфометрические параметры стадий развития гриба.
3. Монокультура использована для симбиотического культивирования семян *C. damasonium in vitro*.
4. Показана стимуляция процесса прорастания семян вида *C. damasonium* в условиях симбиотического культивирования *in vitro*.

Список литературы

1. Червона книга України. Рослинний світ / Под ред. Ю.Р. Шеляг-Сосонко. – К.: Українська енциклопедія, 1996. – 680 с.
2. Магрю Ж. Симбиоз у орхидних и картофеля. – М.: ИЛ., 1949. – 150 с.
3. Черевченко Т.М., Кушнир Г.П. Орхидеи в культуре. – К.: Наукова думка, 1986. – 200 с.

4. Knudson L. Flower production by orchid grown nonsymbiotically // Bot. Yar. – 1930. – Vol. 89. – P. 192-199.
5. Knudson L. A new nutrient solution for germination of orchids seeds // Am. Orchid. Soc. Bult. – 1946. – No. 4. – P. 214-217.
6. Бургеф Х. Микориза растений. – М.: Сельхозиз., 1963. – 370 с.
7. Kulikov P.V., Filipov E. The seed propagation in vitro of north temperate Orchids // Proc. 11 Int. Symp. "Embriol. and seed Reprod." Leningrad, July 3-7, 1970. – St. Peterburg, 1992. – С. 296-297.
8. Burgeff H. Mycorriza of orchids. // The orchids, a Scientific Survey / Ed. C. Withner. – N.Y.: Ronald Press, 1959. – P. 361-396.
9. Батыгина Т.Б., Васильева В.Е. Система воспроизведения орхидных. // Охрана и культивирование орхидей. – Таллинн, 1980. – С. 107-110.
10. Вахрамеева М.Г., Денисова Л.В., Никитина С.В. Орхидеи нашей страны. – М.: Наука, 1991. – 224 с.
11. Терехин Э.С. Паразиты цветковых растений. – М.: Наука, 1977. – 218 с.
12. Черепанова Т.Н. Морфология и размножение грибов. – Л., 1981. – 119 с.

Поступила в редакцию 13.02.2006 г.

УДК 582.675.1.086.83

КАЛЛУСНЫЕ КУЛЬТУРЫ ПЛЮЩА ОБЫКНОВЕННОГО (*Hedera HELIX L.*) КАК ИСТОЧНИК ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ

Фазылов А. Р., Бузара А. М., Юркова И. Н., Горденко С. Л.

Растения являются ценным источником вторичных метаболитов, которые привлекают большое внимание химиков, энзимологов, биотехнологов, фармакологов. Промышленность заинтересована в синтезе и производстве широкого круга экономически важных продуктов, таких как алколоиды, стиролы, гликозиды, красители, эфирные масла [1].

Представители рода плющ широко применяются в народной медицине как слабительное, глистогонное, противохордачное средства. Плющ в своем составе содержит различные группы веществ: тритерпеновые гликозиды - хедерасапонины С и В, альфа-хедерин, стигмастерол, ситостерин, альфа-спинастирол, скополин, хлорогеновую и кофейную кислоты, бета-элемен, эликсин, лалкаринол, лалкаринон, флавоноиды, фолькаринол, фолькаринон, 11-дигидрофолькаринол [2, 3]. Исследования биохимической активности тритерпеновых гликозидов плюща показали, что они обладают противогрибковыми и моллюскоцидными свойствами [4, 5]. Наряду с этим сапонины плюща проявляют выраженное антипротозойное действие [6]. Показано, что гликозиды плюща обладают цитотоксическим действием по отношению к культивируемым клеткам меланомы В-16 [7].

В настоящее время одним из перспективных сырьевых источников является культура клеток высших растений. Клеточные культуры сохраняют ряд свойств, характерных для исходного организма, и одним из таких свойств является способность к синтезу вторичных метаболитов [8]. Литературные данные о получении клеточных культур плюща, содержащих тритерпеновые гликозиды нам не известны.

Целью настоящей работы являлось изучение возможности получения каллусных культур плюща обыкновенного, содержащих тритерпеновые гликозиды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили каллусные культуры плюща обыкновенного *Hedera helix L.*, индуцированные из зародышей. При выполнении работы использовали методы, общепринятые в исследованиях по культуре изолированных тканей растений [9]. Для получения асептических культур плоды обрабатывали в течение 15 минут 50 %-ным раствором препарата «Брадофен», а затем трижды промывали автоклавированной дистиллированной водой. В стерильных условиях ламинарного бокса экспланты помещали на поверхность

различных вариантов агаризованной питательной среды Мурасиге-Скуга (МС), дополненной 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота) и БАП (6-бензиламинопурин).

В качестве культуральных сосудов использовали пробирки 2 x 20 см, содержащие 10 мл питательной среды. На каждый вариант питательной среды было высажено по 20 эксплантов в трёхкратной повторности. Культивирование проводили в темноте в условиях термостатированного помещения при температуре 22-24° С и относительной влажности воздуха 60-70 %.

Пассирование каллуса осуществляли каждые 45-50 дней, масса транспланта составляла около 100 мг. Прирост сырой биомассы определяли в % от объёма исходной биомассы в конце цикла выращивания.

Химический анализ содержания тритерпеновых гликозидов проводили на каллусных культурах третьего пассажа, индуцированных из зародышей семян. Культуры, находящиеся в стационарной фазе роста, высушивали при комнатной температуре, а затем измельчали в ступке с изопропанолом. Смесь нагревали на водяной бане до температуры кипения изопропанола. Для определения наличия тритерпеновых гликозидов на хроматографические пластинки «Sorbfil» наносили по 0,2 мл смеси в потоке тёплого воздуха. Разделение гликозидов на фракции проводили в системе растворителей хлороформ : метанол : 25% аммиак = 100 : 40 : 5. Пластины высушивали, проявляли в растворе фосфорновольфрамовой кислоты в 100% этаноле, а затем повторно высушивали при 100-105°С в течение 3-5 минут. В качестве контроля использовали водно-спиртовой экстракт из семян плюща крымского.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования показали, что прирост биомассы каллусных культур зависел от концентрации фитогормонов в питательной среде (табл.).

Таблица.

Влияние фитогормонов в питательной среде на прирост биомассы пассируемого каллуса плюща обыкновенного

Концентрации фитогормонов в питательной среде, мг/л		Прирост биомассы, %
БАП	2,4 -Д	
-	-	300±20
0,2	0,1	400±22
0,15	1,5	50±5
0,5	4,0	20±3

Результаты одномерного хроматографирования экстракта семян хорошо согласуются с литературными данными, анализ которых показывает, что в семенах

КАПЛУСНЫЕ КУЛЬТУРЫ ПЛЮЩА ОБЫКНОВЕННОГО (*HEDERA HELIX L.*)

плюща содержатся следующие тритерпеновые гликозиды: 3-о-β-Д-глюкопиранозил-(1→2)-о-β-Д-глюкопиранозид хедерагенина, 3-о-β-Д-глюкопиранозил-28-о-β-Д-глюкопиранозил-(1→6)-о-β-Д-глюкопиранозидовый эфир хедерагенина, 3-о-β-Д-глюкопиранозил-(1→2)-о-β-Д-глюкопиранозил-28-о-β-Д-глюкопиранозил-(1→6)-о-β-Д-глюкопиранозидовый эфир хедерагенина, 3-о-β-Д-глюкопиранозид хедерагенина.

Для выявления положения гликозидов на тонкослойной хроматографической пластине проводили сравнение определяемых подвижностей с подвижностями заведомо известных образцов гликозидов. Установлено, что тритерпеновые гликозиды из семян плюща располагались на тонкослойной хроматографической пластине в определенном порядке (рис.).

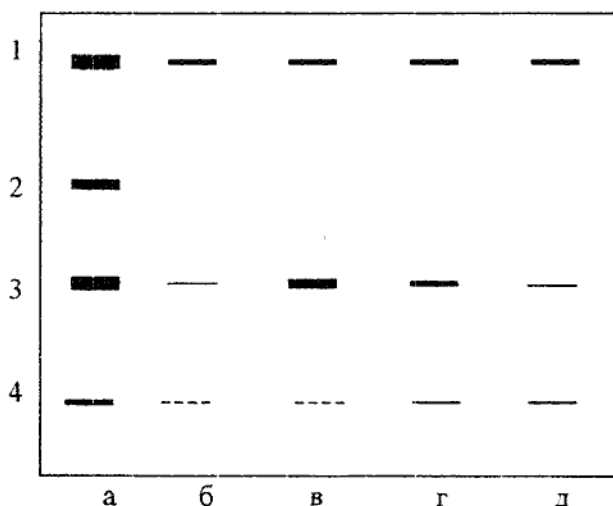


Рис. Тонкослойная хроматография гликозидов интактных семян (а) и каллусных культур *Hedera helix*, полученных на различных модификациях питательной среды МС (б-д): б - 4,0 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л БАП; в - 1,5 мг/л 2,4-Д и 0,15 мг/л БАП; г - 0,1 мг/л 2,4-Д и 0,2 мг/л БАП; д - безгормональная питательная среда. 1 - 3-о-β-Д-глюкопиранозид хедерагенина; 2 - 3-о-β-Д-глюкопиранозил-(1→2)-о-β-Д-глюкопиранозид хедерагенина; 3 - 3-о-β-Д-глюкопиранозил-28-о-β-Д-глюкопиранозил-(1→6)-о-β-Д-глюкопиранозидовый эфир хедерагенина; 4 - 3-о-β-Д-глюкопиранозил-(1→2)-о-β-Д-глюкопиранозил-28-о-β-Д-глюкопиранозил-(1→6)-о-β-Д-глюкопиранозидовый эфир хедерагенина.

Каллус, выращенный на безгормональной среде, содержал следовые концентрации гликозидов фракции 3 и 4. При увеличении концентрации фитогормонов в каллусных культурах наблюдалось увеличение содержания гликозида фракции 3, кроме питательной среды с максимальным содержанием гормонов. При концентрации фитогормонов 4 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л 6-БАП соотношение гликозидов фракции 1 и 3 становилось одинаковым и по концентрации приближалось к той, что наблюдалась в каллусных культурах, выращиваемых без фитогормонов. При увеличении концентрации фитогормонов в питательной среде концентрация гликозида фракции 4 уменьшалась.

Таким образом, полученные результаты подтверждают известные литературные данные о возможности получения каллусных культур, содержащих тритерпеновые гликозиды, характерные для интактных растений [10, 11]. Наши исследования показали, что в каллусных культурах плюща обыкновенного содержатся фракции гликозидов, характерных для интактных семян. Однако концентрация выявленных в каллусных культурах фракций гликозидов зависела от уровня экзогенных фитогормонов в питательной среде. Установленный факт позволяет сделать предположение, что направленность биосинтеза тритерпеновых гликозидов в сторону тех или иных фракций детерминирована составом питательной среды.

ВЫВОДЫ

1. Экспериментально показана возможность получения каллусных культур плюща обыкновенного, содержащих фракции тритерпеновых гликозидов.
2. Показана идентичность основных фракции тритерпеновых гликозидов интактных семян и каллусных культур.

Список литературы

1. Dicosmo F. Plant cell culture secondary metabolism. – CRC Press, 1996. – 232 p.
2. Wichtl M., Bisset N. G. Herbal Drugs and Phutopharmaceuticals. – Stuttgart.: Medpharm Scientific Publishers, 1994. – 522 p.
3. Bruneton J. Pharmacognocy, Phytochemistry. Medical plants. – Paris: Lavoisier Publishing, 1995. – 153 p.
4. Wren R. C. Potter's New Cyclopedia of Botanical Drugs and Preparations. – Essex: The C.W. Daniel Company Ltd, 1994. – 478 p.
5. Гришконец В. И. Тритерпеновые гликозиды аралиевых: выделение, установление строения, биологическая активность и хемотаксономическое значение: Автореф. дис... д-ра.х.н.: 02.00.10/ НАНУ Физико-химический ин-т им. О. В. Югатского. – Одесса, 2004 – 36 с.
6. Majoster- Savonin B. Saponins of the ivy plant, *Hedera helix*, and their leishmanicidic activity // *Planta med.* – 1992. – V.57, № 3. – P. 260-262.
7. Danloy S. Effects of alpha-hederin A saponin extracted from *Hedera helix*, on cells cultured in vitro // *Planta med.* – 1994. – V.60, № 1. – P. 45-49.
8. Филишова В.Н. Биосинтез эджистероидов в культурах клеток серпухи венценосной и живучки ползучей // *Вестник Ин-та биол.* – 2001. – № 9. – С. 8-11.
9. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Ф.Л. Калинин, В.В. Сарнацкая, В.Е. Полищук. – Киев: Наук. думка, 1980. – 488 с.
10. Kawamura M. Production of secondary metabolites by organ or cell culture // 15 th Int. Bot. Congr., Yokogama., Aug.28- Sept. 03. – 1993. – P. 194.
11. Shulman Alan H. Plant cell sell plants // *Trends Biotechnology.* – 1998. – №16. – С. 1-2.

Поступила в редакцию 04.04.2006 г.

УДК 591.1: 615.849.11

**МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОГО СТРЕССА
НА ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЯ СИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ
НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭМИ КВЧ**

Чуян Е.Н., Махонина М.М., Заячникова Т.В.

В последние десятилетия обнаружены многочисленные факты, свидетельствующие о высокой чувствительности биологических систем к низкоинтенсивным электромагнитным излучениям (ЭМИ) крайне высокой частоты (КВЧ), выявлена зависимость биологической эффективности ЭМИ КВЧ как от частоты и интенсивности воздействующего фактора, так и от исходного состояния организма [1 – 4]. В реальных условиях низкоинтенсивные ЭМИ КВЧ, как и другие факторы окружающей среды, действуют, не изолировано, а в комбинации с другими раздражителями, в том числе и с высокоинтенсивными. В наших предыдущих исследованиях превентивного и комбинированного со стресс-фактором действия ЭМИ КВЧ доказана способность этого физического фактора корректировать развитие стресс-реакции как «иммунной» (введение антигена), так и «не иммунной» (ограничение подвижности) природы [5]. Кроме того, показана возможность гипокинезии (ГК) модифицировать адаптационные реакции организма, развивающиеся при ее одновременном с ЭМИ КВЧ действии [6]. Однако модифицирующее влияние стресс-фактора на изменение адаптационных реакций организма, развивающихся при последовательном КВЧ-воздействии изучено не было.

Ранее нами было доказано, что в качестве критерия определения биологической эффективности низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ может использоваться показатель синтетической активности лимфоцитов периферической крови крыс [7].

В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение модифицирующего действия гипокинетического стресса на изменение показателя синтетической активности лимфоцитов крови крыс при последующем воздействии низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 60 беспородных белых крысах-самцах массой 120–150 г., полученных из опытно-экспериментального питомника Института гигиены и медицинской экологии, фирма «Феникс» (г. Кисв). Для эксперимента отбирали животных одинакового возраста, характеризующихся средним уровнем

двигательной активности и низкой эмоциональностью в тесте "открытого поля". Подобный отбор позволил сформировать однородные группы животных, однотипно реагирующих на действие различных факторов.

Наблюдения за животными проводились в течение 18 суток. Было сформировано 3 группы животных по 20 особей в каждой (рис. 1). Первая группа крыс служила контролем. Вторую группу (ГК-КВЧ) составляли крысы, подвергавшиеся предварительному девятисуточному воздействию ГК и последующему девятикратному действию ЭМИ КВЧ по 30 минут ежедневно на затылочно-воротниковую область. К третьей группе (КВЧ) относились животные, подвергавшиеся девятикратному воздействию ЭМИ КВЧ одновременно с крысами второй группы. Первые девять суток эксперимента они оставались интактными.

№ группы																				
3 КВЧ										КВЧ										
2 ГК- КВЧ	ГК									КВЧ										
1 К	Контроль																			
сутки	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
Забор крови																				

Рис. 1. Схема проведения экспериментальных исследований.

ГК моделировалась помещением крыс в специальные кассеты из оргстекла (140 × 60 × 60 мм для каждой крысы), в которых они находились в течение девяти суток по 20 часов (рис. 2). В течение четырех остальных часов проводили экспериментальные исследования, кормление и уход за животными. Известно, что ограничение подвижности крыс в клетках-пеналах вызывает стрессовую реакцию, интенсивность которой зависит от степени «жесткости» ГК [8]. Полученная экспериментальная модель позволила создать одинаковую степень «жесткости» ГК для всех животных, что является необходимым условием для получения сопоставимых результатов.

Воздействие ЭМИ КВЧ осуществлялось в течение девяти суток с помощью генератора "Луч. КВЧ-071" ($\lambda=7,1$ мм, плотность потока мощности 0,1 мВт/см²) на затылочно-воротниковую область по 30 мин ежедневно (рис. 2).

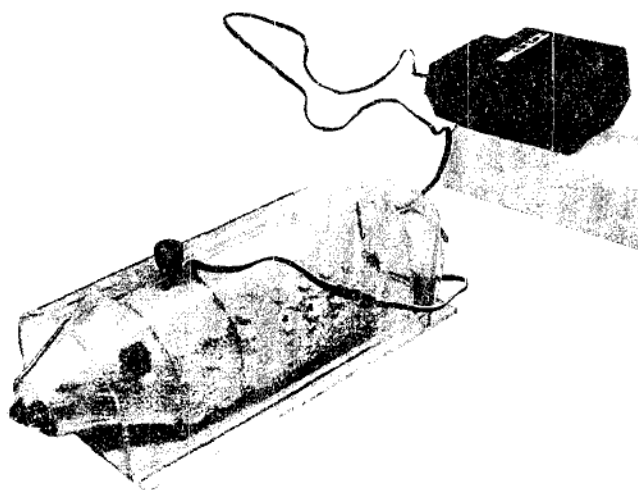


Рис. 2. Экспериментальное воздействие гипокинезии и ЭМИ КВЧ.

Кровь для исследования брали из хвостовой вены перед экспериментальными воздействиями, на 5-е, 9-е, 12-е, 15-е и 18-е сутки эксперимента (см. рис. 1).

Обработка мазков крови и окраска их акридиновым оранжевым (АО) проводилась в соответствии с методикой В.Н. Карнаухова и Н.А. Карнауховой [9, 10]. Окрашенные мазки исследовали методом микроспектрального флуоресцентного анализа с использованием люминесцентного микроскопа МЛ-4 с фотометрической насадкой ФМЭЛ-ИК. В данной работе исследованы лимфоциты без видимых повреждений в структуре (рис.3). Спектры люминесценции регистрировались с помощью микрофлуориметра на длинах волн 530 и 640 нм. Флуоресценция возбуждалась излучением ртутной дуговой лампы ДРШ 250-2 на длине волны 436 нм, выделяемой при помощи светофильтров. Размер фотометрируемого участка соответствовал размерам клетки (7-10 мкм).

Функциональное состояние синтетического аппарата клетки описывается безразмерным параметром α , представляющим собой отношение флуоресценции в красной (I_{640}) и зеленой (I_{530}) областях спектра лимфоцитов, окрашенных АО. Флуоресценция в красной области спектра обусловлена димерами АО, связанными с односпиральными нуклеиновыми кислотами (преимущественно функционально активной рибосомальной РНК в зрелых дифференцированных клетках), в то время как в зеленой – мономерами АО, интеркалированными в двуспиральные нуклеиновые кислоты (преимущественно ДНК):

$$\alpha = \frac{I_{640}}{I_{530}} = \frac{k_1 \text{НК}_1}{k_2 \text{НК}_2} = \frac{K(\text{АРНК})}{\text{ДНК}}$$

где АРНК – активная компонента РНК одиночной клетки; k_1 , k_2 , K – коэффициенты связывания АО с нуклеиновыми кислотами (НК) [10].

Причем ранее показано, что изменение параметра α при различных функциональных состояниях клетки главным образом связано с окрашиванием односпиральных областей РНК [10, 11].

Для изучения модифицирующего эффекта гипокINETического стресса для ЭМИ КВЧ использовался коэффициент модификации (КМ; усл. ед.), отражающий влияние одного фактора на действие другого:

$$KM_{ГК} = ((ГК - КВЧ) - КВЧ) / КВЧ,$$

где КВЧ, ГК-КВЧ – значения параметра α при воздействии ЭМИ КВЧ и последовательном действии ГК и ЭМИ КВЧ соответственно. Коэффициент модификации равен нулю, если отсутствует модифицирующее влияние изучаемого фактора.

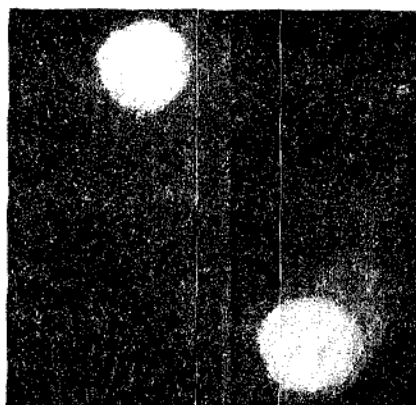


Рис. 3. Свечение окрашенных акридиновым оранжевым ядер лимфоцитов при возбуждении люминесценции на длине волны 436 нм.

Для определения достоверности различий между выборками использовался t-критерий Стьюдента.

Крысы содержали в условиях вивария при температуре 18 – 22°C на стандартном пищевом рационе и в стандартных условиях освещения (12 часов темнота: 12 часов свет). Световая фаза начиналась в 7.00 утра. Опыты с животными проводились в соответствии с Международной декларацией «О работе с опытными экспериментальными животными» и «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». При проведении экспериментов с животными соблюдались морально-этические нормы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты проведенных исследований, средние значения параметра α у животных контрольной группы лежали в диапазоне от 0,6 до 0,8, что согласуется с данными авторов методики [10] и нашими предыдущими исследованиями [6, 11].

При девятисуточном ограничении подвижности, соответствующем стадии тревоги ГК стресса [12, 13], у животных второй группы наблюдалось снижение показателя синтетической активности лимфоцитов крови крыс на 17,6% ($p < 0,001$) относительно значений этого показателя у животных контрольной группы (рис. 4.), что согласуется с данными наших предыдущих исследований [6], и, вероятно,

МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОГО СТРЕССА

является результатом неспецифической депрессии синтетических процессов в клетках и связано с нарушениями метаболизма и энергетики лимфоцитов, происходящими в результате развития стресс-реакции. Эти изменения свидетельствуют о резком напряжении, дезорганизации в функционировании лимфоцитов при ГК стрессе. Наблюдения у людей и эксперименты на животных убедительно свидетельствуют о влиянии тяжелой и (или) длительной стресс-реакции (дистресса) на иммунологическую реактивность. Еще Г. Селье [14], впервые описавший развитие общего адаптационного синдрома, подчеркивал, что иммунная система остается безразличной к стрессу. Значительное угнетение иммунного ответа, вплоть до развития иммунодефицитного состояния обнаружено при различных стрессорных воздействиях [15 – 17].

Поскольку известно, что модифицирующий эффект любого фактора можно обнаружить только после действия на организм стимула другой природы, то после прекращения девятисуточного ГК стресса было произведено девятикратное воздействие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на животных той же экспериментальной группы (ГК-КВЧ).

Уже после первых трех сеансов ЭМИ КВЧ (12 сутки) произошло увеличение коэффициента α относительно уровня, достигнутого после ГК на 19,6%, при этом он достиг значений этого показателя в контрольной группе крыс ($p > 0,05$). После девяти сеансов КВЧ-воздействия (18 сутки) наблюдения было зарегистрировано достоверное увеличение показателя α относительно значений в контрольной группе крыс на 17,5% ($p < 0,01$) (см. рис. 4).

Таким образом, ЭМИ КВЧ, действующее после ГК стресса вызывает достоверное повышение показателя синтетической активности α относительно его значений у интактных животных.

Ранее нами была изучена способность ЭМИ КВЧ лимитировать развитие стресс-реакции у крыс при его превентивном и комбинированном с ограничением подвижности действии, причем эффективность антистрессорного действия ЭМИ КВЧ при предварительном воздействии оказалась несколько выше, чем при одновременном с ГК [4]. Однако далеко не во всех случаях возможно применение ЭМИ КВЧ в качестве профилактического средства, поэтому важное значение имеет тот факт, что ЭМИ КВЧ оказывает антистрессорное действие и при использовании его после действия стресс-фактора. Эти данные убедительно доказывают, что воздействие ЭМИ КВЧ на организм способно уменьшить проявление негативных изменений, возникающих у животных при предварительном действии стресс-фактора.

Полученные результаты позволяют расширить возможности применения КВЧ-терапии не только для профилактики, но и для лечения последствий многих заболеваний, развитие которых сопровождается комплексом неспецифических симптомов, обусловленных развитием общего адаптационного синдрома, или стресс-реакции.

Вместе с тем, у животных группы ГК-КВЧ повышение функциональной активности лимфоцитов происходило в меньшей степени, чем у животных группы КВЧ, которые до КВЧ – воздействия оставались интактными. Так, на 12-е и 15-е сутки эксперимента была зафиксирована тенденция к снижению значений показателя

синтетической активности на 7,5% и 16,9% соответственно ($p>0,05$), а к 18-м суткам различия стали достоверными, и разница составила 31,1% ($p<0,01$).

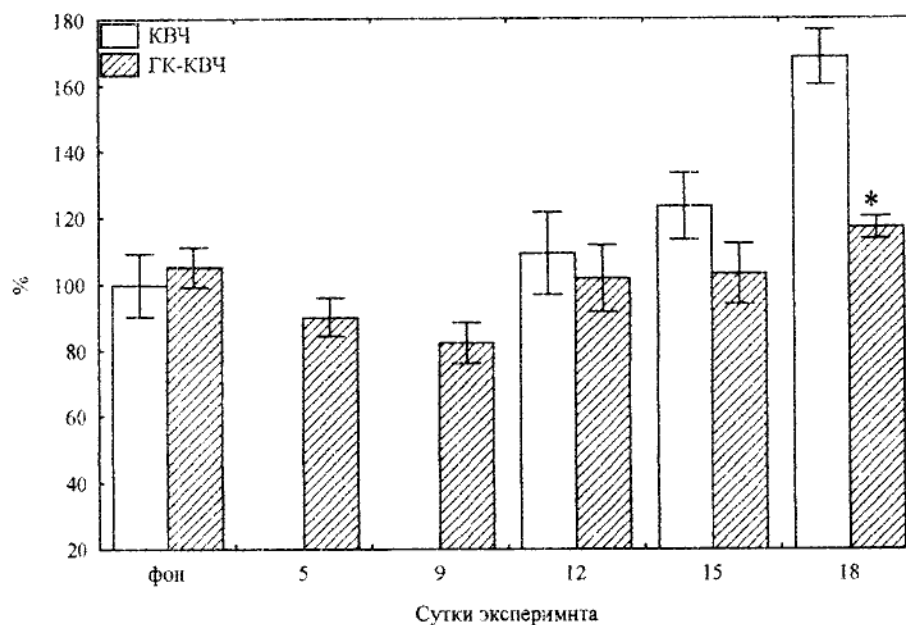


Рис. 4. Изменение показателя синтетической активности лимфоцитов периферической крови крыс при воздействии электромагнитного излучения крайне высокой частоты (КВЧ) и последовательном действии гипокинезии и электромагнитного излучения крайне высокой частоты (ГК-КВЧ) (в % относительно значений этого показателя в контрольной группе).

Примечание: * - достоверность различий исследуемого показателя между группами КВЧ и ГК-КВЧ.

Поскольку в настоящем исследовании воздействие ЭМИ КВЧ было одинаковым для всех экспериментальных групп животных, то можно утверждать, что различные изменения показателя синтетической активности лимфоцитов при действии ЭМИ КВЧ обусловлены неодинаковым исходным функциональным состоянием этих клеток. Следовательно, важным фактором, определяющим изменения показателя синтетической активности лимфоцитов при КВЧ-воздействии, является исходное функциональное состояние этих клеток, что согласуется с законом начальных значений Вильдера-Лейтеса [18].

Таким образом, предварительное ограничение подвижности крыс модифицирует изменение функциональной активности лимфоцитов крови крыс при последующем воздействии ЭМИ КВЧ, что выражается в снижении этого показателя относительно значений у животных, которые до воздействия ЭМИ КВЧ оставались интактными.

Модифицирующее влияние ГК на изменение функциональной активности лимфоцитов крови крыс при последовательном действии ГК и ЭМИ КВЧ

МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОГО СТРЕССА

подтверждается и изменением $KM_{ГК}$ от $-0,07$ усл. ед. после трех сеансов КВЧ-воздействия (12 сутки) до $-0,31$ усл. ед. после девятого КВЧ-воздействия (18 сутки), что дополнительно свидетельствует о снижении показателя синтетической активности лимфоцитов у крыс группы ГК-КВЧ относительно значений этого показателя у животных, подвергнутых изолированному действию ЭМИ КВЧ (рис. 5).

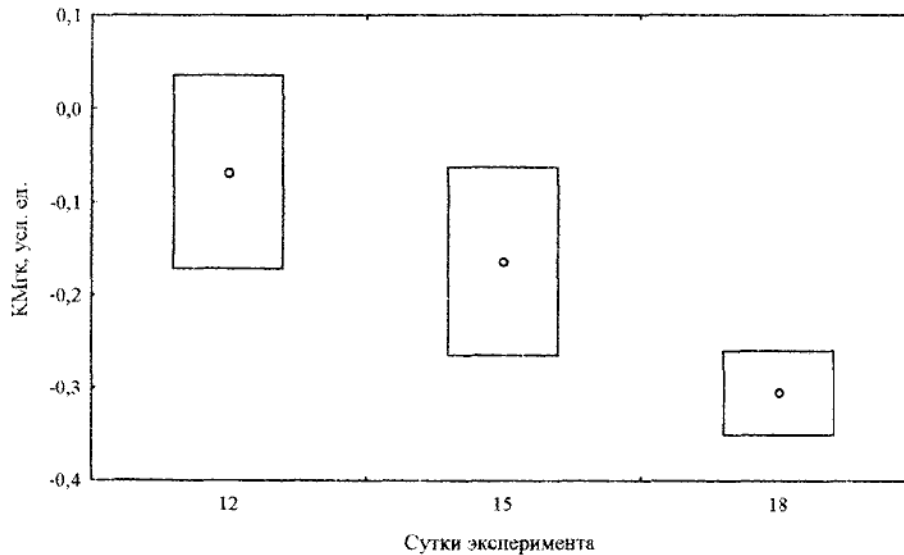


Рис. 5. Изменение коэффициента модификации ($KM_{ГК}$, усл. ед.) гипокинезии.
Примечание: \circ – среднее арифметическое; \square – ошибка среднего арифметического.

Таким образом, результаты данного исследования позволили выявить возможность ГК модифицировать адаптационные реакции организма, развивающиеся при последующем действии ЭМИ КВЧ.

ВЫВОДЫ

1. Предварительное действие гипокинетического стресса модифицирует изменения показателя синтетической активности лимфоцитов крови крыс, происходящее при последующем воздействии низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты.
2. В результате развития гипокинетического стресса происходит уменьшение показателя синтетической активности лимфоцитов, являющееся результатом снижения функциональной активности этих клеток.
3. Изменение показателя синтетической активности лимфоцитов крови крыс зависит от исходного состояния организма. Действие электромагнитного излучения крайне высокой частоты на животных, предварительно находящихся в условиях гипокинетического стресса, приводит к менее выраженному повышению показателя синтетической активности лимфоцитов крови, чем у животных, которые до КВЧ-воздействия оставались интактными.

Список литературы

1. Гапеев А.Б., Чемерис П.К. Действие непрерывного и модулированного ЭМИ КВЧ на клетки животных. Обзор Часть I. Особенности и основные гипотезы о механизмах биологического действия ЭМИ КВЧ // Вестник новых медицинских технологий. – 1999. – Т. 6, №1 – С. 15-22.
2. Петросян В.И., Синицын Н.И., Уткин В.А. и др. Проблемы косвенного и прямого наблюдения резонансной прозрачности водных сред в миллиметровом диапазоне // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2000. – № 1. – С. 34-40.
3. Девятков Н.Д., Голант М.Б., Бецкий О.В. Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности. – М.: Радио и связь, 1991. – 168 с.
4. Чуян Е.Н., Темурьянц Н.А., Московчук О.Б. и др. Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ. – Симферополь: ЧП «Эльвино», 2003. – 448 с.
5. Чуян Е.Н. Нейроиммуноэндокринные механизмы адаптации к действию низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты: Автореф. дисс. ... доктора биол. наук: 03.00.13 / КНУ. – Киев, 2004. – 40 с.
6. Чуян Е.Н., Махонина М.М. Синтетическая активность лимфоцитов крови: влияние излучения миллиметрового диапазона // Миллиметровые волны в биологии и медицине. – 2005. – № 1 (37). – С. 32-40.
7. Декларацийний патент України на корисну модель № 7864, МПК 7 А 61 N2/00 "Спосіб визначення біологічної ефективності застосування низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надвисокої частоти", Опубл. 15.07.2005. Бюл. № 7, Чуян О.М., Темур'янц Н.А., Махоніна М.М.
8. Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н. Гипокинезия. – М.: Медицина, 1980. – 307с.
9. Карнаухов В.Н. Люминесцентный спектральный анализ клетки. – М.: Наука, 1978. – 209 с.
10. Карнаухова Н.А., Сергиевич Л.А., Аксенова Г.Е. Изменение флуоресцентных характеристик окрашенных акридиновым оранжевым лимфоцитов крови крыс после острого γ -облучения. // Биофизика. – 1994. – Т. 39, № 1. – С. 123-128.
11. Чуян Е.Н., Темурьянц Н.А., Махонина М.М. Изменение синтетического аппарата лимфоцитов крови крыс при действии низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты // Physics of the alive. – 2005. – Vol. 13, № 1. – С. 63-70.
12. Михайлов А.В. Функциональная морфология нейтрофилов крови крыс в процессе адаптации к гипокинезии: Автореф. дис... канд. биол. наук СГУ. – Симферополь, 1985. – 25 с.
13. Верко Н.П. Функциональна нейтрофілів крові шурів при розвитку адаптаційних реакцій різного типу. Автореф. дис... канд. биол. наук СГУ. – 03.00.13 / ТНУ. – Симферополь, 2003. – 24 с.
14. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. – М.: Медицина, 1960. – 254 с.
15. Сухих Г.Т. Механизм стрессорных нарушений функции клеток естественной резистентности и пути их коррекции: Автореф. дис... д-ра мед. наук. – М., 1985. – 28 с.
16. Кузнецов С.И., Семенова И.В. Клетки иммунной системы как посредники в реакции других систем организма на стрессорное воздействие // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1997. – №2. – С. 27-29.
17. Крыжановский Г.Н., Магаева С.В., Макаров С.В. Нейроиммунопатология. – М., 1997. – 189 с.
18. Плеханов Г.Ф., Васильева Н.В., Козлова Т.И. Зависимость реакции биосистемы на раздражитель от её исходного значения // Бюл. Сиб. Отд. АМН СССР. – 1989. – № 2. – С. 83-86.

Поступила в редакцию 07.04.2006 г.

УДК 581.1:575.2

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* КАЛЛУСНОЙ ТКАНИ ЦИКЛАМЕНА – ИСТОЧНИКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Юркова И.Н., Бугара А.М.

Значительную часть лекарственных средств в настоящее время производят из природного растительного сырья, получаемого, как правило, из редких и исчезающих видов диких и плантационных растений. В связи с увеличением дефицита такого сырья и возрастающим антропогенным воздействием на окружающую среду наиболее перспективными являются биотехнологические методы получения фитомассы [1]. По сравнению с интактными растениями культуры тканей и клеток имеют ряд преимуществ: возможность получения экологически чистой биомассы, свободной от поллютантов, решение проблемы дефицита растительного сырья, синтез новых веществ, не содержащихся в целом растении, управление процессом биосинтеза, удешевление производства [2]. Однако из-за отсутствия разработанных биотехнологий известны лишь отдельные примеры производства фармпрепаратов из биологически активных веществ, полученных в культуре клеток растений [3].

В настоящее время все больший интерес привлекают различные виды цикламена, содержащего ценные фармакологически активные вещества группы тритерпеновых гликозидов (цикламин, мирабиллин, цикламинорин [4]). Первые упоминания о лечебных свойствах цикламена встречаются в литературных источниках еще в IV-III в.в. до н.э. Это является одной из причин ежегодного массового уничтожения редкого и исчезающего вида крымской флоры цикламена Кузнецова. Из сока клубней цикламена европейского производится лекарственный препарат “Синуфорте”, применяемый в отоларингологии при лечении воспалительных заболеваний околоносовых пазух. Клубни цикламена, используемые в качестве исходного сырья, выращиваются на плантациях Батумского ботанического сада в экологически чистых высокогорных районах Аджарии при постоянном контроле условий произрастания. Дефицит такого сырья является причиной высокой стоимости препарата “Синуфорте”. Получение биологически активных веществ из персидского цикламена, являющегося декоративной культурой, не представляется возможным из-за низкой скорости размножения. В связи с этим представляет интерес исследование возможности получения гликозидов в культуре клеток цикламена.

Цель данной работы заключалась в определении оптимальных условий получения каллусной культуры цикламена и анализе содержания в них биологически активных веществ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для проведения эксперимента служили ткани и органы *Cyclamen kuznetzovii* Kotov et Czernova и *Cyclamen persicum* Mill. В качестве эксплантов использовали сегменты клубней, молодых листьев и черешков.

Перед посадкой материал поверхностно стерилизовали в течение 1 минуты 70%-ным этиловым спиртом и 10 минут 50%-ным брадофеном, затем экспланты промывали автоклавированной дистиллированной водой. Для индукции каллусогенеза экспланты в стерильных условиях ламинарного бокса помещали на поверхность различных вариантов агаризованной среды Мурасиге и Скуга [5], дополненной 2,4-Д и 6-БАП.

В качестве культуральных сосудов использовали пробирки 2x20 см, содержащие по 20 мл питательной среды. На каждый вариант питательной среды было высажено по 20 эксплантов определенного типа в трехкратной повторности. Культивирование проводили в темноте в условиях термостатируемого помещения при температуре 20-22° С и относительной влажности воздуха 60-70%.

Частоту каллусообразования оценивали в процентах по количеству эксплантов, давших каллус, от общего числа эксплантированных. Полученный первичный каллус переносили на свежие питательные среды и в дальнейшем культивировали в тех же условиях. Пассирование каллуса осуществляли каждые 30 дней. Для субкультивирования использовали питательную среду Мурасиге и Скуга, дополненную 1,0-5,0 мг/л 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксисукусная кислота) и 0,1-1,0 мг/л БАП (6-бензиламинопурин). Культивирование проводили в течение 30-35 суток. Прирост биомассы определяли визуально (в % от объема исходной биомассы) в конце цикла выращивания.

Для исследования содержания биологически активных веществ в биомассе каллусных культур (пятый пассаж) применяли биокодуктометрический экспресс-метод тестирования интегральной биологической активности, основанный на определении изменений проницаемости цитоплазматической мембраны тест-объекта [6].

При тестировании биологической активности тест-объектом служила альгологически чистая культура *Spirulina platensis* Geitl. в конце экспоненциальной фазы роста. Суспензию клеток тест-объекта отделяли от культуральной среды, экспонировали в водных экстрактах, содержащих БАВ, а затем ресуспендировали в слабо проводящей дисперсионной среде заданного состава, электропроводность K_0 которой предварительно фиксировали. Величину кондуктометрического теста определяли по относительному $\Delta K = (K_1 - K_0) / K_0$ изменению электропроводности среды и выражали в % по отношению к контролю (без БАВ), принимаемому за 100%. Экспресс-тестированию подвергали водные экстракты интактных растений и каллусных культур *C. persicum* третьего пассажа. Концентрацию БАВ определяли по количеству растительного материала, использованного для экстракции, в г сухого вещества на 1 дм³.

Химический анализ содержания тритерпеновых гликозидов каллусных культур (пятый пассаж) и интактных клубней *Cyclamen persicum* проводили методом тонкослойной хроматографии. Биомассу высушивали при комнатной температуре и измельчали в ступке с изопропанолом. На хроматографические пластины "Sorbfil"

наносили по 0,2 мл смеси, для разделения гликозидов на фракции использовали систему растворителей хлороформ : метанол : 25% аммиак (100:40:5). Пластины высушивали, проявляли в растворе фосфорновольфрамовой кислоты в 100% этаноле, а затем высушивали при 100-105 °С.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При введении в изолированную культуру эксплантов, взятых из различных органов *S. kuznetzovi* и *S. persicum*, у эксплантов *S. kuznetzovi* через 7-10 дней появлялось заражение мицелиарными грибами. Добавление в питательную среду различных антимикотических препаратов вызывало лишь задержку проявления инфекции на 10-12 дней. Поэтому в дальнейших исследованиях использовали *S. persicum*.

Показано, что для *S. persicum* оптимальными являются экспланты, полученные из верхней части черешков и оснований листьев на ранних стадиях вегетации, когда можно избежать обильного выделения фенолов. Оптимальной для каллусообразования была питательная среда Мурасиге и Скуга, содержащая 2,4-Д (5 мг/л) и БАП (0,5 мг/л). При этом индукция первичного каллуса наблюдалась через 7-10 суток.

При пассировании каллусные культуры не только сохраняли высокую скорость роста, но с увеличением количества пассажей скорость роста увеличивалась.

Хотя результаты были близки, наиболее интенсивный рост каллусов *S. persicum* обнаружен на средах с концентрациями 4,0-5,0 мг/л 2,4-Д+0,3-0,4 мг/л БАП. Менее интенсивный рост был отмечен на средах с концентрациями 1,0-3,0 мг/л 2,4-Д +0,5-2,0 мг/л 6-БАП. Прирост биомассы в первые двое суток не наблюдался (лаг-фаза), на 3-4 сутки культуры вступали в фазу экспоненциального роста, а на 30-е сутки – в стационарную фазу.

Были получены два штамма, различающиеся как морфологически, так и по скорости роста. Штамм А, полученный из сегментов листьев, серовато-белый, гранулированный, имел хорошо разветвленную поверхность, штамм Б, полученный из сегментов черешков, – более темный и плотный с округлыми контурами. Скорость роста штамма А была значительно выше, чем штамма Б. Ростовый индекс штамма А уже в первом пассаже составлял 5-6 при цикле выращивания 15-20 суток.

Получение новых высокопродуктивных штаммов с максимальным биосинтезом целевого продукта – длительный процесс, а определение низких концентраций БАВ в медленно растущих культурах традиционными химическими методами связано с определенными трудностями, главное из которых – накопление достаточно большого количества биомассы. Известные литературные данные в большинстве случаев свидетельствуют о невысоком уровне синтеза вторичных метаболитов в недифференцированных культурах клосток растений многих видов [7].

В работе [8] было показано, что для скрининга каллусных культур по биологической активности интактных тканей и культуры клеток лекарственных растений может быть успешно применен биокондуктометрический экспресс-метод тестирования БАВ.

Результаты биотестирования интегральной биологической активности экстрактов, полученных из клубней интактных растений *Cyclamen persicum* и

биомассы каллусных культур двух штаммов, биоимпедансным методом приведены на рис. 1.

Как видно из приведенных данных, у экстрактов каллусных культур биологическая активность ниже на 17-24% (рис. 1, кривые 2 и 3), чем у экстрактов клубней интактных растений (рис. 1, кривая 1). Однако ход кривой 2 позволяет предполагать, что при более высокой концентрации биомассы каллусной культуры штамма А в экстракте эффект может быть значительно выше.

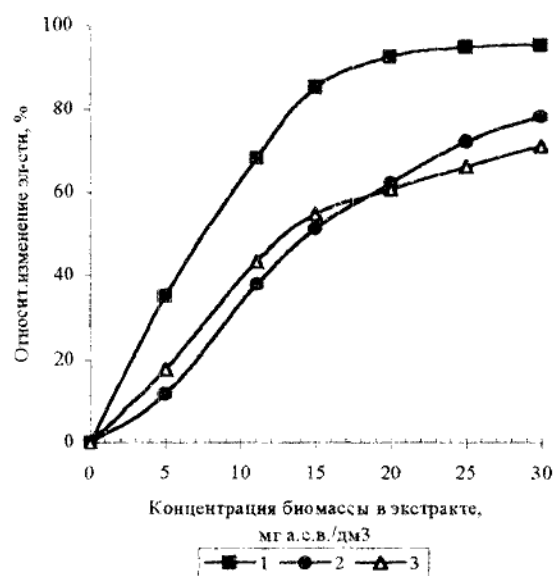


Рис. 1. Влияние концентрации биомассы в экстрактах клубней (1) и каллусных культур (штамм А – 2 и штамм Б – 3) цикламена персидского на относительное изменение электропроводности дисперсионной среды. % после экспозиции тест-объекта. Время контакта биомассы тест-объекта с экстрактами – 10 минут.

Исходя из данных анализа тонкослойной хроматографии (рис. 2), можно заключить, что качественный состав гликозидов каллусных культур штаммов А и Б отличается. В каллусной культуре штамма А выявлено 4 фракции гликозидов, штамма Б – 5 фракций. Количество фракций гликозидов интактных клубней и каллусной культуры штамма Б, а также их расположение на хроматограмме наиболее близки, в отличие от штамма А.

ВЫВОДЫ

1. Получены активно растущие каллусные культуры *Cyclamen persicum*.
2. Состав гликозидов в полученных каллусных культурах и клубнях интактных растений близок. Это подтверждается результатами биотестирования интегральной биологической активности экстрактов клубней и каллусных культур.

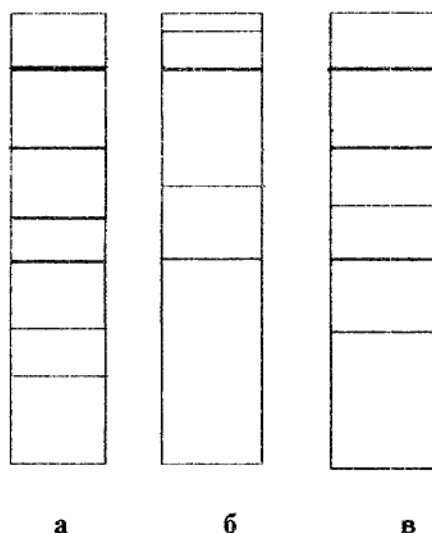


Рис. 2. Тонкослойно-хроматографический анализ гликозидов интактных клубней и каллусных культур *Cyclamen persicum*: а) интактные клубни; б) каллусная культура штамм А; в) каллусная культура штамм Б.

3. Проведенные исследования показывают, что каллусные культуры *Cyclamen persicum* могут быть перспективным альтернативным источником фармакологически активных тритерпеновых гликозидов.

Список литературы

1. Кунах В.А. Биотехнология лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. – К.: Логос, 2005. – 730 с.
2. Лебенко Б.А. Биотехнология растений: сегодня и завтра // Физиология и биохимия культур. раст. – 1999. – Т.32. №3. – С. 163-171.
3. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды. – М.: Мир, 1987. – 285 с.
4. Galis T., Satana M.E., Yurker A. Triterpene saponins from *Cyclamtn mirabile* and their biological activities // J. Nat.Prod. – 1997. – V.60, №3. – P. 315-318.
5. Основы сельскохозяйственной биотехнологии/ Г.С.Муромцев, Р.Г.Бутенко и др. – Агропромиздат, 1990. – 384 с.
6. Пат. 2002108456 Украины, МКИ⁵ С 12 М 1/36, С 12 М 1/38, С 12 Q 3/00. Способ контроля изменений активности микроорганизмов/ И.Н.Юркова, В.Р.Эстрела-Льюис, Т.И.Бородинова. – Опубл. 16.06.2003. Бюл. № 6.
7. Бутенко Р.Г. Перспективы использования культивируемых клеток растений в биотехнологии/ Биотехнология. М.: Наука, 1984. – С. 139-147.
8. Юркова И.Н. Экспресс-тестирование биологической активности каллусных культур лекарственных растений / Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана: Тематический сборник научных трудов. – Симферополь: Таврия, 2004. – Вып. 14. – С. 108-112.

Поступила в редакцию 20.02.2006 г.

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 19 (58). 2006 . № 1. С. 118-124.

УДК 541.183

ПРОЦЕССЫ СОРБЦИИ ИОНОВ КАДМИЯ НА ПОЧВЕННЫХ ОБРАЗЦАХ

Алексашкин И.В., Горбунов Р.В., Темная Т.Г.

Среди объектов окружающей среды загрязнение почвы имеет особое значение, так как именно в ней накапливается максимальное количество тяжелых металлов. Почва, как известно, является универсальным природным адсорбентом и нейтрализатором различных химических веществ. Кроме того, ее следует рассматривать как важнейшее звено в цепи циркуляции металлов в биосфере. Загрязнители, попадая в окружающую среду, не остаются индифферентны. Они мигрируют, претерпевают фазовые и химические превращения. В процессе превращения веществ токсичность одних снижается, других, напротив, возрастает за счет образования более токсичных продуктов. К числу высокотоксичных поллютантов, оказывающих значительное влияние на окружающую среду, относится кадмий.

Целью данной работы являлось изучение процессов обмена и сорбции – десорбции ионов кадмия на почвах – наименее изученном природном объекте, имеющим сложный состав и свойства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Состояние кадмия в природных средах определяется его способностью к образованию труднорастворимых солей, комплексных соединений. К числу наиболее устойчивых соединений относятся сульфаты (CdSO_4) и гидроксиды ($\text{Cd}(\text{OH})_2$). Фоновая концентрация ионов кадмия, в незагрязненной почве, колеблется в пределах $0,01 \div 0,7$ мг/кг [1]. Поглощение катионов кадмия происходит путем как физической, так и химической адсорбции.

В качестве сорбента была выбрана почва, отобранная в районе Кара-Тобекского залива озера Сасык-Сиваш. Почвы территории можно классифицировать как темно-каштановые маломощные слабогумусированные легкосуглинистые на красно-бурых глинах (таблица 1). Пробоотбор образцов почвы производился из почвенного горизонта А (0-20 см). Усредненная проба отбиралась методом конверта по 100 г из каждой точки. С целью устранения солей, адсорбированных на поверхности почвы,

ПРОЦЕССЫ СОРБЦИИ ИОНОВ КАДМИЯ НА ПОЧВЕННЫХ ОБРАЗЦАХ

образец был пятикратно промыт водой, высушен до постоянного веса при температуре 90°C и растёрт до мелкодисперсного состояния.

Дисперсность образца измерялась ситовым методом с размером ячеек 10, 7, 5, 3, 2, 1, 0,5, 0,25 мм. Значение рН определяли на иономере универсальном ЭВ-74 (рН±0,01 ед.). В таблице 2 представлены данные гранулометрического состава и качественного анализа водной вытяжки. Как видно из таблиц, по составу преобладают фракции крупного и среднего песка. Почва слабокарбонатная. Характерно сульфатно-хлоридное засоление и нейтральное значение рН.

Таблица 1.

Полевое описание почвенного разреза Кара-Тобекского залива

Индекс горизонта	Глубина, см	Описание горизонтов
А	0 – 20	Мелкозернистая; светло-коричневый; плотная; средний суглинок; переход резкий по цвету, плотности структуры
АВ	20 – 31	Зернистая; темно-коричневый; очень плотная; белоглазка; средний суглинок; переход резкий по новообразованиям
В	31 – 74	Зернистая; темно-коричневый, очень плотная; новообразования белоглазки, средний суглинок; переход резкий по новообразованиям
ВС	74 – 109	Среднезернистая; коричневый; очень плотная; темные пятна; средний суглинок
С	109 – ...	Светло-коричневый; очень плотная; вкрапления белоглазки; тяжелый суглинок

Для количественного контроля катионов кадмия применялся спектрофотометрический метод анализа комплекса с дитизоном при 525 нм [2]. На рис. 1 изображены спектры поглощения дитизона в четырёххлористом углероде и его комплекса с кадмием. Концентрация контролировалась по калибровочному графику.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Преобладающим процессом, регулирующим миграцию и трансформацию ионов кадмия в почве, является их взаимодействие с почвенными коллоидами, т.е. сорбция. В общем случае концентрация представляет собой сложную функцию от концентрации в растворенной фазе и времени.

Среди уравнений, описывающих равновесную сорбцию, наибольшее распространение получила степенная функция Фрегндлиха [3]:

$$x/m = ac^{1/n},$$

где a – коэффициент сорбции; x – количество растворенного вещества, адсорбированного массой m сорбента и находящегося в равновесии с раствором концентрации c ; n – параметр, характеризующий нелинейность зависимости.

Таблица 2.

Результаты лабораторного анализа почвы Кара-Тобекского залива

Показатели	Горизонты					
	A	AB	B	BC	C	
Глубина, см	0 – 20	20 – 31	31 – 74	74 – 109	109 – ...	
Гранулометрический состав, %	>10 мм	----	----	5,14	2,04	28,6
	10-7	----	----	7,7	10,45	13,9
	7-5	----	----	7,81	14,24	12,1
	5-3	4,5	7	20,15	27,22	15,15
	3-2	21	17,1	21,85	18,95	12,5
	2-1	35,5	39	21,05	18,7	13
	1-0,5	8,7	11	5,95	3,75	2,1
	0,5-0,25	16	17,6	6,2	4,45	1,5
	<0,25	14,4	6,8	4,34	0,93	0,4
pH	7,4	7,0	6,6	7,3	7,8	
Eh,mV	+245	+220	+216	+222	+250	
Анионы и катионы	Cl ⁻	+	+	++	+	+
	SO ₄ ²⁻	+	+	+	+	+
	CO ₃ ²⁻	+	+	--	--	+
	Ca ²⁺	+	+	+	+	+
Карбонатность	0,32	0,081	5,43	2,87	0,28	

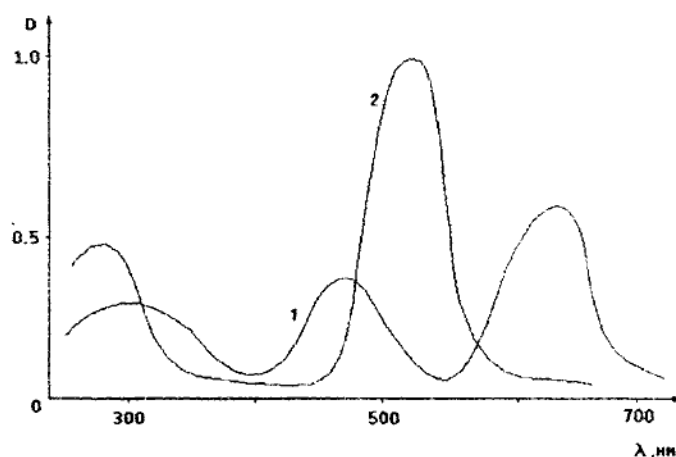


Рис. 1. Спектры поглощения дитизона (1) и его комплекса с кадмием (2) в четырёххлористом углероде.

ПРОЦЕССЫ СОРБЦИИ ИОНОВ КАДМИЯ НА ПОЧВЕННЫХ ОБРАЗЦАХ

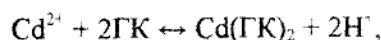
Если прологарифмировать уравнение Френдлиха, то оно примет вид прямой:

$$\lg(x/m) = \lg a + 1/n (\lg c).$$

Прямая, построенная в координатах $\lg(x/m) - \lg(c)$, при пересечении с осью $\lg(x/m)$ образует угол, тангенс которого равен $1/n$, а отрезок отсекаемый данной прямой – $\lg a$.

С целью изучения процессов сорбции в водные растворы кадмия объёмом 100 мл вносились навески почвы массой 1 г. После перемешивания и дальнейшего оседания твёрдой фазы в течение двух часов производилось фильтрование растворов, а затем – экстрагирование и фотометрирование кадмия. Результаты измерений приведены в таблице 3.

Устойчивость комплексных соединений металлов с гумусовыми кислотами зависит от pH почвенного раствора. Так если считать, что реакция с участием ионов кадмия идет по уравнению:



а полная константа устойчивости может быть выражена как

$$K = [\text{Cd}(\text{ГК})_2] [\text{H}^+]^2 / [\text{Cd}^{2+}] [\text{ГК}]^2.$$

Поэтому следующим шагом было изучение влияния водородного показателя на процессы сорбции. pH водного раствора кадмия варьировали в диапазоне 8÷13. Результаты приведены в таблице 4.

Таблица 3.

Изменение сорбции катионов кадмия на образцах почвы

$x \cdot m$	$c_{\text{исх}} \cdot 10^4$	$c_{\text{к}} \cdot 10^4$	$-\lg c$	$-\lg(x \cdot m)$
15	10,1	9,2	6,99	13,41
11	5,3	4,5	7,7	13,72
9,4	2,3	2,03	8,0	13,87
0,8	1,2	0,96	9,25	16,1
0,74	0,5	0,46	9,98	16,41
0,4	0,25	0,23	10,68	17,50

Таблица 4.

Результаты сорбции кадмия в растворах с различным значением pH

pH	$C_0 \cdot 10^4$	$C_{\text{равн}} \cdot 10^3$	$x \cdot m, 10^6$	$-\lg x \cdot m$
12,82	2,3	1,12	2,24	5,65
11,18	2,3	1,24	2,48	5,60
9,05	2,3	1,61	3,22	5,49
7,76	2,3	2,12	4,24	5,37

Изменение значения водородного показателя среды, может свидетельствовать о протекании гидролитических процессов, влияющих на поглощение ионов.

На рисунке 2 изображён график корреляции pH раствора и концентрации кадмия над адсорбентом.

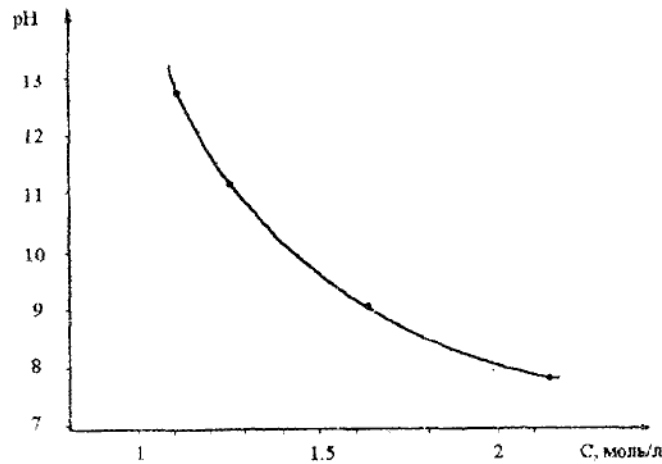
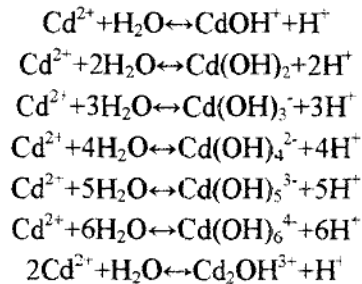


Рис. 2. График корреляции pH раствора и концентрации кадмия над сорбентом

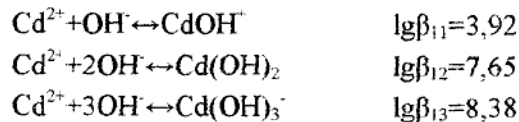
Как видно из рисунка наблюдается заметное влияние pH среды на процессы сорбции кадмия. Так, с понижением pH среды интенсивность адсорбционных процессов падает и при кислых значениях сменяется десорбцией.

Для объяснения влияния pH на процессы сорбции были произведены теоретические расчеты концентрации $[Cd^{2+}]$ и возможность образования $[Cd(OH)_2]$ в зависимости от pH.

Для концентрации $Cd^{2+} = 10^{-4}$ М характерно наличие гидролитических процессов [4]:



Рабочее значение pH лежит в диапазоне 7÷13, поэтому, используя литературные данные можно учитывать только вклад частиц Cd^{2+} , $Cd(OH)_3^-$ и $Cd(OH)_2$, при этом пренебрегаем вкладом тех частиц, которые образуются в очень малом количестве.

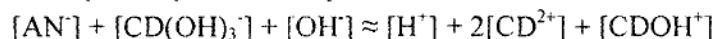


Уравнение материального баланса выглядит следующим образом:

$$C_{Cd} \approx [Cd^{2+}] + [CdOH^+] + [Cd(OH)_2] + [Cd(OH)_3^-] + [OH^-], \text{ ГДЕ } [H^+][OH^-] = B_{H_2O}$$

$$[AN] = 2C_{Cd}$$

Уравнение электронейтральности принимает вид:



Результаты расчетов представлены графически на рисунке 3.

Так, в интервале pH 7 – 8 ед. кадмий присутствует в виде Cd^{2+} . При значении pH=8 начинается образование гидроксида кадмия $Cd(OH)_2$, а при pH=9,7 наблюдается его выпадение в осадок, т.е. переход в аморфное состояние. При pH>8 адсорбция играет второстепенную роль в процессе самоочищения почв, а основным фактором является образование малорастворимого гидроксида ($PP_{Cd(OH)_2}=1,2 \cdot 10^{-14}$).

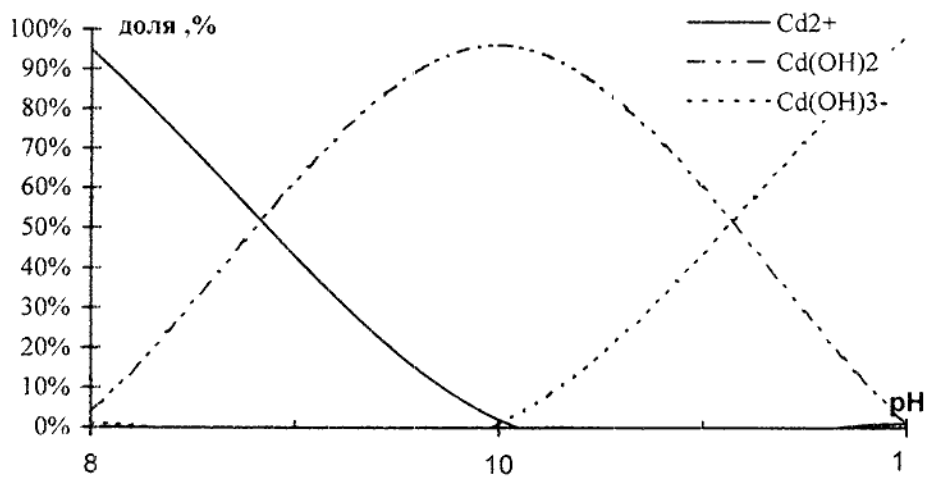


Рис. 3. Доли гидролизованной формы кадмия в диапазоне Ph 8–12.

Следовательно, существует два пути вывода ионов кадмия из биогеохимической миграции. Первый, это концентрирование его на адсорбционных барьерах в почве при pH=7 – 8. второй – образование гидроксида $Cd(OH)_2$ при pH=8,2 – 9,7.

Анализируя, полученные результаты можно сделать определенные выводы. На рисунке 4 представлена схема поведения соединений кадмия в зависимости от вида почв Крыма. В щелочных почвах (например, солонцы Присивашья) наблюдается выпадение в осадок $Cd(OH)_2$ и его вывод из геохимических циклов, в нейтральных почвах (например, черноземы центрального Крыма) – сорбирование его на адсорбционных барьерах, в кислых почвах (например, бурые лесные почвы горного Крыма) наблюдаются процессы десорбции и Cd^{2+} участвует в миграции. Для предотвращения этих процессов рекомендуется проводить известкование данных почв.

ВЫВОДЫ

В результате проведенной работы исследована адсорбция ионов Cd^{2+} на образцах грунта. Загрязнение почв во многом определяется реакцией среды: в щелочных условиях интенсивно поглощается кадмий и выводится из миграции, в кислых наоборот миграция усиливается. При этом выявлено, что гидролитические процессы уменьшают адсорбционную способность кадмия на почвах.

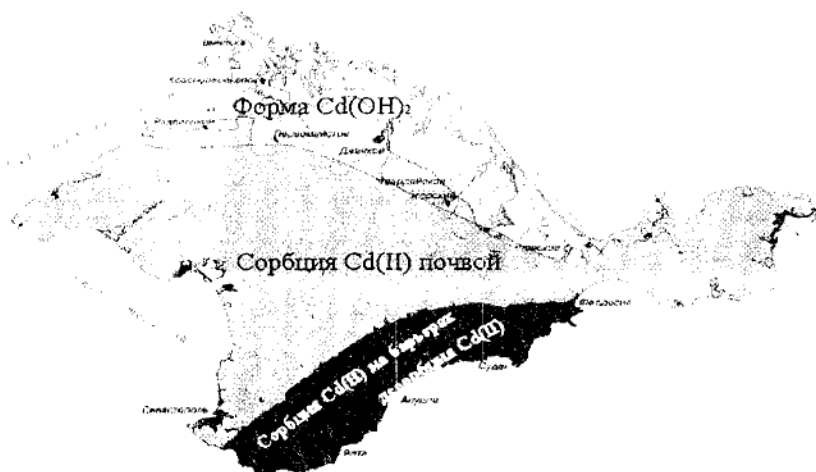


Рис. 4. Схема поведения соединений кадмия на почвах Крыма.

Список литературы

1. Перельман А.И. Геохимия. – М.: Высш. шк., 1989. – 528 с.
2. Пешкова В.М., Громова М.И. Методы абсорбционной спектроскопии в аналитической химии. - М.: Высш. шк., 1976. - 280 с.
3. Фридрихсберг Д.А. Курс коллоидной химии. – СПб, 1995. – 400 с.
4. Фишгак И.Ф., Ватаман И.И. Термодинамика гидролиза ионов металлов. – Кишинев: Штиинца, 188. – 293 с.

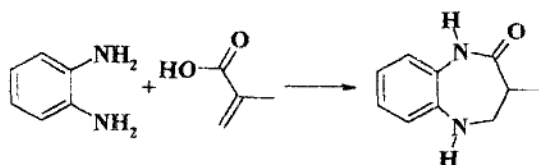
Поступила в редакцию 01.03.2006 г.

УДК 615.281:547.892

СИНТЕЗ И РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ 3-МЕТИЛ-2,3,4,5-ТЕТРАГИДРО-1*H*-1,5-БЕНЗОДИАЗЕПИН-2-ОНА

Баевский А.М., Баевский М.Ю., Приходько И.М.

Производные 2,3,4,5-тетрагидро-1*H*-1,5-бензодиазепин-2-она привлекли внимание исследователей в последние десятилетия после того, как среди его производных были выявлены соединения, проявляющие транквилизирующую и анальгезирующую активность [1 – 4]. Впервые 3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1*H*-1,5-бензодиазепин-2-он был синтезирован с незначительным выходом (23%) сплавлением эквимольных количеств 1,2-фенилендиамина с метакриловой кислотой [3].



Целью данной работы является анализ методик синтеза 3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1*H*-1,5-бензодиазепин-2-она и исследование реакционной способности синтезированного соединения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Температуры плавления определяли на приборе ПТП. Спектры ¹H-ЯМР получены на приборе Varian VXR-300 (300 МГц), внутренний стандарт - Me₄Si.

Колоночную хроматографию (КХ) проводили на силикагеле Merck 230-400 меш, колонка 15 x 1,8 см, элюент: бензол-гексан, 50:1.

3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1*H*-бензодиазепин-2-он (I). а) Раствор 21,6 г (0,2 моль) 1,2-фенилендиамина и 18,5 мл (0,22 моль) метакриловой кислоты в 100 мл 4*N* соляной кислоты кипятят с обратным холодильником в течение 4 часов. По окончании реакции реакционную смесь охлаждают и нейтрализуют раствором 10% аммиака до щелочной среды (рН 8), осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из пропанола-2. Т. пл. 202-203°C. Лит. данные [3]: т. пл. 202-204°C.

б) В плоскодонную колбу с насадкой Дина-Старка и обратным холодильником загружают 21,6 г (0,2 моль) 1,2-фенилендиамина, 18,5 мл (0,22 моль) метакриловой кислоты и 8,8 г (0,2 моль) метаборной кислоты (12,6 г борной кислоты), 150 мл

толуола (ксилола, бензола). Кипятят до прекращения выделения воды в насадке Дина-Старка. Растворитель отгоняют на роторном испарителе, а оставшийся осадок перекристаллизовывают из пропанола-2.

5-бензил-3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-бензодиазепин-2-он (2). а) В плоскодонной колбе растворяют в 50 мл пропанола-2 1,76 г (0,01 моль) 3-метил-1,3,4,5-тетрагидро-1H-бензодиазепинона-2 и 0,67 г (0,012 моль) гидроксида калия (1 мл триэтиламина). Добавляют 1,15 мл (0,01 моль) бензилхлорида и кипятят еще в течение 2 часов. Полученную реакцию массу отфильтровывают от неорганического остатка. Отгоняют пропанол-2 на роторном испарителе. Полученный остаток очищают колоночной хроматографией. Выход 1,22 г (46%), в случае использования триэтиламина выход 1,08 г (41%). Т. пл. 133-134°C.

5-бензоил-3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-бензодиазепин-2-он (3). В плоскодонной колбе растворяют в 50 мл хлороформа 3,5 г (0,02 моль) 3-метил-1,3,4,5-тетрагидро-1H-бензодиазепинона-2, добавляют 2,46 г (0,03 моль) ацетата натрия. После чего по каплям добавляют 2,3 мл (0,02 моль) бензоилхлорида. Реакционную массу кипятят в течение 1 часа с воздушным холодильником и оставляют на ночь. Нерастворимый осадок отфильтровывают, хлороформный слой упаривают, остаток перекристаллизовывают из этанола. Выход 2,35 г (85%).

1-бутил-3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-бензодиазепин-2-он (4). В плоскодонной колбе растворяют в 50 мл толуола 1,76 г (0,01 моль) 3-метил-1,3,4,5-тетрагидро-1H-бензодиазепинона-2, добавляют 0,276 г (0,012 моль) металлического натрия и кипятят до полного растворения натрия. После чего добавляют 1,1 мл (0,01 моль) бутилбромиды и кипятят еще в течение 2 часов. Полученную реакцию массу отфильтровывают от неорганического остатка. Отгоняют толуол на роторном испарителе. Полученный остаток очищают колоночной хроматографией. Выход маслообразного продукта 4 – 1,11 г (48 %).

5-бензоил-1-бутил-3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-бензодиазепин-2-он (5). В плоскодонной колбе растворяют в 50 мл толуола 2,82 г (0,01 моль) 5-бензоил-3-метил-1,3,4,5-тетрагидро-1H-бензодиазепинона-2, добавляют 0,276 г (0,012 моль) металлического натрия и кипятят до полного растворения натрия. После чего добавляют 1,1 мл (0,01 моль) бутилбромиды и кипятят еще в течение 2 часов. Полученную реакцию массу отфильтровывают от неорганического остатка. Отгоняют толуол на роторном испарителе. Полученный остаток очищают колоночной хроматографией. Выход маслообразного продукта 5 – 1,1 г (33%).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе работы были опробованы различные методики синтеза 2,3,4,5-тетрагидро-1H-1,5-бензодиазепин-2-она, использованные нами ранее в синтезе бензимидазолов [5]. Во всех случаях в качестве исходных соединений применялись 1,2-фенилендиамин и метакриловая кислота. Конденсацию проводили в органических растворителях – бензоле, толуоле и ксилоле в присутствии борных кислот (борной и метаборной). Кроме того, была воспроизведена методика синтеза бензодиазепин-2-онов в 4 N соляной кислоте описанная в статье Г. Бахмана [4]. Результаты экспериментов представлены в табл. 1.

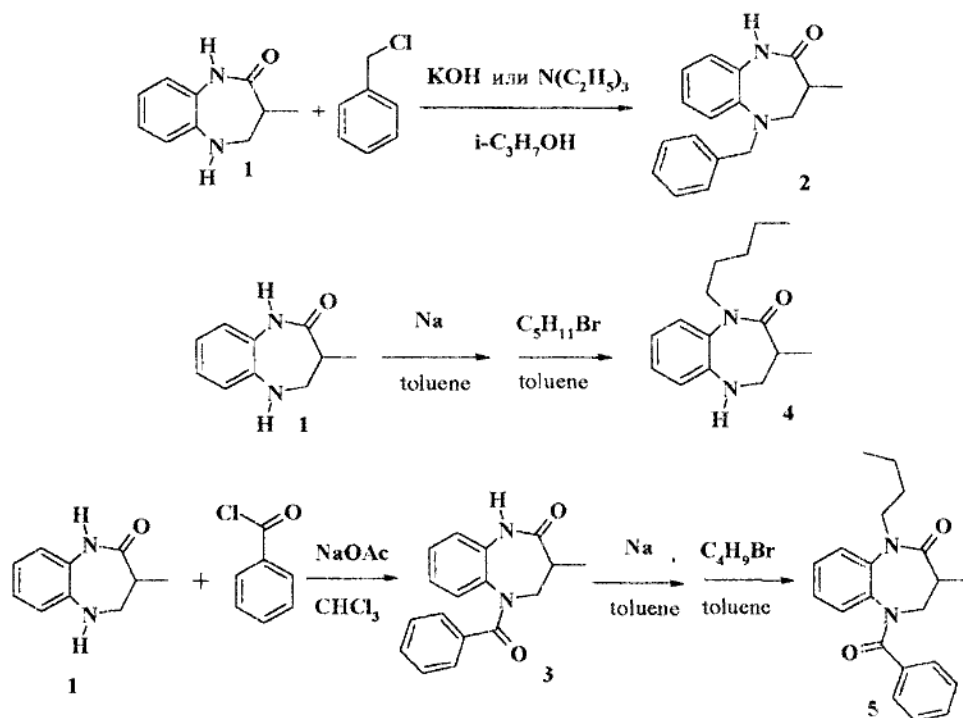
СИНТЕЗ И РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ

Анализ полученных результатов однозначно показал, что метод синтеза 3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1*H*-1,5-бензодиазепин-2-она в толуоле в присутствии борных кислот, позволяет получить целевой продукт с более высоким выходом в достаточно мягких условиях. Повышение температуры конденсации с использованием более высококипящего растворителя (синтез 4, 6 табл. 1) приводит к уменьшению выхода, связанного с образованием большого количества продуктов осмоления. В случае использования в качестве растворителя бензола выход целевого продукта резко снижается (синтез 2 табл. 1), что связано с более низкой температурой в реакционной среде, обусловленной температурой кипения растворителя. Увеличение времени реакции не приводит к повышению выхода бензодиазепин-2-она.

Таблица 1.
Зависимость выхода 3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1*H*-1,5-бензодиазепин-2-она от условий конденсации

№ п/п	1,2-фенилендиамин	Метакриловая кислота	Конденс агент	Растворитель	Время реакции, час	Выход	
						г	%
1	0,2 моль	0,22 моль		4 N HCl	4	3,8	10,8
2	0,2 моль	0,22 моль	HBO ₂	бензол	12	15,9	45,3
3	0,2 моль	0,22 моль	HBO ₂	толуол	2	27,2	77,4
4	0,2 моль	0,22 моль	HBO ₂	<i>o</i> -ксилол	2	25,7	73,1
5	0,2 моль	0,22 моль	H ₃ BO ₃	толуол	2	25,2	71,7
6	0,2 моль	0,22 моль	H ₃ BO ₃	<i>o</i> -ксилол	2	24,1	68,4
7	0,2 моль	0,2 моль	-	сплавл. [3]		8,1	23

Противоречивые данные имеются в литературе по алкилированию 1*H*-1,5-бензодиазепин-2-она алкилгалогенидами. В одних источниках утверждается, что алкилирование протекает преимущественно в положение 1 [1], в других, что в положение 5 [2]. Нами был изучен процесс алкилирования 3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1*H*-1,5-бензодиазепин-2-она (1) в различных условиях. Оказалось, что в присутствии, как едкого кали, так и триэтиламина алкилирование протекает в положение 5, а при алкилировании натриевой соли 3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1*H*-1,5-бензодиазепин-2-она, предварительно полученной взаимодействием бензодиазепинона 1 с металлическим натрием в толуоле, основным продуктом алкилирования является 1-*N*-алкилпроизводное 2.



Строение полученных соединений подтверждено данными ПМР спектроскопии (табл. 2)

Таблица 2.
ПМР спектры производных 3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-1,5-бензодиазепин-2-она

Группа или атом	Химические сдвиги, м.д.				
	1	2	3	4	5
N ¹ -H	9,42с	9,42с	-	9,42с	-
C ³ -H	2,58м	2,58м	2,58м	2,58м	2,58м
C ³ -CH ₃	0,89д	0,89д	0,89д	0,89д	0,89д
C ⁴ -H	3,25м	3,21м	3,31м	3,11м	3,17м
N ⁵ -H	4,92с	-	4,92с	-	-
Ar	6,92-7,24м	6,85-7,48м	6,92-7,24м		6,85-7,48м
Alk	-	4,45д, 4,40д	0,775т, 1,19к, 1,36к, 3,83м	0,79т, 1,33к, 1,56к, 3,78м	0,79т, 1,33к, 1,56к, 3,78м

ВЫВОДЫ

В результате выполненной работы разработан новый, эффективный метод синтеза 3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1*H*-1,5-бензодиазепин-2-она и исследована его реакционная способность.

Список литературы

1. Archer G. A., Sternbach L. N. The Chemistry of benzodiazepines // Chem. Rev. – 1968. – P. 747-784.
2. Соломко З. Ф., Кост А. Н. 1,5-Бензодиазепины // ХГС. – 1975. – №.11. – С. 1443-1463.
3. Пуоджюнайте Б. А., Янчене Р. А., Талайките З. А., Закс А. С., Работников Ю. М. Усачев Е. А. Синтез и биологическая активность *N*-замещенных 2,3,4,5-тетрагидро-1*H*-бензодиазепинов-2 // ХФЖ. – 1985. – С. 1195-1198.
4. Bachman G. B., Heissey L. V. Preparation of vinyl derivatives of five-atom heterocyclic rings // J. Am. Chem. Soc. – 1949. – V. 71. – P.1985-1988.
5. Баевский М. Ю., Цикалов В. В., Грачев П. Ю. Конденсация *o*-фенилендиамин с карбоновыми кислотами в присутствии борных кислот // Ученые записки Симферопольского государственного университета. Биология, химия. – 2002. – Т. 15 (54), № 1. – С. 86-88.

Поступила в редакцию 01.03.2006 г.

УДК 546.562 + 547.288.3 + 544.175

СПЕЙСЕРИРОВАННЫЕ ДИМЕРЫ МЕДИ(II) НА ОСНОВЕ АЦИЛДИГИДРАЗОНОВ 2-ГИДРОКСИАЦЕТОФЕНОНОВ

Гусев А.Н., Шульгин В.Ф.

Одним из традиционных объектов исследования в современной координационной химии являются полиядерные комплексы. Интерес к данной группе соединений обусловлен в основном их уникальными магнитными свойствами. Известно, что магнитное поведение веществ, содержащих несколько ионов металлов переходных групп, определяется как особенностями одиночного парамагнитного центра, так и природой взаимодействия между ними. Хорошо известно, что в некоторых кристаллах ниже определенной температуры магнитные моменты ориентируются вдоль выделенных направлений даже в отсутствие внешнего магнитного поля. Явление упорядочения магнитных моментов хорошо описывается в рамках теории обменных взаимодействий [1 – 4] с использованием изотропного гамильтониана следующего вида:

$$H = -2JS_1S_2 \quad (1)$$

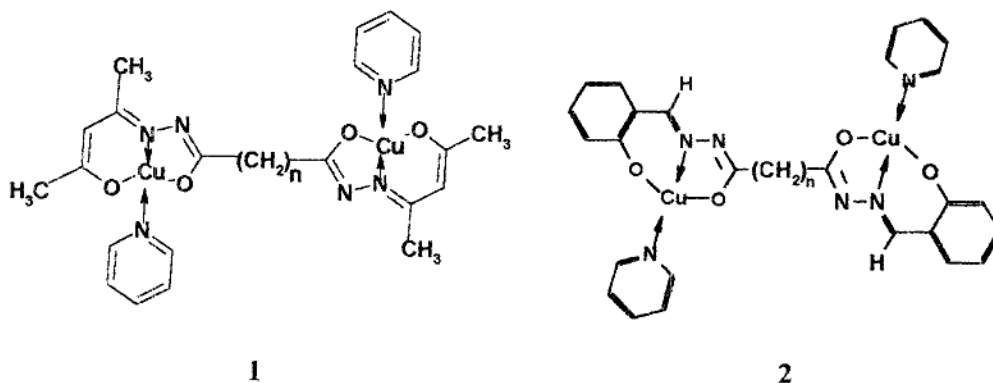
В зависимости от взаимной ориентации спинов неспаренных электронов величина $-2J$ может быть положительной или отрицательной. При $-2J < 0$ нижним является уровень с максимально возможным спином. Такое взаимодействие называется ферромагнитным. Если $-2J > 0$, то система в основном состоянии имеет минимально возможный спин, и взаимодействие называется антиферромагнитным.

Среди экспериментальных методов исследования обменных эффектов, наряду с методами магнетохимии, наиболее удобным и информативным является спектроскопия ЭПР. До недавнего времени подавляющее число спектров ЭПР описано для димерных комплексов меди(II), в которых катионы металла расположены на расстоянии порядка 3 Å и связаны одноатомными мостиками или мостиковыми лигандами небольшого размера [1, 5, 6].

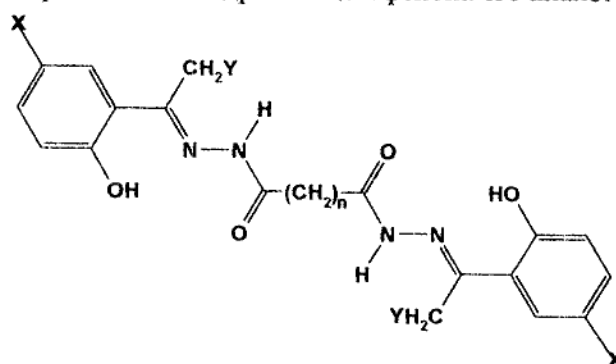
В последнее время повышенное внимание исследователей привлекают димеры со значительным разделением парамагнитных центров. Часто в комплексах данного типа координационные полиэдры соединены спейсером – протяженной группировкой атомов, непосредственно не связанной с центральным ионом. Спейсерированные димеры обычно хорошо растворимы в малополярных органических растворителях, что позволяет изучать спектры ЭПР не только в кристаллическом состоянии, но и в жидких растворах. Среди подобных димеров

СПЕЙСЕРИРОВАННЫЕ ДИМЕРЫ МЕДИ(II)

особый интерес представляют комплексы с полиметиленовыми мостиками, цепочка σ -связей которых, на первый взгляд, не должна проводить спиновую плотность и препятствует взаимодействию между парамагнитными центрами. Тем не менее, начиная с 1988 г., Г.М. Лариным с соавторами были описаны несколько типов биядерных комплексов меди(II) с ацилдигидразами β -дикетонов [7-12] и салицилового альдегида [13-16], в которых методом ЭПР были зарегистрированы слабые антиферромагнитные взаимодействия.



Спектры ЭПР жидких растворов соединений с $n = 1 - 4$ содержат хорошо разрешенную сверхтонкую структуру (СТС) из семи линий и константой порядка 40 Гс как результат взаимодействия неспаренных электронов с двумя эквивалентными ядрами атомов меди. Увеличение длины полиметиленовой цепочки до пяти и более звеньев приводит к появлению СТС из четырех линий с константой порядка 80 Гс. Несколько позже было показано, что введение заместителей различной природы в карбонильный фрагмент ацилдигидраза позволяет уменьшить границу проводимости или даже полностью подавить обменные взаимодействия [12, 16]. Задачей настоящей статьи является обобщение результатов исследования методом спектроскопии ЭПР слабых обменных взаимодействий в биядерных комплексах меди(II) с ацилдигидразами 2-гидроксиацетофенона его аналогов.



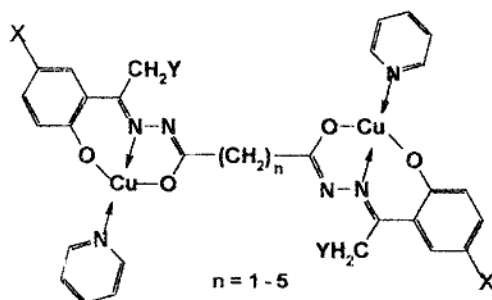
$X = \text{H}, \text{CH}_3, \text{Cl}, \text{Br}, \text{NO}_2; Y = \text{H}, \text{CH}_3, n = 1-5$

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые комплексы синтезированы взаимодействием ацетата меди (II) с соответствующими ацилдигидразами в спиртовом растворе. При этом были получены полимерные комплексы состава $[\text{Cu}_2\text{L}\cdot n\text{Solv}]_n$, где H_4L – соответствующий ацилдигидразон жирно-ароматического кетона. Растворение полимерных комплексов в пиридине приводит к биядерным комплексам 3.n-8.n. (Здесь и далее первая цифра номера соединения указывает его тип, вторая – длину полиметиленовой цепочки). Термогравиметрические записаны на Q-дериватографе системы Паулик-Паулик-Эрдей в статической воздушной атмосфере, скорость нагревания $10^\circ\text{C}/\text{мин}$, держатель образца – керамический тигель без крышки, эталон – прокаленный оксид алюминия. ИК-спектры образцов, спрессованных с KBr, исследованы в диапазоне $4000\text{--}400\text{ см}^{-1}$ на фурье-спектрофотометре "Nicollet". Спектры ЭПР получены на приборе ADANI PS 100.X в X-диапазоне при концентрации $1\text{--}5\cdot 10^{-3}$ моль/л.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состав и строение комплексов установлены методами элементного и термогравиметрического анализа, а также ИК-спектроскопии. Структура комплексов меди с адипоилгидразоном 2-гидроксипропиофенона $[\text{Cu}_2\text{L}\cdot 4\text{Py}]$ (рис. 1) и комплекса меди(II) с малонилгидразоном 5-нитро-2-гидроксиацетофенона $[\text{Cu}_2\text{L}\cdot 4\text{Morf}]$ (рис. 2) подтверждена рентгеноструктурным анализом.



- X = H, Y = H (3); X = CH₃, Y = H (4);
 X = Cl, Y = H (5); X = Br, Y = H (6);
 X = NO₂, Y = H (7); X = H, Y = CH₃ (8)

Установлено, что центральные атомы расположены на расстоянии $8,21\text{ \AA}$ для комплекса 8.4 и $6,94\text{ \AA}$ для комплекса 7.1. Координационная сфера атома меди в обоих случаях построена по типу [4+1]-координации и имеет тетрагонально пирамидальную геометрию с молекулой пиридина или морфолина в аксиальном положении. Экваториальная плоскость образована атомами кислорода и атомом

азота дважды депротонированной хелатоформной группы гидразона и атомом азота координированной молекулы пиридина или морфолина [17 – 19].

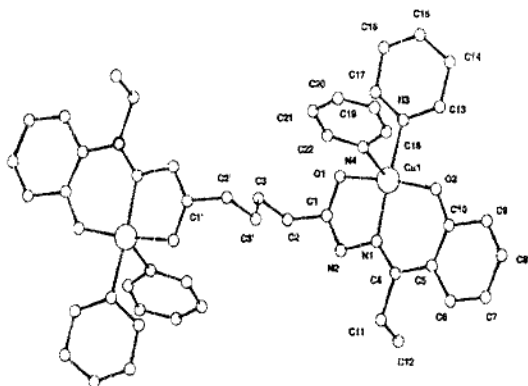


Рис. 1. Строение комплекса 8.4

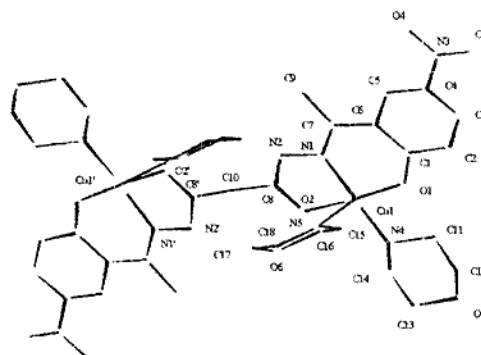


Рис. 2. Строение комплекса 7.1

В спектрах ЭПР растворов комплексов на основе 2-гидроксиацетофенона с числом метиленовых звеньев в спейсере от одного до четырех регистрируется изотропный сигнал с хорошо разрешенной сверхтонкой структурой из семи линий с соотношением интенсивностей 1:2:3:4: 3:2:1 и константой порядка 40 Гс (рис. 3) [20, 21]. Данное значение константы составляет примерно половину величины, характерной для моноядерных комплексов меди(II). Величина g-фактора ($g = 2,11$) характерна для кислородно-азотного окружения центрального атома.

Наблюдаемые спектры были интерпретированы как результат обменного взаимодействия неспаренных электронов с двумя эквивалентными ядрами меди, имеющими ядерный спин 3/2.

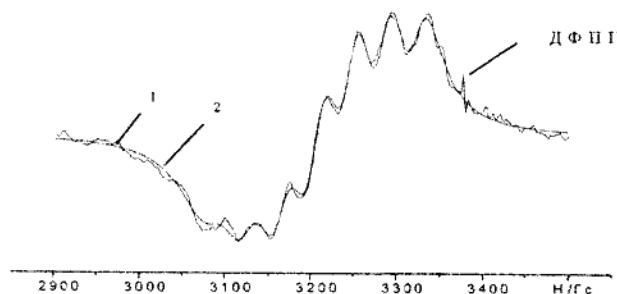


Рис. 3. Спектр ЭПР раствора комплекса меди(II) с ацилдигидразоном малоновой кислоты и 2-гидроксиацетофенона при 298 К (1 – экспериментальная кривая, 2 – теоретическая кривая).

Для объективного подтверждения правильности предложенной интерпретации спектров, а также для более точного определения параметров спинового гамильтониана было выполнено теоретическое моделирование с использованием эффективного спинового гамильтониана (2)

$$H = \beta SgH + S(A/2)(I_1 + I_2) \quad (2)$$

Параметры ширины линий задавались следующим выражением:

$$\Delta H_p(i) = \alpha + \beta m_i + \gamma m_i^2 \quad (3)$$

Учитывался также вклад, обусловленный внутримолекулярными движениями в биядерном комплексе вокруг полиметиленового мостика:

$$\Delta H_p(1,2) = \delta(m_{11} - m_{12})^2 \quad (4)$$

где, α , β , γ , δ – варьируемые параметры ширины линий, m_i – проекция ядерного спина [2]. Результаты расчетов приведены в табл. 1.

Таблица 1.
Параметры спектров ЭПР биядерных комплексов меди(II) с ацилдигидразами 2-гидроксиацетофенона

Соединение	g	$a_{Cu} \cdot 10^4, \text{ см}^{-1}$	Параметры ширины линий, Гс				$\sigma, \%$
			α	β	γ	δ	
3.1	2,110	38,2	29,5	3,0	-0,5	2,1	2,1
3.2	2,112	38,1	32,2	9,5	1,0	3,4	3,4
3.3	2,117	39,8	32,0	7,6	-1,1	5,3	5,3
3.4	2,112	40,3	32,6	8,9	-0,3	7,5	7,5
3.5	2,110	72,1	50,6	10,0	1,1	-	-

Увеличение длины полиметиленовой цепочки, разделяющей координационные полиэдры, до пяти звеньев приводит к уменьшению энергии обменного взаимодействия, и в спектре ЭПР комплекса 3.5 регистрируется обычный для моноядерных комплексов меди(II) изотропный сигнал из четырех линий СТС от одного ядра со значением константы $a = 72,1 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$.

Спектр ЭПР замороженного при 77 К раствора комплекса на основе малоновой кислоты (комплекс 3.1) представляет собой суперпозицию тонкой и сверхтонкой структуры ($g_{\perp} = 2,05$; $g_{\parallel} = 2,14$; $D_{\parallel} = 73,5 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$; $a = 69,5 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$). Семь линий, расположенные в слабом поле, интерпретированы как СТС от двух ядер меди. Две слабые линии, наложенные на сигнал перпендикулярной ориентации, отнесены ко второй компоненте тонкой структуры. Особенно отчетливо ТС проявляется на второй производной спектра (рис. 4).

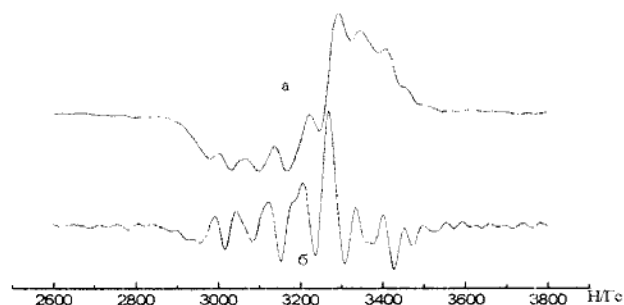


Рис. 4. Спектр ЭПР комплекса меди(II) с ацилдигидразоном малоновой кислоты и 2-гидроксиацетофенона при 77К (а – первая производная, б – вторая производная)

Пять из семи линий сверхтонкой структуры от двух ядер меди видны в спектре ЭПР замороженного раствора комплекса **3.2** с двумя метиленовыми звеньями, однако тонкая структура не разрешается. При увеличении длины полиметиленовой цепочки до 3-4 звеньев СТС из семи линий исчезает, и в параллельной ориентации наблюдается плохо разрешенная сверхтонкая структура от одного ядра меди с константой 144-155 Гс. Дальнейшее увеличение длины полиметиленовой цепочки приводит к появлению хорошо разрешенной СТС из четырех линий с константой 185 Гс.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что обменные взаимодействия реализуются и в замороженных растворах спейсированных димеров **3.n**, однако расстояние, на которые они распространяются, меньше, что может говорить о значительной роли динамических эффектов в проведении спин-спиновых взаимодействий.

Для изучения влияния природы заместителей в ароматическом кольце исследуемых координационных соединений на обменные взаимодействия были проанализированы спектры ЭПР комплексов на основе ацилдигидразонов 5-метил-2-гидроксиацетофенона, 5-хлор-2-гидроксиацетофенона, 5-бром-2-гидроксиацетофенона и 5-нитро-2-гидроксиацетофенона (соединения **4.n-7.n**) [19, 21 – 23].

Установлено, что спектр ЭПР поликристаллического образца комплекса **6.1** при комнатной температуре содержит интенсивную обменно-суженную линию с g -фактором, равным 2,11. Понижение температуры до 77 К приводит к заметному увеличению интенсивности поглощения, и в области слабых полей проявляется очень слабый сигнал запрещенного перехода ($\Delta M_S = 2$) с $g = 4,18$. В спектрах ЭПР поликристаллических образцов соединений **4.n-7.n** запрещенный переход не проявляется, наблюдается только интенсивный сигнал разрешенного перехода ($\Delta M_S = 1$) с величиной g -фактора $\approx 2,1$.

Спектры ЭПР жидких растворов соединений 4.n-7.n принципиально не отличаются от спектров комплексов на основе незамещенного 2-гидроксиацетофенона. Семь линий СТС с половинным значением константы, свидетельствующие о реализации обменных взаимодействий, разрешаются в спектрах ЭПР жидких растворов комплексов на основе малоновой, янтарной, глутаровой и адипиновой кислоты, независимо от природы заместителей. В спектрах ЭПР димеров с пятью метиленовыми звеньями в спейсере наблюдаются четыре линии СТС от одного ядра атома меди, что свидетельствует о независимом поведении парамагнитных центров.

Вид спектров ЭПР замороженных растворов димеров на основе арилзамещенных жирно-ароматических кетонов характерен для аксиально-симметричных систем. Семь линий СТС разрешаются в параллельной ориентации для комплексов на основе малоновой и янтарной кислот. Для комплексов 4.2, 5.1, 6.1 в спектре ЭПР наблюдается тонкая структура с $D_{\parallel} = 48 \cdot 10^{-4}$, $78,5 \cdot 10^{-4}$, $74,0 \cdot 10^{-4}$ см⁻¹ соответственно.

Величина параметра начального расщепления позволяет оценить обменный параметр (-2J). Известно, что, параметр D может быть представлен как сумма обменного и диполь-дипольного вклада:

$$D = D_{ech} + D_{dd} \quad (5)$$

В приближении точечных диполей:

$$D_{dd} = -(g_{\parallel}^2 - 1/2g_{\perp}^2)\beta^2/r^3 \quad (6)$$

Для D_{ech} справедлива следующая оценка:

$$D_{ech} = (\Delta g/g)^2 \cdot (-2J'), \quad (7)$$

где Δg – отклонение g-фактора магнитного иона от значения g-фактора свободного электрона; $-2J'$ – параметр обменного взаимодействия в возбужденном состоянии димера.

Подстановка полученных данных в приведенные выше формулы, с учетом того, что параметр начального расщепления может иметь как положительное, так и отрицательное значение, приводит к величине $-2J' \approx 2$ или 6 см⁻¹. И хотя известно, что величина обменного параметра в основном и возбужденном состоянии димера могут значительно отличаться, полученные значения могут быть использованы для оценки $-2J$ [23].

Спектры ЭПР жидких и замороженных растворов комплексов 4.n-7.n позволяет сделать вывод о малой чувствительности обменных взаимодействий к природе заместителей в пятом положении бензольного кольца ацилдигидразонов жирно-ароматического кетонов. Из литературных данных известно, что для комплексов меди с салицилиденгидразонами дикарбоновых кислот введение в бензольное кольцо заместителей разной природы снижает границу проводимости обменных взаимодействий плотности через полиметиленовую цепочку до 3-х звеньев. Различие в поведении комплексов с очень близкой молекулярной структурой можно

объяснить положительным индукционным и мезомерным эффектом метильной группы, которая "накачивает" электронную плотность в хелатный цикл и способствует переносу спиновой плотности через полиметиленовую цепочку. В связи с этим представлялось интересным проверить возможность увеличения проводимости слабых обменных взаимодействий через полиметиленовую цепочку за счет дальнейшего увеличения электронодонорного характера алифатического радикала. С этой целью были исследованы спектры ЭПР координационных соединений меди(II) с ацилдигидразами 2-гидроксипропиофенона [17,18].

Спектры ЭПР комплексов **8.n** показывают, что увеличение положительного индукционного эффекта углеводородного радикала жирно-ароматического кетона не позволяет отодвинуть границу проведения слабых обменных взаимодействий через полиметиленовую цепочку. В спектрах комплексов **8.2 – 8.4** проявляется СТС из семи линий с половинной константой ($g = 2,112$; $a_{Cu} = 30,0 - 39,4 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$). Увеличение длины полиметиленовой цепочки до 5 звеньев подавляет слабые обменные взаимодействия и в спектре ЭПР комплекса **8.5** наблюдается СТС из четырех линий со следующими параметрами спинового гамильтониана: $g = 2,109$; $a_{Cu} = 73,5 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$.

Исследования спейсерированных димеров на основе ацилдигидразонов жирно-ароматических кетонов показали, что, несмотря на большое расстояние между парамагнитными центрами, в спектрах ЭПР содержатся признаки, характерные для обменных димеров, а именно:

- сигнал "запрещенного" перехода в области слабых полей;
- тонкая структура;
- сверхтонкая структура из семи линий как результат взаимодействия неспаренных электронов с двумя эквивалентными ядрами меди.

Был проведен детальный анализ возможных каналов обменного взаимодействия в исследуемых соединениях:

1. Образование димерных фрагментов Cu_2O_2 с участием феноксимостиков.
2. Стэкинг-взаимодействие между соседними молекулами за счет ароматических колец лиганда и хелатных циклов комплекса.
3. Сверхобмен через полиметилснвый мостик в пределах одной молекулы.

Условия записи спектров ЭПР позволяют отбросить первый из рассматриваемых механизмов. Образование димерных фрагментов Cu_2O_2 за счет дополнительной координации донорных атомов кислорода соседних молекул невозможно по причине избытка основания Льюиса (пиридин или морфолин), что обычно приводит к разрыву феноксимостиков [6].

Межмолекулярное стэкинг-взаимодействие между ароматическими кольцами и хелатными циклами было обнаружено при рентгеноструктурном исследовании комплекса меди на основе малонилгидраза 5-нитро-2-гидроксиацетофенона [19]. Известно, что образование обменных каналов за счет взаимодействия данного типа может приводить к появлению семи линий СТС в концентрированных растворах. Уменьшение концентрации приводит к диссоциации молекулярных ассоциатов и

появлению СТС из четырех линий [24]. Спектры исследуемых спейсерированных димеров не зависят от концентрации, что позволяет исключить подобный канал обмена.

Появление семи линий в спектре ЭПР за счет диссоциации исследуемых спейсерированных димеров и наложение сигналов от разных частиц маловероятно по причине высокой устойчивости комплексов данного типа.

Таким образом, в качестве единственно возможного механизма обменного взаимодействия представляется сверхобмен в пределах одной молекулы по цепочке σ -связей полиметиленового мостика.

Как известно, механизм сверхобмена реализуется за счет делокализации неспаренных электронов по протяженным МО, включающим орбитали мостиковых лигандов [1 – 3]. Представлялось интересным проверить возможность образования подобных МО в исследуемых координационных соединениях. С этой целью был выполнен квантовомеханический расчет биядерного комплекса меди (II) с адипоилгидразоном 2-гидроксипропиофенона с использованием программы GAMESS 2002. В качестве исходных использовались координаты атомов, полученные в результате рентгеноструктурного анализа. Волновые функции молекулярных орбиталей представлены в виде линейной комбинации атомных орбиталей:

$$\Psi = \sum_n c_n \varphi_n, \quad (8)$$

где φ_n - соответствующая АО из атомного базиса; c_n – нормировочный множитель.

Согласно полученным данным, каждый из неспаренных электронов делокализован по хелатным циклам и бензольным кольцам двух координационных полиэдров. Основной вклад в МО, содержащие неспаренные электроны, дают $2p_z$ -орбитали атомов кислорода и азота координированного ацилгидразона ($c = 0,14-0,28$), а также атомы углерода бензольного кольца ($c = 0,05-0,22$). Перенос спиновой плотности между координационными полиэдрами происходит по цепочке σ -связей полиметиленового мостика, причем в высшую занятую молекулярную орбиталь заметный вклад дают p_z -орбитали атомов углерода ($c = 0,02$).

ВЫВОДЫ

Синтезирован и исследован новый класс спейсерированных димеров меди (II) в спектрах ЭПР которых, несмотря на большое расстояние металл ... металл наблюдаются признаки слабого обменного взаимодействия между парамагнитными центрами. Показано, что механизм данного взаимодействия может быть обусловлен образованием протяженных молекулярных орбиталей, содержащих неспаренные электроны.

Список литературы

1. Яблоков Ю.В., Воронкова В.К., Мосина Л.В. Параманитный резонанс обменных кластеров. – М.: Наука, 1988. – 181 с.
2. Ракитин Ю.В., Ларин Г.М., Минин В.В. Интерпретация спектров ЭПР координационных соединений. – М.: Наука, 1993. – 399 с.
3. Ракитин Ю.В., Калинин В.Т. Современная магнетохимия. – С-Пб: Наука, 1994. – 272 с.
4. Вертц Дж., Болтон Дж. Теория и практические приложения метода ЭПР. – М.: Мир, 1975. – 560 с.
5. Smith T.D., Pilbrow Y.R. The Determination of Structural Properties of Dimeric Transition Metal Ion Complexes from EPR Spectra // *Coord. Chem. Rev.* – 1974. – Vol. 13, № 2/3. – P. 173-278.
6. Коган В.А., Зеленцов В.В., Ларин Г.М., Луков, В.В. Комплексы переходных металлов с гидразонами. – М.: Наука, 1990. – 112 с.
7. Ларин Г.М., Умаров Б.Б., Минин В.В. и др. Антиферромагнитный обмен по цепочке σ -связей в биядерных комплексах Cu(II) // Докл. АН СССР. – 1988. – Т. 303. – С. 139-144.
8. Ларин Г.М. Делокализация электронов в координационных соединениях // Координац. химия. – 1992. – Т. 18, № 7. – С. 699-728.
9. Ларин Г.М., Минин В.В., Ракитин Ю.В. Идентификация методом ЭПР очень слабых обменных взаимодействий в биядерных комплексах меди // Неорган. материалы. – 1994. – Т. 30, № 11. – С. 1424-1428.
10. Шульгин В.Ф., Сарнит Е.А., Зуб В.Я. и др. Изучение обменного взаимодействия между катионами меди(II) в комплексах с дигидразонами ацетилацетона и дикарбоновых кислот // Ученые записки Симферопольского государственного университета. – 1998. – № 7(46). – С. 190-195.
11. Ларин Г.М., Шульгин В.Ф., Сарнит Е.А. и др. Слабые обменные взаимодействия в комплексах меди (II) на основе дигидразона ацетилацетона и глутаровой кислоты // Координац. химия. – 1999. – Т. 25, № 5. – С. 356-358.
12. Ларин Г.М., Шульгин В.Ф., Мельникова Е.Д. и др. Исследование методом ЭПР слабых обменных взаимодействий в биядерных комплексах меди(II) с ацилдигидразонами фторированных β -дикетонов // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2002. – № 4. – С. 585-589.
13. Ларин Г.М., Шульгин В.Ф., Сарнит Е.А. Структура и спектр ЭПР биядерного комплекса меди(II) с бис(салицилиден)гидразоном глутаровой кислоты // Журн. неорган. химии. – 2000. – Т. 45, № 6. – С. 1010-1015.
14. Larin G.M., Shul'gin V.F., Sarnit E.A. Weak long-range spin-spin exchange interactions in a copper (II) complex // *Mendeleev Commun.* – 1999. – № 4. – P. 129-130.
15. Шульгин В.Ф., Сарнит Е.А., Ларин Г.М. и др. Исследование обменных взаимодействий через цепь σ -связей в комплексах меди с салицилиденгидразонами дикарбоновых кислот методом спектроскопии ЭПР // Укр. хим. журн. – 2000. – Т. 66, № 3. – С. 9-12.
16. Ларин Г.М., Шульгин В.Ф., Сарнит Е.А. и др. Исследование методом ЭПР слабых обменных взаимодействий в биядерных комплексах меди (II) с ацилдигидразонами салицилового альдегида // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2001. – № 5. – С. 777-783.
17. Ларин Г.М., Шульгин В.Ф., Гусев А.Н. и др. Строение и спектр ЭПР биядерного комплекса меди(II) с адипоилбисгидразоном 2-гидроксипропиофенона // Докл. АН. – 2003. – Т. 390, № 3. – С. 627-630.
18. Ларин Г.М., Шульгин В.Ф., Гусев А.Н. и др. Молекулярное строение и спектры ЭПР комплексов меди(II) с ацилдигидразонами 2-гидроксипропиофенона // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2004. – № 5. – С. 740-743.
19. Гусев А.Н., Шульгин В.Ф., Зуб В.Я. и др. Синтез и исследование спейсерированных димеров меди(II) на основе ацилдигидразонов 5-бром- и 5-нитро-2-гидроксиацетофенона. // Тез. доп. XVI Укр. конф. з неорг. хімії. – Ужгород. – 2004. – С. 47.
20. Шульгин В.Ф., Гусев А.Н., Зуб В.Я. и др. Исследование слабых обменных взаимодействий в биядерных комплексах меди(II) с ацилдигидразонами 2-оксиацетофенона методом ЭПР // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2002. – № 12. – С. 2107-2111.

21. Шульгин В.Ф., Гусев А.Н., Зуб В.Я. и др. Слабые обменные взаимодействия между парамагнитными ионами в биядерных комплексах ацилдигидразонов // Ученые записки ТНУ. – 2003. – Т. 16(55), №1, Биология, химия. – С. 100-112.
22. Шульгин В.Ф., Гусев А.Н., Зуб В.Я. и др. Спектры ЭПР комплексов меди(II) с ацилдигидразонами 2-гидрокси-5-метил- и 2-гидрокси-5-хлорацетофенона // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2003. – № 6. – С. 1230-1233.
23. Шульгин В.Ф., Гусев А.Н., Зуб В.Я. и др. Спектры ЭПР спейсерированных димеров меди(II) на основе ацилдигидразонов 5-бром-2-гидроксиацетофенона и алифатических дикарбоновых кислот // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2005. – № 8. – С. 1752-1758.
24. Das S., Muthukumaragopal G. P., Pal S. et al. A one-dimensional assembly of a square-planar copper(II) complex with alternating short and long Cu...Cu distances. Metal ion spin-exchange via π - π interactions // New J. Chem. – 2003. – Vol. 7. – P. 1102-1107.

Поступила в редакцию 24.02.2006 г.

УДК 547. 918:543.422

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ СТРОЕНИЯ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ *CUSSONIA PANICULATA*

Довгий И. И., Гришковец В. И., Качала В. В., Шаиков А. С.

Тритерпеновые гликозиды – класс вторичных метаболитов, состоящих из агликона и связанных с ним углеводных фрагментов. Агликон – пента- или тетрациклический тритерпеноид связан с одной, двумя, реже тремя углеводными цепями, содержащими от одного до шести моносахаридов. Кроме того, агликон и углеводные фрагменты часто этерифицируются остатками карбоновых кислот [1]. Широкое распространение в растительном мире и разнообразная биологическая активность тритерпеновых гликозидов делает необходимым детальное установление строения этих веществ с целью нахождения зависимостей структура-активность.

Для получения информации о строении тритерпеновых гликозидов используют химические методы: частичный кислотный гидролиз, полный кислотный гидролиз, щелочной и ферментативный гидролиз с последующей идентификацией продуктов с имеющимися заведомо известными веществами [1]. Однако, используя химические методы сложно получить информацию о строении новых агликонов, типах связи моносахаридов, конфигурации аномерных атомов углерода или положении неуглеводных заместителей. В этих случаях доказательство структуры осуществляется физико-химическими методами, из которых наибольшее распространение для установления строения природных веществ получили современные высокоинформативные методики спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР).

Изучаемое растение *Cussonia paniculata* Eckl. et Zeh. относится к семейству аралиевых (*Araliaceae* Juss.), произрастает на Мадагаскаре и в юго-восточной Африке. Выделению и установлению строения ряда тритерпеновых гликозидов, выделенных из листьев этого растения были посвящены наши предыдущие статьи [2, 3, 4]. Целью данной статьи является установление строения новых тритерпеновых гликозидов из листьев этого растения с использованием методов спектроскопии ЯМР.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выделение и разделение гликозидов описано нами в [2, 3, 4]. ЯМР-спектры получены на приборе Bruker-500DRX (500 МГц для ^1H и 125 МГц для ^{13}C) в дейтеропиридине. Для двумерных экспериментов HSQC, COSY и TOCSY, HMBC и ROESY использовали пакеты стандартных программ фирмы "Bruker".

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение строения углеводных фрагментов.

В качестве углеводных фрагментов в гликозидах из листьев *Cussonia paniculata* с использованием химических методов и отнесением сигналов в одномерных спектрах ЯМР ^{13}C по имеющимся литературным данным были определены часто встречающиеся α -L-арабинопиранозильный, β -D-глюкопиранозил-(1→2)- α -L-арабинопиранозильный, α -L-рамнопиранозил-(1→4)-O- β -D-глюкопиранозил-(1→6)-O- β -D-глюкопиранозильный, β -D-глюкуронопиранозильный и β -D-глюкопиранозил-(1→2)-O- β -D-глюкуронопиранозильный фрагменты. Однако, как показали химические методы [3] многие гликозиды содержат в своем составе ацильные группы, локализованные по углеводной цепи, связанной с карбоксильной группой агликона. Установление строения этих фрагментов мы рассмотрим на примере гликозидов фракции G, которая была разделена на три гликозида G₁, G₂ и G₃ [2, 3].

В полных кислотных гидролизатах G₁ и G₃ по ТСХ идентифицировали глюкозу, арабинозу, рамнозу и хедерагенин. Прогенины, образующиеся при щелочном гидролизе G₁ и G₃, по ТСХ идентичны 3-O- α -L-арабинопиранозиду хедерагенина [3]. На основании этих данных было предположено, что G₁ и G₃ являются изомерами по положению ацильной группы. По литературным данным [5] в спектрах ЯМР ^{13}C G₁ и G₃ были отнесены сигналы остатка α -L-арабинопиранозы и дизамещенного хедерагенина. Отнесение оставшихся сигналов, принадлежащих углеводному фрагменту по атому С-28 агликона, производилось следующим образом. В спектре ЯМР ^{13}C гликозида G₁ в области аномерных С-атомов были обнаружены еще три сигнала, по которым из спектра HSQC были найдены дублетные сигналы аномерных протонов. Дублеты при 4.99 и 6.19 м.д. с KCCB по 8 Гц принадлежат остаткам глюкопираноз, а дублет при 5.84 с KCCB около 1.5 Гц – остатку рамнопиранозы. Полные отнесения сигналов Н-атомов углеводной части по атому С-28 агликона были осуществлены на основании анализа двумерных спектров COSY и TOCSY. На основании данных протонного спектра и с использованием спектра HSQC было выполнено отнесение сигналов в спектре ЯМР ^{13}C . Сигналы С-атомов при 21.2 и 170.9 м.д. были отнесены к сложноэфирной ацетильной группе. Анализ α - и β -эффектов замещения на Н- и С-атомах углеводной части G₁ в сравнении с незамещенным трисахаридным фрагментом [3] показал наличие О-ацетильной группы по атому С-4 остатка рамнозы. Дополнительно локализация ацетатной группы была подтверждена на основании данных спектра HMBC, в котором наблюдался кросс-пик между Н-4 рамнозы и карбонильным С-атомом остатка уксусной кислоты. Типы связей между углеводными остатками были также подтверждены на основании данных спектра HMBC. Таким образом, G₁ представляет собой новый 3-O- α -L-арабинопиранозил-28-O-(4-O-ацетил- α -L-рамнопиранозил)-(1→4)-O- β -D-глюкопиранозил-(1→6)-O- β -D-глюкопиранозид хедерагенина. Сравнение химических сдвигов сигналов атомов ^{13}C гликозида G₁ с неацетилированным гликозидом G₂ приведено в таблице 1.

Анализ спектра ЯМР ^{13}C гликозида G₃ в области сигналов аномерных С-атомов (95–108 м.д.) после отнесения сигналов 3-O- α -L-арабинопиранозильного фрагмента показал наличие шести сигналов, однако оценка хроматографической подвижности гликозида показала, что он должен содержать три углеводных остатка. Очевидно, что в

G_3 содержатся два изомерных гликозида с различными углеводными фрагментами, имеющими по ацетильной группе, поскольку в спектре наблюдались сигналы двух O -ацетильных групп (метильного и карбонильного C -атомов) при 21.0, 21.2, 171.1 и 171.2 м.д.

Локализация ацетильной группы была подтверждена на основании изучения эффектов замещения, а также данных спектра НМВС, в котором наблюдался кросс-пик между протоном H -2 рамнозы и карбонильным C -атомом одного из остатков уксусной кислоты в одном гликозиде и протоном H -3 рамнозы и карбонильным C -атомом другого остатка уксусной кислоты в изомерном гликозиде. На основании этих данных углеводными фрагментами по атому C -28 агликона являются 2- O -ацетил- и 3- O -ацетил- α - L -рамнопиранозил-(1 \rightarrow 4)- O - β - D -глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)- O - β - D -глюкопиранозильные фрагменты. В итоге гликозиды представляют собой новые 3- O - α - L -арабинопиранозил-28- O -(2- O -ацетил- и 3- O -ацетил- α - L -рамнопиранозил)-(1 \rightarrow 4)- O - β - D -глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)- O - β - D -глюкопиранозиды хедерагенина, обозначенные G_{3a} и G_{3b} . Сопоставление химических сдвигов атомов ^{13}C гликозидов G_{3a} и G_{3b} с неацетилированным гликозидом G_2 приведено в таблице 1.

Установление строения агликонных частей

Большинство агликонов, входящих в гликозиды являются хорошо известными, и их структура была подтверждена сопоставлением сигналов в спектре ЯМР ^{13}C с литературными данными. Однако агликон в изомерных по положению ацетильной группы гликозидах E_{1a} и E_{1b} не был определен по имеющимся литературным данным, и установление его строения производилось следующим образом.

Предварительный анализ спектра ЯМР ^{13}C с АТР-редактированием для E_{1a} и E_{1b} обнаружил, что в самой низкопольной части спектра имеется сигнал при 175.1 м.д., однозначно отнесенный по величине химического сдвига к атому углерода карбоксильной группы. В области сигналов олефиновых C -атомов наблюдались два сигнала при 150.9 и 110.0 м.д. Кроме того, в высокопольной области наблюдались 25 сигналов агликонных C -атомов. На основании вышеуказанных данных удалось предварительно заключить, что агликон имеет карбоксильную группу, одну двойную связь, обычную негликозилированную гидроксильную группу у атома C -3 (δ_c 73.4 м.д.) и еще одну первичную гидроксильную группу (δ_c 67.7 м.д.) предположительно у атома C -23. Сигналы C -атомов двойной связи, а именно четвертичного (по данным АТР-редактирования) при 150.9 м.д. и вторичного (в группе $=CH_2$) при 110.0 м.д., по величинам химических сдвигов вполне соответствуют C -атомам двойной связи в боковой изопрופןильной группе тритерпеноидов лупанового ряда [6]. Это позволило предположить принадлежность агликона к этому ряду. Сопоставление химических сдвигов сигналов агликонных C -атомов с литературными данными для 28- O -гликозидов бетулиновой и 3-эпибетулиновой кислот [7] позволило отнести большинство сигналов C -атомов колец C , D и E и боковой изопрופןильной группы. Оставшиеся сигналы для C -атомов колец A и B удалось отнести путем сопоставления с химическими сдвигами сигналов C -атомов аналогичных колец 28- O -гликозидов 23,27-дигидроксибетулиновой кислоты [6] и хедерагенина [8]. При этом был сделан вывод, что дополнительная гидроксильная группа находится у атома C -23, и агликон представляет собой 3 β ,23-дигидроксилуп-

20(29)-ен-28-овую кислоту или 23-гидроксибетулиновую кислоту. Полные отнесения сигналов Н-атомов агликонной части E_{1a} и E_{1b} были выполнены на основе двумерного спектра HSQC. Анализ двумерных спектров COSY и TOCSY подтвердил правильность отнесения сигналов Н-атомов (по анализу кросс-пиков вицинальных протонов и протонов, образующих изолированные спиновые системы). Кроме того, анализ спектра HMBC по наличию кросс-пиков между сигналами С- и Н-атомов, разделенных несколькими (тремя) связями и спектра ROESY в отношении пространственно сближенных Н-атомов также подтвердил правильность выполненных отнесений. Структуры углеводных фрагментов по атому С-28 в этих гликозидах оказались такими же, как в гликозидах G_{3a} и G_{3b}.

Таблица 1.

Химические сдвиги углеводных фрагментов по С-28 атому углерода агликона

Номер атома	G ₂		G _{3a}		G _{3b}		G ₁	
	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H
	Glc'		Glc''		Glc''		Glc''	
1	95,7	6,15	95,6	6,12	95,5	6,12	95,7	6,19
2	73,8	4,09	73,7	4,08	73,7	4,08	73,9	4,11
3	78,6	4,20	78,4	4,20	78,4	4,20	78,7	4,20
4	70,8	4,28	70,6	4,26	70,7	4,26	70,9	4,26
5	78,0	4,06	77,9	4,04	77,8	4,04	78,1	4,08
6	69,4	4,29 4,62	69,0	4,28 4,59	69,1	4,28 4,59	69,2	4,31 4,64
	Glc''		Glc'''		Glc'''		Glc'''	
1	104,9	4,95	104,5	4,94	104,7	4,88	104,8	4,99
2	75,3	3,90	75,3	3,88	75,2	3,86	75,5	3,91
3	76,5	4,09	76,2	4,07	76,2	4,02	76,5	4,13
4	78,4	4,30	77,1	4,36	78,0	4,28	77,6	4,40
5	77,1	3,62	77,0	3,59	76,8	3,49	77,3	3,63
6	61,3	4,04 4,17	61,0	4,05 4,23	61,2	4,05 4,14	61,3	4,05 4,18
	Rha'''		Rha''''		Rha''''		Rha''''	
1	102,8	5,75	98,9	5,64	102,4	5,71	102,2	5,84
2	72,5	4,64	74,2	5,75	70,0	4,76	72,5	4,63
3	72,7	4,50	70,3	4,63	76,1	5,77	70,4	4,54
4	73,9	4,29	74,0	4,17	70,7	4,46	76,0	5,78
5	70,4	4,86	70,0	4,95	70,4	4,95	67,5	4,97
6	18,6	1,65	18,3	1,66	18,4	1,64	18,0	1,43

Таким образом, E_{1a} и E_{1b} представляют собой 28-О-(2-О-ацетил- и 3-О-ацетил- α -L-рамнопиранозил)-(1 \rightarrow 4)-О- β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)-О- β -D-глюкопиранозиды 23-гидроксибетулиновой кислоты, соответственно. Гликозиды присутствуют во фракции в молярном отношении 1:1, что следует из отношения интегральных интенсивностей сигналов одних и тех же С-атомов в изомерных углеводных фрагментах.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ

Агликоны тритерпеновых гликозидов, выделенных нами из *Cussonia paniculata*, относятся к β-амириновому (1), α-амириновому (2) и лупановому (3) рядам (табл. 2):

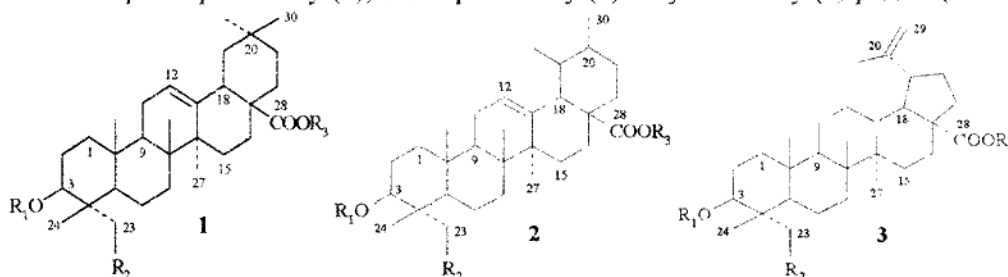


Таблица 2.

Структуры тритерпеновых гликозидов из листьев *Cussonia paniculata*

Гликозид	Тип агликона	R ₁	R ₂	R ₃
B ₁	1	Ara→	H	H
B ₂	2	Ara→	H	H
C	1	Ara→	OH	H
D	1	Glc→ ² Ara→	H	H
*E _{1a}	3	H	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ² ←OAc
*E _{1b}	3	H	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ³ ←OAc
*E _{2a}	1	H	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ² ←OAc
*E _{2b}	1	H	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ³ ←OAc
*F _{1a}	1	Ara→	H	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ² ←OAc
*F _{1b}	1	Ara→	H	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ³ ←OAc
*F _{2a}	2	Ara→	H	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ² ←OAc
*F _{2b}	2	Ara→	H	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ³ ←OAc
*G ₁	1	Ara→	OH	←Glc ⁵ ←Glc ⁴ ←Rha ⁴ ←OAc
*G ₂	2	H	OH	←Glc ⁵ ←Glc ⁴ ←Rha
*G _{3a}	1	Ara→	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ² ←OAc
*G _{3b}	1	Ara→	OH	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ³ ←OAc
H ₁	1	Ara→	H	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
H ₂	2	Ara→	H	←Glc ⁵ ←Glc ⁴ ←Rha
I ₁	1	GlcUA→	H	H
I ₂	1	Ara→	OH	←Glc ⁶ ← ¹ Glc ⁴ ← ¹ Rha
*I _{3a}	1	Glc ¹ → ² Ara→	H	←Glc ⁶ ← ¹ Glc ⁴ ← ¹ Rha ² ←OAc
*I _{3b}	1	Glc ¹ → ² Ara→	H	←Glc ⁶ ← ¹ Glc ⁴ ← ¹ Rha ³ ←OAc
J _{1a}	1	Glc ¹ → ² Ara→	OH	←Glc ⁶ ← ¹ Glc ⁴ ← ¹ Rha ² ←OAc
J _{1b}	1	Glc ¹ → ² Ara→	OH	←Glc ⁶ ← ¹ Glc ⁴ ← ¹ Rha ³ ←OAc
J ₂	1	GlcUA→	OH	←Glc
K	1	Glc ¹ → ² Ara→	H	←Glc ⁶ ← ¹ Glc ⁴ ← ¹ Rha
L ₁	1	Glc ¹ → ² Ara→	OH	←Glc ⁶ ← ¹ Glc ⁴ ← ¹ Rha
L ₂	1	Glc ¹ → ² GlcUA→	H	←Glc

Примечание: условные обозначения Glc – β-D-глюкопиранозид, Rha – α-L-рамнопиранозид, Ara – α-L-арабинопиранозид, GlcUA – β-D-глюкуронопиранозид; символом (*) обозначены новые гликозиды.

ВЫВОДЫ

С использованием методов одно- и двумерной спектроскопии ЯМР установлено строение тритерпеновых гликозидов из листьев *Cussonia paniculata*.

Список литературы

1. Hostettmann K., Marston A. Saponins. - Cambridge: Cambridge University Press, 1995. - P. 177-197.
2. Довгий И.И., Гришконец В.И. Тритерпеновые гликозиды листьев *Cussonia paniculata* // Учёные записки ТНУ. Биология, химия. - 2005. - Т. 18 (58), №2. - С. 38-42.
3. Довгий И. И., Гришконец В. И., Качала В. В., Шапков А. С. Тритерпеновые гликозиды *Cussonia paniculata*. I. Выделение и установление строения гликозидов А, В₁, В₂, С, D, G₂, Н₁ и Н₂ // Химия природ. соедин. - 2005. - №2. - С. 160-163.
4. Гришконец В. И., Довгий И. И., Качала В. В., Шапков А. С. Тритерпеновые гликозиды *Cussonia paniculata*. II. Ацетилированные гликозиды из листьев *Cussonia paniculata* // Химия природ. соедин. - 2005. - №4. - С. 351-356.
5. Гришконец В. И., Соболев Е. А., Шапков А. С., Чирва В. Я. Тритерпеновые гликозиды *Fatsia japonica*. Выделение и установление структуры гликозидов из листьев // Химия природ. соедин. - 2000. - №5. - С. 395-398.
6. Качала В. В., Столяренко А. С., Гришконец В. И., Шапков А. С. Тритерпеновые гликозиды *Scheffleropsis angkae*. Структура гликозидов L-C₂ и L-I₂ // Химия природ. соедин. - 2000. - №6. - С. 445-447.
7. Kitajima J., Shindo M., Tanaka Y. Two new triterpenoid sulfates from the leaves of *Shefflera octophylla* // Chem. Pharm. Bull. - 1990. - №38. - P. 714.
8. Kizu H., Tomimori T. Studies on the constituents of *Clematis* species. V. On the saponins of root of *Clematis chinensis* Osbeck // Chem. Pharm. Bull. - 1982. - Vol. 30, № 9. - P. 3340-3346.

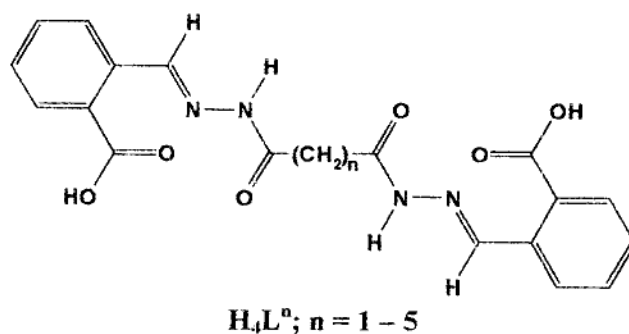
Поступила в редакцию 01.03.2006 г.

УДК 546.562 + 547.288.3

ДИМЕРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ МЕДИ(II) НА ОСНОВЕ АЦИЛДИГИДРАЗОНОВ ФТАЛЕВОГО АЛЬДЕГИДА

Обух А. И., Шульгин В. Ф., Ларин Г. М.

В последнее время повышенное внимание уделяется исследованию обменных взаимодействий в биядерных комплексах меди(II), координационные полиэдры которых соединены углеводородным мостиком. Особый интерес представляют димеры с алифатическим спейсером, хорошо растворимые в малополярных органических растворителях, что позволяет исследовать данные комплексы методами спектроскопии ЭПР в жидких растворах. Удобным классом органических лигандов, позволяющим получать комплексы с алифатическим спейсером, являются гидразоны дикарбоновых кислот. К настоящему времени в литературе описаны три класса спейсерированных димеров со слабым антиферромагнетизмом, синтезированные на основе ацилдигидразонов β -дикетонных [1 – 4], салицилового альдегида [5 – 9] и 2-гидроксиацетофенона [10 – 11]. Задачей настоящей работы является синтез и исследование методом ЭПР биядерных комплексов ацилдигидразонов фталового альдегида (H_4L^n).



МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ацилдигидразоны фталового альдегида синтезированы по следующей методике. К суспензии, содержащей 10 ммоль дигидразида соответствующей дикарбоновой кислоты (от малоновой до пимелиновой) в 50 мл EtOH, добавили 20 ммоль фталового альдегида. Смесь кипятили при перемешивании на магнитной мешалке до полного растворения дигидразида (1-3 часа). Выпавший осадок отфильтровали, промыли этанолом и высушили на воздухе. Выход

ацилдигидразонов составил 85-90 %. Строснис полученных соединений было доказано методом ИК- и ПМР-спектроскопии.

Синтез исследуемых координационных соединений осуществлён следующим образом. К суспензии 5 ммоль соответствующего ацилдигидразона в 40 мл этанола добавили 10 ммоль моногидрата ацетата меди(II) и 0,5 мл 25 % раствора аммиака. Полученную смесь перемешивали при слабом нагревании до исчезновения кристаллов соли (3-5 часа). Выделившееся мелкокристаллическое вещество светло-зелёного цвета отфильтровали, промыли этанолом, высушили и растворили в избытке пиридина. Полученный раствор отфильтровали, фильтрат упарили и сушили на воздухе до исчезновения запаха пиридина. Полученные комплексы представляют собой мелкокристаллические вещества тёмно-зелёного цвета, плохо растворимые в воде и спирте, хорошо растворимые в пиридине. По данным элементного и термогравиметрического анализа состав комплексов отвечает формуле $Cu_2L^n \cdot nPy \cdot mSolv$ (где H_4L^n - соответствующий ацилдигидразон, номер соединения совпадает с длиной полиметиленовой цепочки).

$Cu_2L^1 \cdot 4Py \cdot 2EtOH$ (I). Найдено, %: C – 55,69; H – 4,77; Cu – 12,98. Для $C_{43}H_{44}Cu_2N_8O_8$ вычислено, %: C – 55,65; H – 4,67; Cu – 13,70. (ν_{max}, cm^{-1}): $\nu(C=N)$ - 1650, $\nu(N=C-O)$ - 1490.

$Cu_2L^2 \cdot 2Py \cdot 2EtOH \cdot 2H_2O$ (II). Найдено, %: C – 50,09; H – 5,84; Cu – 15,26. Для $C_{34}H_{44}Cu_2N_8O_8$ вычислено, %: C – 49,93; H – 5,14; Cu – 15,55. (ν_{max}, cm^{-1}): $\nu(C=N)$ - 1660, $\nu(N=C-O)$ - 1500.

$Cu_2L^3 \cdot 4Py \cdot EtOH \cdot 3H_2O$ (III). Найдено, %: C – 53,80; H – 4,44; Cu – 12,84. Для $C_{43}H_{44}Cu_2N_8O_8$ вычислено, %: C – 53,57; H – 4,98; Cu – 13,19. (ν_{max}, cm^{-1}): $\nu(C=N)$ - 1655, $\nu(N=C-O)$ - 1490.

$Cu_2L^4 \cdot 2Py \cdot 2EtOH$ (IV). Найдено, %: C – 51,70; H – 4,55; Cu – 14,56. Для $C_{43}H_{44}Cu_2N_8O_8$ вычислено, %: C – 51,36; H – 4,75; Cu – 15,10. (ν_{max}, cm^{-1}): $\nu(C=N)$ - 1650, $\nu(N=C-O)$ - 1490.

$Cu_2L^5 \cdot 3Py \cdot EtOH \cdot H_2O$ (V). Найдено, %: C – 54,40; H – 4,72; Cu – 14,58. Для $C_{43}H_{44}Cu_2N_8O_8$ вычислено, %: C – 54,78; H – 5,13; Cu – 14,50. (ν_{max}, cm^{-1}): $\nu(C=N)$ - 1640, $\nu(N=C-O)$ - 1500.

Термограммы записаны на Q-дериватографе системы Паулик-Паулик-Эрдей в статической воздушной атмосфере, скорость нагревания 10 °С/мин, держатель образца - керамический тигель без крышки, эталон - прокаленный оксид алюминия. ИК-спектры образцов, спрессованных с KBr, исследованы в диапазоне 4000-400 cm^{-1} на спектрофотометре Specord - 75IR. Спектры ЭПР записаны на приборе ADANI PS 100.X в X-диапазоне при концентрации комплексов $1 \cdot 5 \cdot 10^{-3}$ моль/л. В качестве растворителя использована смесь пиридина с толуолом (1 : 5 по объёму). Теоретическое моделирование спектров выполнено с помощью комплекса программ, описанного в монографии [12]. Параметры спектров ЭПР определены при сравнении экспериментальных спектров с теоретическими, построенными путём суммирования формы линий индивидуальных переходов, центрированных вокруг резонансного поля (H_r). В качестве функции формы линий использовалась

ДИМЕРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ МЕДИ(II) НА ОСНОВЕ АЦИЛДИГИДРАЗОНОВ

сумма функции Лоренца и Гаусса. В соответствии с теорией релаксации одноцентровые вклады в ширину линии задавались выражением

$$\Delta H_p(i) = \alpha + \beta m_i + \gamma m_i^2 \quad (1)$$

где m_i – проекция ядерного спина; α , β и γ – параметры ширины линии.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По данным термогравиметрического анализа процесс десольватации соединений I-V протекает в интервале температур от 30°C до 220-260°C и сопровождается слабым экзотермическим эффектом (табл. 1). Сразу же после окончания процесса десольватации начинается термоокислительная деструкция органического лиганда. Процесс сопровождается сильным экзотермическим эффектом с максимумом на кривой ДТА при 480-490°C и заканчивается при 520-580°C.

Таблица 1.

Результаты термогравиметрического анализа

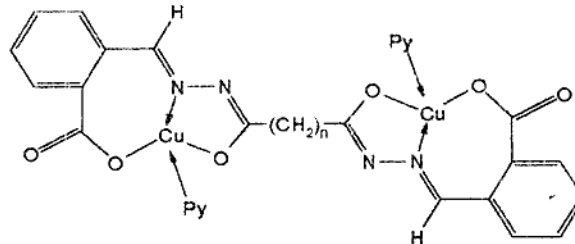
Соединение	Десольватация		Разложение	
	Интервал температур по ТГ, °С	T_{\min} на кривой ДТА, °С	Интервал температур по ТГ, °С	T_{\max} на кривой ДТА, °С
I	30-220	180 (-)	220-580	480 (+)
II	30-250	140 (-)	250-520	480 (+)
III	30-220	110 (-)	220-540	480 (+)
IV	30-240	140 (-)	240-520	480 (+)
V	30-260	100 (-)	260-540	490 (+)

(-) – эндотермический эффект;

(+) – экзотермический эффект.

Анализ ИК-спектров соединений I-V свидетельствует о переходе лиганда в четырёхкратно депротонированную имидольную форму. В спектрах комплексов исчезает полоса “амид-I”, наблюдаемая в ИК-спектрах свободных ацилдигидразонов фталевого альдегида при 1640-1630 см^{-1} , и появляются две новые полосы поглощения с максимумами в области 1620-1590 см^{-1} (валентные колебания группировки $>\text{C}=\text{N}-\text{N}=\text{C}<$) и 1500-1490 см^{-1} (валентные колебания связи углерод-кислород $-\text{N}=\text{C}-\text{O}-$), а так же регистрируется новая полоса в области $\sim 1650 \text{ см}^{-1}$ (валентные колебания связи $\text{C}=\text{N}$ группы $-\text{N}=\text{C}-\text{O}-$), что в совокупности данных свидетельствует о депротонировании атома азота гидразонной группировки и координировании атома кислорода карбонильной группы лиганда в процессе комплексообразования с образованием 5 и 7-членных хелатных циклов.

Спектры ЭПР жидких растворов комплексов I-V содержат изотропный сигнал из четырех линий сверхтонкой структуры (СТС) с соотношением интенсивностей 1:1:1:1 (рис. 1,а) и параметрами $g = 2.129-2,142$, $A = 49.7-52.9 \text{ Гс}$, который является обычным для моноядерных комплексов меди(II).



В спектрах ЭПР замороженных при 77 К растворов комплексов I-V (рис. 1,б) наблюдается анизотропный сигнал, характерный для систем с аксиальной симметрией ($g_{\parallel} = 2.36$ и $g_{\perp} = 2.03$). В параллельной ориентации проявляется СТС от ядра одного атома меди с константой $A = 155-160$ Гс, что указывает на отсутствие обменных взаимодействий между парамагнитными центрами. При этом с изменением длины полиметиленовой цепочки общий вид спектра, параметры спин-гамильтониана и параметры ширины линий заметно не изменяются (табл. 2).

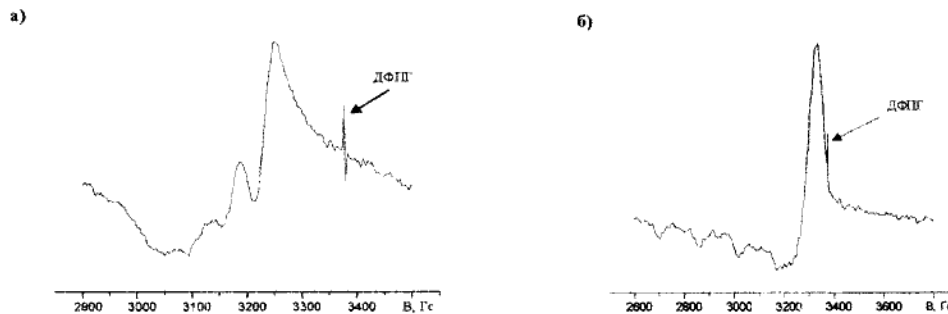


Рис. 1. Спектры ЭПР раствора комплекса меди(II) на основе ацилдигидразона малоновой кислоты и фталевого альдегида при 293 К (а) и 77 К (б).

Подавление слабых обменных взаимодействий, между парамагнитными центрами в исследуемых комплексах, можно объяснить уменьшением спиновой плотности в координационном полиэдре, за счет отрицательного индуктивного эффекта атомов кислорода карбоксильной группировки лиганда.

Таблица 2.
Параметры спектров ЭПР спейсерированных димеров меди(II) на основе ацилдигидразонов фталевого альдегида

Соединение	g	$a_{Cu} \cdot 10^4, \text{см}^{-1}$	$\delta, \%$	g_{\parallel}	$A_{\parallel}, \text{Гс}$	g_{\perp}
I	2.142	51.8	4.9	2.34	158	2.04
II	2.139	49.7	3.5	2.37	160	2.04
III	2.129	50.6	4.1	2.37	155	2.03
IV	2.142	51.9	3.1	2.37	160	2.03
V	2.142	52.9	3.1	2.37	158	2.03

ВЫВОДЫ

Синтезирован и изучен новый тип спейсерированных димеров меди(II), в которых координационные полиэдры связаны алифатическим спейсером разной длины. В спектрах ЭПР исследуемых биядерных комплексов отсутствуют признаки слабых обменных взаимодействий между парамагнитными центрами.

Список литературы

1. Антиферромагнитный обмен по цепочке σ -связей в биядерных комплексах меди(II) / Г.М. Ларин, Б.Б. Умаров, В.В. Минин и др. // Докл. АН СССР. – 1988. – Т. 303. – С. 139-144.
2. Ларин Г.М., Минин В.В., Ракитин Ю.В. Идентификация методом ЭПР очень слабых обменных взаимодействий в биядерных комплексах меди // Неорган. материалы. – 1994. – Т. 30. – № 11. – С. 1424-1428.
3. Слабые обменные взаимодействия в комплексах меди с дигидразами ацетилацетона и дикарбоновых кислот / Г.М. Ларин, В.Ф. Шульгин, Е.А. Сарнит и др. // Координац. химия. – 1999. – Т. 25. – № 5. – С. 356-358.
4. Исследование методом ЭПР слабых обменных взаимодействий в биядерных комплексах меди(II) с ацилдигидразами фторированных β -дикетонов / Г.М. Ларин, В.Ф. Шульгин, Е.Д. Мельникова и др. // Известия РАН. Серия химическая. – 2002. – № 4. – С. 585-589.
5. Шульгин В.Ф., Сарнит Е.А., Ларин Г.М. Координационные соединения меди(II) с бис(салицилиден)гидразами дикарбоновых кислот // Координац. химия. – 1998. – Т. 24. – № 3. – С. 222-227.
6. Larin G.M., Shul'gin V.F., Sarnit E.A. Weak long-range spin-spin exchange interaction in a copper(II) complex // Mendeleev Commun. – 1999. – № 4. – P. 129-130.
7. Ларин Г.М., Шульгин В.Ф., Сарнит Е.А. Структура и спектр ЭПР биядерного комплекса меди(II) с бис(салицилиден)гидразоном глутаровой кислоты // Журн. неорган. химии. – 2000. – Т. 45. – № 6. – С. 1007-1012.
8. Синтез и исследование методами спектроскопии ЭПР внутрикомплексных соединений меди(II) с арилзамещенными салицилиденгидразами дикарбоновых кислот / В.Ф. Шульгин, Е.А. Сарнит, Г.М. Ларин и др. // Укр. хим. журн. – 2000. – Т. 66. – № 11. – С. 10-13.
9. Исследование методом ЭПР слабых обменных взаимодействий в биядерных комплексах меди(II) с салицилиденгидразами / Г.М. Ларин, В.Ф. Шульгин, Е.А. Сарнит и др. // Известия РАН. Серия химическая. – 2001. – № 5. – С. 777-783.
10. Исследование слабых обменных взаимодействий в биядерных мономерных комплексах меди(II) с ацилдигидразами 2-оксиацетофенона методами спектроскопии ЭПР / В.Ф. Шульгин, А.Н. Гусев, Г.М. Ларин и др. // Известия РАН. Серия химическая. – 2002. – № 12. – С. 2107-2111.
11. Спектры ЭПР комплексов меди(II) с ацилдигидразами 2-гидрокси-5-метил- и 2-гидрокси-5-хлорацетофенона / В.Ф. Шульгин, А.Н. Гусев, Г.М. Ларин и др. // Известия РАН. Серия химическая. – 2003. – № 6. – С. 1230-1233.
12. Ракитин Ю.В., Ларин Г.М., Минин В.В. Интерпретация спектров ЭПР координационных соединений. – М.: Наука, 1993. – 399 с.

Поступила в редакцию 24.02.2006 г.

УДК 581.207:547.918

ПРОТИВОГРИБКОВАЯ И ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КАЛОПАНАКСА СЕМИЛОПАСТНОГО

Панов Д.А., Гришкoveц В.И., Курсанова М.А., Криворутченко Ю.Л.

Хорошо известно, что лечение и профилактика грибковых инфекций – одна из наиболее острых проблем в современной медицине. Всемирная Организация Здравоохранения рассматривает ее как одну из наиболее приоритетных [1]. Однако, несмотря на возросшие возможности современной противогрибковой терапии, при лечении микозов возникают определенные проблемы, связанные с резистентностью штаммов патогенных грибов и наличием ряда побочных эффектов у активных синтетических препаратов при длительном лечении. В этой связи не ослабевает интерес и к природным соединениям с фунгицидной активностью.

Тритерпеновые гликозиды уже давно известны в качестве таких веществ природного происхождения. В частности, работы Леви и др. [2] по изучению противогрибковой активности гликозидов показали, что она присуща довольно широкому ряду как тритерпеновых, так и стероидных гликозидов, и что хорошо прослеживается корреляция между противогрибковой и гемолитической активностями. Этими же авторами было обнаружено, что тритерпеновые гликозиды обладают высокой активностью как в отношении растительных патогенных грибов (*Fusarium*, *Trichoderma*, *Sclerotium*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Phytophthora* spp. и т. д.), так и в отношении грибов, являющихся патогенными для человека (виды *Trichophyton*, *Microsporma*, *Microsporum*, *Candida* и т. д.).

Кандидомикозы, вызываемые чаще всего видами *Candida albicans*, *C. tropicalis* и *C. krusei*, по мнению Петри [3] являются наиболее распространенными грибковыми патологиями у людей. Тритерпеновые гликозиды, активные в отношении различных патогенных видов рода *Candida*, к настоящему времени обнаружены в растениях *Solidago virgaurea* (*Asteraceae*) [4], *Primula acaulis* (*Primulaceae*) [5], *Hedera helix* (*Araliaceae*) [6] и в морских животных организмах – различных видах рода *Holothuria* [7].

Задачей данной работы является изучение биологического действия (противогрибковой и гемолитической активности) монодесмозидных тритерпеновых гликозидов, выделенных из разновидностей калопанакса семилопастного – *Kalopanax septemlobum* (Thunb.) Koidz. var. *maximowiczii* (Van Houtte) Nara [8, 9] и *K. septemlobum* var. *typicum* (Nakai) Pojark [10, 11].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Противогрибковая активность оценивалась на музейном штамме *Candida albicans* (ССМ 885). Противогрибковую активность гликозидов определяли методом серийных разбавлений на жидкой питательной среде Сабуро, содержащей в 1 л раствора 10,0 г мясного пептона и 40,0 г глюкозы (рН 7,5) и тритерпеновые гликозиды в концентрации от 20 до 2000 мкг/мл. Исходные растворы гликозидов также готовились на среде Сабуро. Монодесмозидные гликозиды предварительно переводились в натриевые соли действием примерно 100% избытка 2%-ного раствора Na_2CO_3 при нагревании с последующим разбавлением средой Сабуро. Все среды и растворы гликозидов стерилизовались в автоклаве. Для определения антимикробного действия в подготовленные растворы гликозидов добавлялась культуральная жидкость до достижения концентрации около 100 млн. клеток/мл и растворы выдерживались в термостате при 28°C в течение 48 ч., после чего по мутности оценивалась интенсивность развития микроорганизмов.

Изучение гемолитической активности тритерпеновых гликозидов *in vitro* проводили по методике [12] с использованием 2%-ной суспензии эритроцитов крови свиньи, промытых физиологическим раствором (0,89%-ный раствор NaCl), в изотоническом фосфатном буфере со значением рН 7,6. Гликозиды растворяли в том же фосфатном буфере. В эксперименте смешивали одинаковые объемы раствора гликозида и суспензии эритроцитов. Смесь выдерживали 30 минут при комнатной температуре. Негемолизированные эритроциты удаляли из смеси центрифугированием при 3000 об/мин. Концентрацию гемоглобина в супернатанте определяли фотометрически при λ_{max} 577 нм и оптической толщине слоя в 1 см. Определялись молярные концентрации гликозидов, вызывающие 50% гемолиз эритроцитов (HC_{50}). Полному гемолизу, достигавшемуся высокими концентрациями препарата "Saronin" соответствовало значение оптической плотности $D=0,90$ (в максимуме полосы поглощения), а 50% гемолизу – 0,45.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты экспериментов по определению минимальных ингибирующих рост грибов концентраций (МИГ) и гемолитической активности тритерпеновых гликозидов представлены в табл. 1.

Высокую активность в отношении музейного штамма *C. albicans* проявили гликозиды 1–7. Но наиболее перспективными для дальнейших более углубленных исследований являются гликозиды 1–3, для которых значение МИГ составило 0,10–0,14 мкмоль/л (50–75 мкг/мл). Это существенно меньше, чем действующие концентрации таких часто употребляемых антисептиков как хлоргексидин (100 мкг/мл), мирамистин (100 мкг/мл), резорцин (2000 мкг/мл), иодоформ (1000 мкг/мл) [13]. Однако в экспериментах *in vitro* ряд монодесмозидных гликозидов, содержащих один или два сахарных остатка (8 – 10), не обнаруживали какой-либо активности в диапазоне исследованных концентраций до 2 мкмоль/л, хотя они и проявляли невысокую гемолитическую активность. В целом в исследованном ряду

монодесмозидных гликозидов прослеживается корреляция между антифунгальной и гемолитической активностью.

Таблица 1.

Минимальные ингибирующие концентрации (МИК, мкмоль/л) тритерпеновых гликозидов из *Kalopanax septemlobum* в отношении музейного штамма *Candida albicans* и концентрации, вызывающие 50%-ный гемолиз (НС₅₀) эритроцитов

Соединение	Структура гликозида	МИК, мкмоль/л	НС ₅₀ , мкмоль/л
1	Rha→2Ara→3OleanA	0,14	3
2	Rha→2Ara→3EchinA	0,13	5
3	Rha→2Ara→3Hed	0,10	6
4	Xyl→3Rha→2Ara→3OleanA	0,17	9
5	Xyl→3Rha→2Ara→3Hed	0,17	10
6	Glc→4Xyl→3Rha→2Ara→3OleanA	0,19	8
7	Glc→4Xyl→3Rha→2Ara→3Hed	0,17	10
8	Glc→2Ara→3Hed	–	20
9	Glc→3OleanA	–	8
10	Glc→2Glc→3OleanA	–	10

Примечание: Rha – α-L-Rha_p; Ara – α-L-Ara_p; Xyl – β-D-Xyl_p; Glc – β-D-Glc_p;
OleanA – олеаноловая кислота;
EchinA – эхиноцистовая кислота;
Hed – хедерагенин.

ВЫВОДЫ

1. У ряда монодесмозидных гликозидов из *Kalopanax septemlobum* выявлена фунгицидная активность в отношении патогенных для человека грибов *Candida albicans*.

2. Определены минимальные ингибирующие концентрации для исследованных гликозидов.

3. Выявлены наиболее активные гликозиды – 3-O-α-L-рамнопиранозил-(1→2)-O-α-L-арабинопиранозиды хедерагенина, олеаноловой и эхиноцистовой кислот, перспективные для дальнейшего углубленного исследования.

Список литературы

1. Микозы в Европе // Отчет о совещании ВОЗ. – Гамбург (Германия). – 1983.
2. Levy M., Zehavi U., Naim M., Polachek I. An improved procedure for the isolation of medicagenic acid 3-O-β-D-glucuronopyranoside from alfalfa roots and its antifungal activities on plant pathogens // J. Agric. Food Chem. – 1986. – Vol.34. – P. 960-963.

ПРОТИВОГРИБКОВАЯ И ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

3. Petri M.G., Konig J., Moecke H.P. Epidemiology of invasive mycosis in ICU patients // *Intensive Care Med.* – 1997. – Vol.23. – P. 317-325.
4. Hiller K., Bader G., Schulten H.-R. Virgaurea Saponin I, ein neues bisdesmosidisches Triterpene Saponin aus *Solidago virgaurea* L. // *Pharmazie.* – 1987. – B.42. – S. 541-543.
5. Margineau C., Cucu V., Grecu L., Parvu C. Anticandida action of a saponin from *Primula* // *Planta Medica.* – 1976. – Vol.30. – P. 35-38.
6. Timon-David P., Julien J., Gasquet M., Balansard G., Bernard P. Recherche d'une activite antifongique de plusieurs principes actifs. Extraits du lierre grimpant: *Hedera helix* L. // *Ann. Pharmac. Fr.* – 1980. – Vol. 38. – P. 545-552.
7. Kitagawa I., Kobayashi M., Hori M., Kyogoku Y. Marine natural products. XVIII. Four lanostane-type triterpene oligoglycosides, bivittosides A, B, C and D, from Okinawan sea cucumber *Bohadschia bivittata* MITSUKURI // *Chem. Pharm. Bull.* – 1989. – Vol. 37, № 1. – P. 61-67.
8. Гришковец В.И., Панов Д.А., Качала В.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды *Kalopanax septemlobum* I. Гликозиды А, В, С, F, G₁, G₂, I₂, Н и J из листьев *Kalopanax septemlobum* var. *maximowiczii*, интродуцированного в Крыму // *Химия природ. соедин.* – 2005. – № 2. – С. 156-159. – ISSN-0023-1150.
9. Панов Д.А., Гришковец В.И., Качала В.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды *Kalopanax septemlobum* II. Гликозиды Е, К, и L из листьев *Kalopanax septemlobum* var. *maximowiczii*, интродуцированного в Крыму // *Химия природ. соедин.* – 2005. – № 3. – С. 260-262. – ISSN-0023-1150.
10. Панов Д.А., Гришковец В.И. Тритерпеновые гликозиды *Kalopanax septemlobum* IV. Гликозидный состав плодов растения, интродуцированного в Крыму // *Химия природ. соедин.* – 2005. – № 4. – С. 388-389. – ISSN-0023-1150.
11. Панов Д.А., Гришковец В.И., Качала В.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды *Kalopanax septemlobum* VI. Гликозиды из листьев *Kalopanax septemlobum* var. *typicum*, интродуцированного в Крыму // *Химия природ. соедин.* – 2006, № 1. – С. 40-43. – ISSN-0023-1150.
12. Naraba T., Yoshizaki M., Tomimori T., Kobashi K., Mitsui K., Hase J. Fundamental studies on the evaluation of the crude drugs (I). Hemolytic and its protective activity of Ginseng saponins // *Planta Medica.* – 1974. – Vol. 25. – P. 28-38.
13. Красильников А.П. Справочник по ангиотенгике. – Минск: Высшая школа, 1995. – 367 с.

Поступила в редакцию 01.03.2006 г.

УДК 547. 912: 594. .

ПРОСТОЙ СПОСОБ ПОДГОТОВКИ ПРОБ ДЛЯ АНАЛИЗА СОДЕРЖАНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В СИСТЕМЕ «ВЗВЕСЬ – МИДИИ – БИООТЛОЖЕНИЯ» МЕТОДОМ АТОМНОЙ АБСОРБЦИИ

Поспелова Н.В., Копытов Ю.П., Нехорошев М.В.

Анализ содержания тяжелых металлов в организме и окружающей среде представляет большой интерес, так как с одной стороны эти вещества выступают как загрязнители, с другой стороны -- как неотъемлемая часть организма и окружающей их среды.

Исследование содержания микроэлементов в гидробионтах – объектах марикультуры – связано с решением многих вопросов, один из которых – выявление общих биологических закономерностей поведения и миграции различных химических элементов в морских экосистемах и понимание биологической роли и функций следовых количеств металлов в физиолого-биохимических процессах. Двустворчатые моллюски-фильтраторы могут эффективно перемещать взвесь из воды в донные отложения, чем влияют на геохимические свойства осадков, геохимический цикл металлов в прибрежных водах в результате фильтрационной деятельности моллюсков [1].

Важным этапом биохимических исследований в этой области является разработка новых и совершенствование существующих методов определения микроэлементов в морской воде, взвешенном материале, донных осадках и гидробионтах, так как содержание многих микроэлементов в природных объектах довольно низкое. Химические методы анализа, положенные в основу таких экологических исследований, должны отвечать следующим требованиям: высокая чувствительность, хорошая воспроизводимость, а также возможность определения нескольких элементов в одной пробе.

Целью данной работы является разработка метода подготовки проб для определения тяжелых металлов (кадмия, цинка, свинца и меди) в системе «взвешенное вещество – мягкие ткани мидии – фекалии мидий». Этот подход позволяет выявить экологическую значимость мидийных хозяйств, оценить соответствие моллюсков, выращенных в марихозействе, санитарно-гигиеническим нормам, а также определить степень мелиорации среды (в отношении тяжелых металлов) в районе расположения марихозейства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования содержания металлов в системе «взвесь – моллюски – биоотложения» был использован метод атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией (ААС ЭТА) на спектрофотометре С-115 М1 в комплексе Графитом –5. Метод ААС ЭТА выгодно отличается от ААС с пламенной атомизацией своей очень высокой (на 1-2 порядка выше) чувствительностью [2], отсутствием необходимости работы с взрывоопасными газами, высокой степенью автоматизации (управление с ПК и компьютерная обработка данных, наличие автосамплера на 42 пробы). Для компенсации химических (матричных) помех в данном случае использовалась дейтериевая лампа. Для анализа использовали графики атомизации, указанные в [4].

Для определения металлов в мягких тканях моллюсков в качестве предварительной подготовки чаще всего используют сухую (при $t = 450^{\circ}\text{C}$) и кислотную минерализацию [5]. Нам необходимо было подобрать единую пробоподготовку для всех видов проб для сопоставимости результатов. Так как навески взвеси и биоотложений были минимальны (1-10 мг), поэтому была выбрана кислотная минерализация (табл.1).

Определенную проблему вызвал отбор взвешенного вещества, поскольку его содержание в воде было минимальным – 1-3 мг/л. Так как количество взвеси и, соответственно, содержание металлов в ней были малы, а чувствительность метода достаточно высока, незначительное загрязнение извне приводит к недостоверности результатов, и к фильтрам предъявлялись особые требования. При попытке использовать стекловолокнистые фильтры GF/C с размером пор 0,8 мк были получены отрицательные результаты чистоты. Фильтры промывали 100 мл горячей азотной кислоты различной концентрации (1,25%, 1,7%, 2,5%, 5%) затем 50 мл бидистиллированной воды, однако избавиться от высоких фоновых значений металлов на фильтрах не удалось, а это дало бы высокую ошибку при анализе. Возможно, это связано с тем, что стекловолокнистые фильтры хорошо адсорбируют металлы.

Для дальнейших исследований мы использовали ядерные фильтры, так как они удовлетворяли всем требованиям для анализа взвеси на металлы, фоновые значения холостой пробы были достаточно низкими.

Используя подобранную нами методику подготовки проб (табл. 1), в ноябре 2003 г. провели исследования на экспериментальном марихозяйстве ИнБЮМ НАН Украины. Мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. размером 5 - 6 см на преднерестовой стадии отбирали с коллекторов и отделяли мягкие ткани от створки. Время прохождения пищи через кишечник моллюсков определяли, поместив последних в фильтрованную морскую воду с добавлением зеленой микроводоросли *Tetraselmis suecica* и заметив время от начала потребления корма до появления зеленых фекалий [6].

Таблица 1.

Подготовка проб и анализ содержания тяжелых металлов в них

Название этапа	Взвешенное вещество	Мягкие ткани мидий	Биоотложения
1. Отбор материала	1. Морскую воду отбирали в 20 – литровые бутылки с того же горизонта, что и моллюсков.	1. Моллюсков одной размерности на одной стадии половозрелости отбирали с коллекторов с одного горизонта.	1. Для сбора фекалий мидий сразу после отбора проб помещали в фильтрованную морскую воду на 24 ч для освобождения содержимого их желудков.
2. Подготовка к минерализации	2. Взвесь фильтровали через ядерные фильтры с размером пор 0,5 мк. Фильтры перед фильтрацией промывали 100 мл горячим 5% раствором HNO_3 , затем 50 мл бидистиллированной воды. За один раз фильтровали 1 литр морской воды, взвесь на фильтре промывали, затем смывали минимальным количеством бидистиллята (5-10 мл), раствор выпаривали, остаток высушивали до постоянной массы при $t = 105^\circ\text{C}$	2. Мягкие ткани мидий отделяли от створок раковины пластмассовым ножом и пинцетом, измеряли сырой и сухой вес тканей.	2. Собранные фекалии собирали пипеткой, дважды промывали бидистиллятом, высушивали до постоянной массы.
3. Минерализация	3. Кислотную минерализацию проводили в растворе концентрированной 65% HNO_3 марки «ОСЧ». Разложение проходит быстрее, если его проводить в автоклаве при $t = 120^\circ\text{C}$ и 2 атм., для чего посуда должна быть герметично закрыта. Если возможности использования автоклава нет, то разложение проводится выпариванием кислотных экстрактов на песчаной бане под навесом, чтобы исключить загрязнение проб. В пробирку с пробой вносили 2 мл HNO_3 и оставляли на ночь. Затем содержимое выпаривали, посуду охлаждали и вновь вносили 2 мл кислоты и упаривали. Процедуру повторяли, пока кислотные экстракты не становились бесцветными или светло-желтыми. Полученный минерализат выпаривали досуха, сухой остаток растворяли в бидистилляте (4-5 мл) и использовали для анализа. Параллельно проводили минерализацию добавляемых к навеске реактивов для контроля их чистоты.		
4. Особенности анализа			Для калибровки ААС на указанные элементы, которая проводится каждый раз при переходе от определения одного элемента к другому, очень удобным оказалось использование Государственного стандартного образца растворенных металлов ГСОРМ-28, в состав которого, помимо анализируемых нами 4 элементов, входит пятый – железо. Калибровка на Cd и Zn проводилась в диапазоне концентраций 1,25-5,0 мкг/л (по западной литературе – 1,25-5,0 ppb или part per billions), на Cu – 12,5-50,0 мкг/л, на Pb – 25,0-100 мкг/л. Погрешность метода, согласно нормативным документам [3], достаточно высока ($\pm 30\%$), что определяется очень высокой чувствительностью метода и сложной пробоподготовкой.

ПРОСТОЙ СПОСОБ ПОДГОТОВКИ ПРОБ ДЛЯ АНАЛИЗА

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве иллюстрации апробации метода показано содержание тяжелых металлов (Pb, Cu, Zn, Cd), регламентируемых медико-биологическими требованиями, в мягких тканях мидии *Mytilus galloprovincialis*, взвешенном веществе и биоседиментах мидий (табл. 2).

Таблица 2.
Содержание микроэлементов в системе «взвесь – мидии – биоотложения»,
мкг/г сухой массы

Проба	Cd	Pb	Cu	Zn
Взвешенное вещество	<u>62,8 - 187,7*</u> 125,4	<u>120,9 - 197,3</u> 152,2	<u>306,7 - 514,2</u> 370,0	<u>119,9 - 443,8</u> 286,8
Мягкие ткани мидии	<u>6,00 - 10,04</u> 7,5	<u>16,44 - 22,7</u> 18,9	<u>22,9 - 31,7</u> 28,2	<u>45,4 - 75,5</u> 60,6
Биоотложения мидий	<u>37,1 - 58,1</u> 42,0	<u>12,8 - 18,7</u> 14,6	<u>92,6 - 172,8</u> 138,2	<u>82,1 - 201,1</u> 124,9
ПДК для мидий	12	60	180	1200

*- в числителе – пределы колебания показателя; в знаменателе – среднее значение.

Из таблицы 2 видно, что содержание меди и цинка в моллюсках выше, чем кадмия и свинца, причем концентрация цинка в тканях мидии в 2 раза превышает содержание меди, в 3 раза – свинца и в 8 раз – кадмия. Высокие концентрации цинка в тканях моллюска объясняется более высоким содержанием его в среде, также он входит в состав ферментов (Zn – важный ферментный кофактор в организмах). Роль цинка в метаболизме белков настолько фундаментальна, что некоторые авторы сравнивают его с незаменимой аминокислотой [7].

Концентрация кадмия, меди, цинка в мягких тканях моллюска прямо пропорционально содержанию каждого элемента во взвешенном веществе (таблица 2). Как видно из приведенных данных, практически всегда среди исследованных металлов количественно преобладает цинк и медь, тогда как кадмий и свинец присутствуют в меньших количествах. Наблюдается сходство между микроэлементным составом мидий, составом взвеси и биоотложений. Подтверждается тенденция уменьшения концентрации микроэлементов в пищевой цепи фитопланктон – моллюски: в водной экосистеме наибольшей способностью концентрировать переходные и тяжелые металлы обладают взвешенное вещество и донные отложения, а затем следует бентос, рыбы [8].

Анализ содержания металлов показал значительное концентрирование цинка, кадмия, и меди в биоотложениях мидий – в 2, 6 и 4,5 раз соответственно - по сравнению с тканями. При этом концентрации всех металлов в тканях мидий с марихозайства не превышали ПДК для мяса моллюсков и ракообразных [9], что особенно важно для марикультуры. Полученные данные (табл.2) позволяют определить степень мелиорации среды марихозайством. Расчеты показывают, что 10000 мидий товарного размера с одного 8-метрового коллектора за сутки производят около 300 г сухого вещества или 109,5 кг в год. Таким образом, 1 га

фермы (1000 коллекторов) образует 109,5 тонн биоотложений в год и, следовательно, на небольшом участке в черте города мидии могут очистить среду за год от более 1,5 кг свинца и 4,7 кг кадмия в год только за счет биоотложений, не учитывая самой продукции.

Марикультура – выращивание моллюсков – в странах Черноморского бассейна находится еще на стадии развития, в отличие от стран Евросоюза, где в разрешенных для выращивания моллюсков зонах не должно быть химических загрязнителей и особенно важно, чтобы концентрации тяжелых металлов не превосходили ПДК для мяса мидий [10].

ВЫВОДЫ

Разработана методика подготовки проб для анализа содержания тяжелых металлов в системе «взвесь – мидии – фекалии» методом ААС ЭТА. Подобная пробоподготовка экономна по времени и расходу реактивов, а также создает мягкие условия разложения органического вещества.

Преобладающими металлами во всех пробах являются цинк и медь. Наблюдается сходство между микроэлементным составом мидий и составом взвеси и биоотложений. Показано значительное концентрирование цинка, кадмия, и меди в биоотложениях мидий, по сравнению с тканями моллюсков.

Список литературы

1. Wen-Xiong Wang, Fisher N.S. Assimilation of trace elements and carbon by the mussel *Mytilus edulis*: Effects of food composition // *Limnology and oceanography*. – 1996. – № 2 (41) – P. 197-207.
2. Современные методы анализа и оборудование в санитарно-гигиенических исследованиях. – М.: ФГУП «Иггерсэп», 1999. – 496с.
3. Методика выполнения измерений массовой концентрации Cd, Zn, Cu, Pb, As в пищевых продуктах. Атомно-абсорбционный метод с использованием электротермической атомизации МВВ 081/12 – 16 – 98. – Северодонецк: КНПП «Химвавтоматика – аналитприбор», 1998 – 64 с.
4. Ермаченко Л.А., Ермаченко В.М. Атомно-абсорбционный анализ с графитовой печью. Методическое пособие под редакцией заслуженного врача РСФСР, кандидата медицинских наук Подуновой Л.Г. – Москва, 1999 – 98 с.
5. ГОСТ 26929 – 94. Межгосударственный стандарт. Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов. Введ. 01.01.1998. 15 с.
6. Цихон-Луканина Е. А. Трофология водных моллюсков – М.: Наука, 1987. – 176 с.
7. Авцын А.П. Микроэлементозы человека // *Клиническая медицина*. – 1997. – №6 (65) – С. 36-44.
8. Патин С.А. Экологическая токсикология и биохимия загрязняющих веществ в мировом океане: автореф. дисс. ... докт. биол. наук. – М., 1977. – 52 с.
9. Збірник важливих офіційних матеріалів з санітарних і протиепідемічних питань // Видання офіційне. У шести томах. Том 1. – Київ, 1997. – 268 с.
10. Холодов В.И. Санитарный контроль моллюсков, выращиваемых в морских хозяйствах Украины и странах ЕС // *Рыбное хозяйство Украины*. – 2004. – №3/4. – С. 28-33.

Поступила в редакцию 01.03.2006 г.

УДК [551.46.09:504.42.054:65.6]574.5

АЭРОБНО-АНАЭРОБНЫЕ ПРОЦЕССЫ САМООЧИЩЕНИЯ КОНТАКТНЫХ ЗОН «СУША-МОРЕ» В АКВАТОРИИ СЕВАСТОПОЛЬСКИХ БУХТ

Рубцова С.И., Бурдиян Н.В., Беляева О.И.

В настоящее время имеются данные о численности и биохимических особенностях гетеротрофной микрофлоры в прибрежных наносах региона Севастополя [1, 2]. Изучена численность некоторых групп анаэробной микрофлоры в донных осадках акватории Севастополя [3, 4]. Работы по изучению анаэробной микрофлоры в прибрежных наносах Севастопольских бухт не проводились, хотя очевидно, что благодаря активности гидродинамических процессов, трансформация загрязнений в зоне прибоя будет протекать иначе, чем на глубине, где эти процессы ослаблены. Знание процессов преобразования органических веществ в аэробных и анаэробных условиях, в том числе нефти и нефтепродуктов, позволило бы более точно прогнозировать самоочищение морских акваторий от нефтяного загрязнения, включая прибрежные зоны до глубин 1,5 – 2 м.

Целью работы было изучение численности и закономерностей распределения гетеротрофных, углеводородокисляющих, тионовых, сульфатредуцирующих, денитрифицирующих групп бактерий в прибрежных наносах региона Севастополя и их роли в процессах самоочищения Севастопольских бухт.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отбор проб прибрежных наносов производили на шести станциях: в районе Приморского бульвара (бывший детский пляж), Северной стороне Севастопольской бухты (причал для катеров), бухте Круглая – на выходе из бухты и вершине последней, в районе Учкеевки (открытое море), бухте Казачьей (рис. 1). Места отбора проб отличались по физико-химическим показателям грунтов и степени антропогенного воздействия [2]. Пробы отбирали ежемесячно с 2003 по 2005 годы. Элементы прибрежных наносов для микробиологических анализов стерильно помещали в склянки с притертыми пробками. Количество изучаемых анаэробных микроорганизмов в пробе определяли методом предельных разведений [5]. Численность сульфатредукторов и денитрификаторов определяли на среде Постгейта и Гильтая [6], с учетом солености морской воды и добавлением в качестве восстановителя 3 %-ного раствора сернистого натрия. Тионовые бактерии определяли на среде Сорокина [7], нефтеокисляющих (НМО) и гетеротрофные (ГМО) бактерии по [1, 5]. Полученные результаты обработаны статистически [5].

Исследования в районе причала в бухте Казачьей проводили в период 2003 – 2005 гг. (рис. 1). Причал расположен перпендикулярно берегу. Он представляет бетонное гидротехническое сооружение длиной около 120 м, шириной - 10 м. У причала постоянно швартуются малотоннажные суда. Отбор проб производили на 16 станциях - 8 морских и 8 береговых. На береговых станциях отбирали пробы атмосферных осадков, грунтов и ливневых стоков, на морских станциях – пробы морской воды и донных осадков.

Отбор образцов дождевой воды (до попадания ее на землю) производили в стеклянные накопители осадков - кристаллизаторы. Ливневую воду собирали в стеклянные склянки в «точках» впадения стока в акваторию.

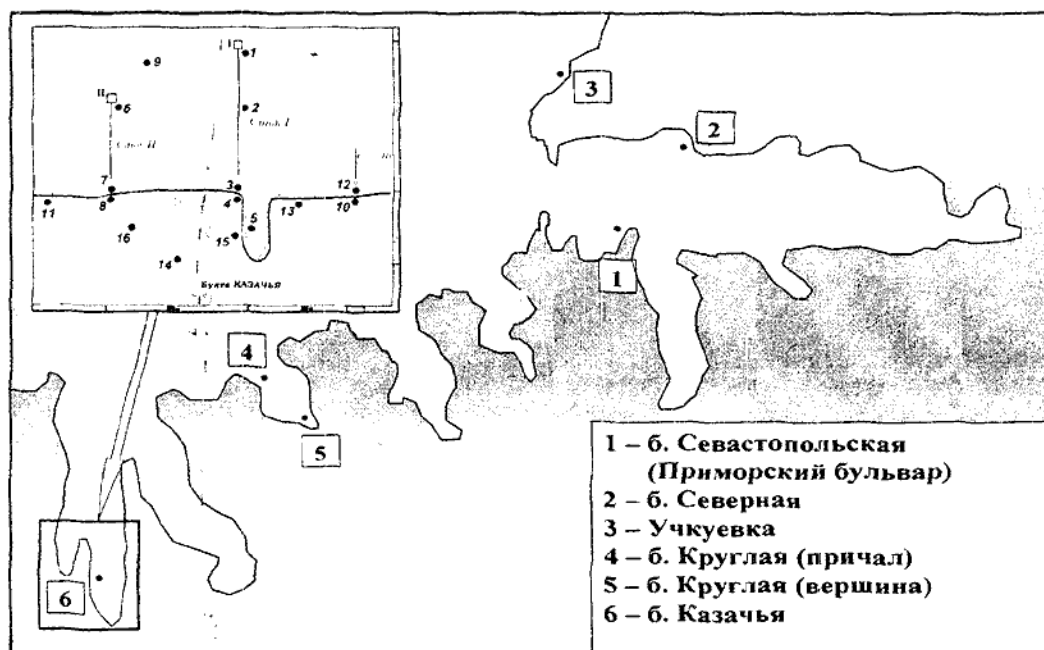


Рис. 1. Схема станций отбора проб в прибрежных наносах Севастопольских бухт

Там же отбирали пробы грунтов в стеклянные бюксы с помощью шпателя. Морскую воду отбирали в склянку. Отбор донных осадков производил водолаз с помощью ручного пробоотборника – стальной трубки. Водолаз проводил визуальный осмотр донной поверхности.

Хлороформэкстрагируемые вещества (ХЭВ) определяли весовым методом, нефтяные углеводороды (НУ) - методом инфракрасной спектрофотометрии на анализаторе SPECORD 75 IR [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основная часть прибрежных наносов представляла собой мелкую гальку и ракушняки с примесью ила; незначительную долю занимали пески или ракушняки с примесью песка и гравия.

Количество хлороформэкстрагируемых веществ и нефтяных углеводородов максимально на станциях в бухте Северная и вершине бухты Круглая (табл.1). Следует отметить высокую численность и родовое разнообразие гетеротрофных и нефтеокисляющих микроорганизмов на этих станциях.

Тионовые бактерии были выделены из всех отбираемых проб. Динамика численности этой группы бактерий на исследуемых станциях приведена на рис. 2.

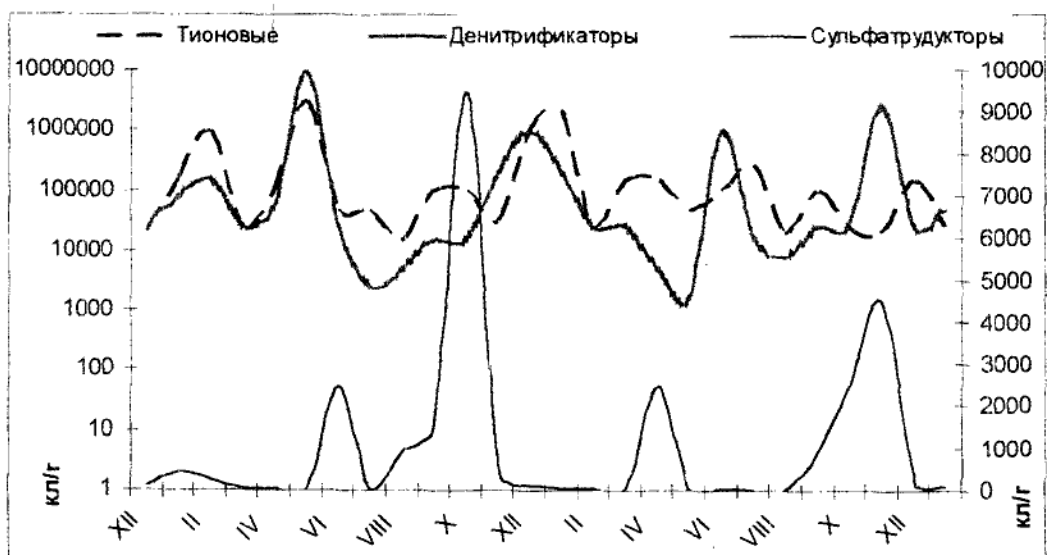


Рис. 2. Динамика численности изучаемых групп бактерий в прибрежных наносах исследуемых станций за 2003-2004 гг.

Численность тионовых бактерий в районе действующего причала (ст.2) на несколько порядков выше, чем на ст.1. Высокое число бактерий на ст.2 отмечено в мае 2003, 2004 гг., в сентябре 2003 и октябре 2004. Очевидно, что количество тионовых бактерий на этих станциях зависело не только от механического состава прибрежного наноса, но и от способности данной группы бактерий утилизировать труднодоступные органические соединения. Это подтверждает четко выраженная корреляционная зависимость между количеством хлороформэкстрагируемых веществ и численностью тионовых бактерий ($r=0,58$).

Ст. 5 и ст. 4 – расположены в бухте Круглая в районе вершины и выхода из бухты. Подробное описание прибрежных наносов этих станций представлено в [1]. Высокая численность тиобактерий на ст.5 определена в мае, октябре 2003 г. ($95 \cdot 10^5$, $15 \cdot 10^4$ кл/г). В марте, сентябре 2004 г. их количество составляло $25 \cdot 10^5$ кл/г. На ст.

2 – район открытого моря численность тионовых бактерий варьировала от 1 кл/г (декабрь 2002 г.) до максимальной $95 \cdot 10^4$ кл/г в декабре 2003 г.

Таблица 1.

Характеристика прибрежных наносов на станциях отбора проб

Параметр	Ст.1	Ст.2	Ст.3	Ст.4	Ст.5	Ст.6
Характеристика прибрежных наносов	мелкая галька с включениями песка, ракушки и ила	мелкая галька с включениями песка и ила	пески	мелкий галечник с крупным песком и обломками ракушки	пески с примесью тонкозернистых темных илов и остатками морской растительности	Крупнозернистые разнородности галька, крупный песок
pH	7,54	7,05-7,12	8,12	8,04	7,82	Не определяли
Eh, мВ	-124	-124	+176	+266	-35	Не определяли
Натуральная влажность, %	65,40	65,40	23,29	31,84	43,30	Не определяли
ХОВ, г/100г	0,08-0,015	0,107-0,125	0,002	0,01-0,03	0,032-0,275	0,4
НУ, мг/100г	следы	23,6-28,3	следы	следы	6,5-59,9	0,08
ГМО, кл/г	$9 \cdot 10^5$	$11 \cdot 10^6$	$45 \cdot 10^6$	$8 \cdot 10^6$	$21 \cdot 10^7$	$7 \cdot 10^5$
НМО, кл/г	$12 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^2$	$12 \cdot 10^2$	$31 \cdot 10^4$	$18 \cdot 10^2$
Родовая характеристика НМО	<i>Pseudomonas, Marinomonas, Mezophilobacter, Altheromonas, Microbacterium</i>	<i>Pseudomonas, Marinococcus, Azotobacter, Mezophilobacter, Bacillus, Anthonobacter</i>	<i>Pseudomonas, Altheromonas, Marinococcus</i>	<i>Pseudomonas, Mezophilobacter, Marinomonas</i>	<i>Pseudomonas, Mezophilobacter, Marinomonas, Marinococcus, Altheromonas, Microbacterium, Bacillus, Micrococcus, Vibrio</i>	Не определяли
Тионовые, кл/г	$68 \cdot 10^3$	$38 \cdot 10^6$	$58 \cdot 10^3$	$65 \cdot 10^4$	$35 \cdot 10^4$	$25 \cdot 10^2$
Денитрификаторы, кл/г	7	22	4	20	6150	750
Сульфатредукторы, кл/г	$13 \cdot 10^4$	$24 \cdot 10^3$	$14 \cdot 10^3$	$12 \cdot 10^4$	$6 \cdot 10^5$	95

На всех исследуемых станциях не была отмечена сезонная зависимость. Максимумы численности наблюдались в разные времена года. По-видимому, на количество этой группы бактерий в первую очередь влияет наличие органических соединений и процессов, приводящих к созданию анаэробных условий.

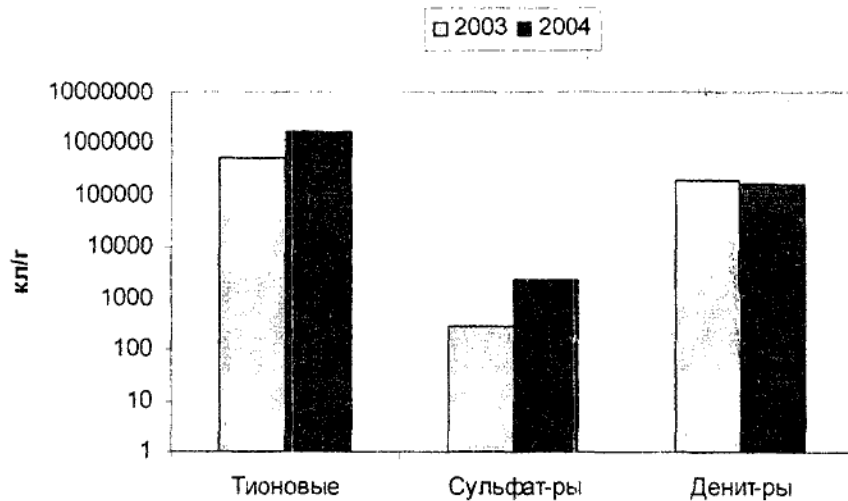
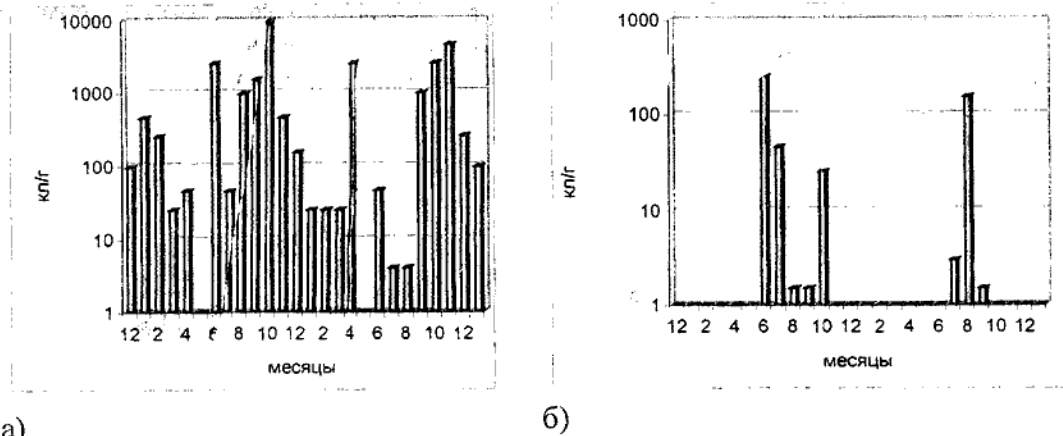


Рис. 3. Осредненные данные численности тионовых, сульфатредуцирующих и денитрифицирующих бактерий в прибрежных наносах Севастопольских бухт.

Сульфатредукторы были высеяны в 60 % всех проб в незначительных количествах. Исключение составляет ст.5, где данная группа выделена в 99 % проб (рис.4). На высокую численность данной группы бактерий на этой станции, по-видимому, оказывает влияние гранулометрический состав прибрежных наносов бухты Круглая. Влияние гранулометрического состава на численность бактерий было отмечено в [9].

Известно, что сульфатредукторы в процессе жизнедеятельности могут использовать только продукты метаболизма углеводородокисляющих бактерий, а не углеводороды нефти [4]. На ст. 5 была отмечена высокая численность нефтеокисляющих бактерий по сравнению с другими станциями (табл. 1). Сезонная динамика сульфатредуцирующих бактерий не отмечена. Максимум численности сульфатредукторов на ст. 4 были в октябре 2003, ноябре 2004 гг. и составляли 9500, 4500 кл/г, соответственно. В районе причала (ст. 4) максимальная численность выделена в июне 2003 г. (250 кл/г), августе 2004 г. (150 кл/г). На всех исследуемых станциях разница в численности сульфатредукторов составляла несколько порядков: от 0,4 кл/г до 150 кл/г. Следует отметить увеличение численности тионовых и сульфатредуцирующих бактерий в 2004 году по сравнению с 2003 годом (рис.3).



а)

б)

Рис. 4. Динамика численности сульфатредуцирующих бактерий на исследуемых станциях за 2003-2004 гг.: а) ст. 5, б) ст. 3.

Нефтеcодержащие стоки, попадая в морскую воду, смешиваются с ней. Концентрация загрязняющих веществ в морской воде составляла 0,6 мг/л ХЭВ и 0,1 мг/л НУ. Урзвень ХЭВ и НУ в донных осадках соответственно составлял 0,4 г/ 100 г сухого осадка и 0,08 г/ 100 г сухого осадка.

Так как критерием оценки загрязнения морской среды могут служить предельно-допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ, то соотношение средних показателей ПДК НУ для дождевой воды, ливневого стока, стока плавсредств и морской воды в районе тричала соответственно составляло 1,5 : 5,6 : 10 : 1,2.

По мере удаления от причала на 50 – 70 м содержание НУ в морской воде не превышало предельно-допустимую концентрацию. В донных отложениях отмечались следовые значения НУ. Граница нефтяного загрязнения заканчивалась на расстоянии 30 м от причальной стенки. Учитывая факт, что причал был построен 30 лет назад, можно рассчитать, что граница распространения нефтяного загрязнения увеличивалась примерно на 1 м в год.

Общая численность гетеротрофных бактерий в районе исследования в среднем составляла $2,0 \times 10^6$ кл/мл, биомасса – 0,41 мг/м³. Микроорганизмы были представлены в основном палочковыми и кокковыми формами, отмечено преобладание первых над вторыми в 5-6 раз. Максимальные значения численности бактерий и биомассы были отмечены в августе 2004 г. на станции 15, расположенной у причала, и они соответственно составили $5,8 \times 10^6$ кл/мл и 5500 мг/м³. Известно также, что максимальные значения численности бактерий в Севастопольской бухте приходились на летний период, что связано с повышением содержания органического вещества в морской воде [1].

Численность гетеротрофных и нефтеокисляющих бактерий в морской воде на станциях в бухте Казчьа составляла в среднем 10^2 кл/мл и 5 кл/мл, в донных осадках – $9,0 \times 10^5$ кл/г сырого грунта и $9,5 \times 10^2$ кл/г сырого грунта. Такая концентрация микроорганизмов характерна для относительно чистых акваторий.

Нами было начато исследование аэробно-анаэробных процессов в прибрежных наносах контактной зоны «суша-море». На станциях 2, 3, 4 в 2005 году велись наблюдения за численностью углеводородокисляющих, тионовых, сульфатредуцирующих, денитрифицирующих групп бактерий (рис. 5).

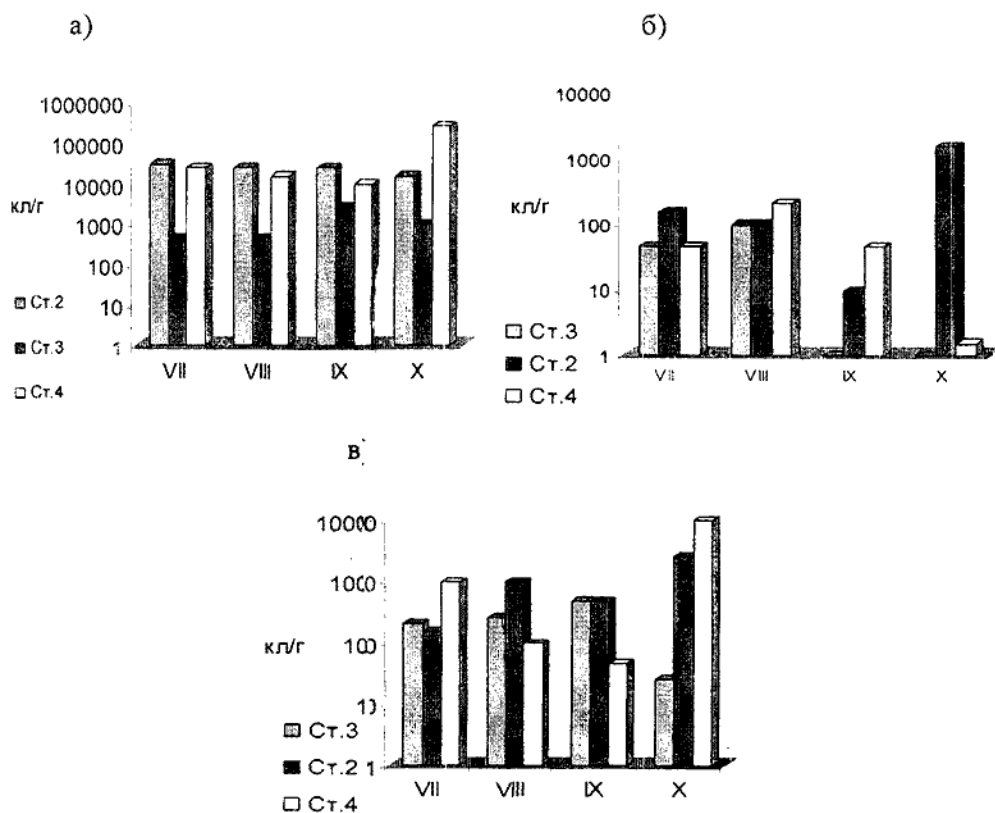


Рис. 5. Численность тионовых (а), сульфатредуцирующих (б), нефтеокисляющих (в) групп бактерий на ст. 2, 3, 4 в 2005 году.

После дождя потоки загрязняющих веществ смываются с суши и попадают в морскую воду. Отмечено увеличение численности нефтеокисляющих бактерий на ст. 3 (Учкуевка) на несколько порядков после обильных осадков. Следует отметить, что содержание нефтяных углеводородов на ст. Учкуевка представлено в следовых количествах. Высокий коэффициент корреляции ($r = 0,93$) между количеством тионовых и нефтеокисляющих групп бактерий позволяет предположить, что самоочищение морской среды от труднорастворимых веществ необходимо рассматривать в комплексе протекающих аэробных и анаэробных процессов утилизации органических соединений.

Качество морских вод прибрежной зоны г. Севастополя формируется под влиянием не только морского транспорта, но и береговых источников загрязнения, к числу которых относятся ливневые стоки [10, 11, 12]. Загрязнение ливневых

стоков напрямую связано с загрязнением земель и атмосферных осадков, что было показано в [11]. Основными источниками нефтяного загрязнения в районе причала бухты Казачья, которая в меньшей степени загрязнена нефтепродуктами [13, 14], являются атмосферные осадки, ливневый сток и сточные воды морского транспорта. Так, концентрация хлороформ-экстрагируемых веществ и нефтяных углеводородов в атмосферных осадках соответственно в среднем составляла 0,6 мг/л и 0,14 мг/л. В ливневом стоке концентрация загрязняющих веществ возрастала в 2 – 4 раза по сравнению с атмосферными осадками (2,5 мг/л ХЭВ и 0,26 мг/л НУ). Исключительно высоким было содержание ХЭВ и НУ в сточных водах морского транспорта - 13,8 мг/л ХЭВ и 10,2 мг/л НУ.

Нефтедерживающие стоки, попадая в морскую воду, смешиваются с ней. Концентрация загрязняющих веществ в морской воде составляла 0,6 мг/л ХЭВ и 0,1 мг/л НУ. Уровень ХЭВ и НУ в донных осадках соответственно составлял 0,4 г/100 г сухого осадка и 0,08 г/100 г сухого осадка.

Так как критерием оценки загрязнения морской среды могут служить предельно-допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ, то соотношение средних показателей ПДК НУ для дождевой воды, ливневого стока, стока плавсредств и морской воды в районе причала соответственно составляло 1,5 : 5,6 : 10 : 1,2.

По мере удаления от причала на 50 - 70 м содержание НУ в морской воде не превышало предельно-допустимую концентрацию. В донных отложениях отмечались следовые значения НУ. Граница нефтяного загрязнения заканчивалась на расстоянии 30 м от причальной стенки. Учитывая факт, что причал был построен 30 лет назад, можно рассчитать, что граница распространения нефтяного загрязнения увеличивалась примерно на 1 м в год.

Общая численность гетеротрофных бактерий в районе исследования в среднем составляла $2,0 \times 10^6$ кл/мл, биомасса - 0,41 мг/м³. Микроорганизмы были представлены в основном палочковыми и кокковыми формами, отмечено преобладание первых над вторыми в 5 – 6 раз. Максимальные значения численности бактерий и биомассы были отмечены в августе 2004 г. на станции 15, расположенной у причала, и они соответственно составили $5,8 \times 10^6$ кл/мл и 5500 мг/м³. Известно также, что максимальные значения численности бактерий в Севастопольской бухте приходились на летний период, что связано с повышением содержания органического вещества в морской воде [15].

Численность гетеротрофных и нефтеокисляющих бактерий в морской воде на станциях в бухте Казачья составляла в среднем 10^2 кл/мл и 5 кл/мл, в донных осадках - $9,0 \times 10^5$ кл/г сырого грунта и $9,5 \times 10^2$ кл/г сырого грунта. Такая концентрация микроорганизмов характерна для относительно чистых акваторий.

ВЫВОДЫ

1. Результаты анализа морской воды и донных осадков подтвердили сведения о низком уровне загрязнения бухты Казачьей и Учкеевки растворенными органическими веществами и нефтяными углеводородами. Максимальные значения загрязняющих веществ отмечены в б. Северная и Круглая.

2. Получены сведения о численности гетеротрофных, углеводородокисляющих, тионовых, сульфатредуцирующих, денитрифицирующих, групп микроорганизмов в прибрежных наносах региона Севастополя.

3. Тионовые бактерии выделены повсеместно, сульфатредуцирующие в 60% проб. Разница в показателях численности бактерий во всех изучаемых группах достигает несколько порядков: в группе тионовых микроорганизмов от 0,9 кл/г до $2 \cdot 10^6$ кл/г, сульфатредукторов от 0,4 до 9500 кл/г.

4. Сезонной динамики численности тионовых и сульфатредуцирующих бактерий выявлено не было. 5.

5. Отмечено увеличение численности нефтеокисляющих и тионовых бактерий после обильных осадков и ливневых стоков. Высокая корреляционная связь между данными группами бактерий ($r = 0,93$), по-видимому, свидетельствует о том, что тионовые бактерии, наряду с углеводородокисляющими принимают участие в процессе самоочищения от труднорастворимых органических веществ.

Список литературы

1. Миронов О. Г. Микробиологическая характеристика прибрежных наносов региона Севастополя (Черное море) // Морской экологический журнал. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 67-74.
2. Рубцова С. И. Автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.17. – Севастополь, 2003. – 19 с.
3. Бурдян Н.В. Анаэробная микрофлора донных осадков Севастопольских бухт (Черное море) // Экология моря. – 2004. – Вып. 66. – С. 22-24.
4. Кузнецова В. А., Горленко В. М. Влияние температуры на развитие микроорганизмов из заводняемых пластов Ромашкинского нефтяного месторождения // Микробиология. – 1965. – Т. 34, вып. 2. – С.329-334.
5. Родина А.Г. Методы водной микробиологии. – М.: Наука, 1965. – 361 с.
6. Романенко В.И., Кузнецов С.И. Экология микроорганизмов пресных водоемов. – Л.: Наука, 1974. – 194 с.
7. Сорокин Ю.И. Микрофлора грунтов Черного моря // Микробиология. – 1962. – 31. Вып. 5. – С. 899-903.
8. Руководство по химическому анализу морских вод. – Л.: Гидрометеиздат, 1993. – 264 с.
9. Теплинская Н. Г., Нидзвецкая Л. М. Влияние гранулометрического состава песка на микрофлору песчаных пляжей // Биологические науки. – 1984. – Т. 1. – С. 82 - 85.
10. Беляева О. И. Особенности сезонной и годовой динамики бактериопланктона в Севастопольской бухте (1980 – 1984 гг.) // Труды Государственного океанографического института. – Л.: Гидрометеиздат, 1987. – № 180. – С. 112-119.
11. Беляева О.И. Проблема нефтяного загрязнения ливневых стоков в морской береговой зоне Севастопольской бухты (обзор) // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия география. – Симферополь, 2004. – Т. 17(56), вып. 4. – С. 105-112.
12. Миронов О.Г. Состав органической компоненты ливневых стоков в районе г. Севастополя // Оценка расположенных на суше источников загрязнения морей, омываемых государства СНГ. - Севастополь, 1992. – Т. 1. – С. 48-49.
13. Миронов О.Г., Кирюхина Л.Н., Алемов С.В. Экологическая характеристика бухты Казачья (Черное море) // Экология моря. – Севастополь, 2002. – Вып. 61. – С. 85-89.
14. Миронов О.Г., Кирюхина Л.Н., Алемов С.В. Санитарно-биологические аспекты экологии севастопольских бухт в XX веке. – Севастополь, 2003. – 185 с.
15. Беляева О.И. Влияние ливневого стока на нефтяное загрязнение в бухте Казачья (Черное море) // Экология моря, 2004. - № 66. - С. 17-21.

Поступила в редакцию 01.03.2006 г.

УДК: 544.6.504

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ ИНВЕРСИОННОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ КАРАДАГСКОГО ПРИРОДНОГО ЗАПОВЕДНИКА

Сурова Н.А., Крымова В.В.

Карадагский природный заповедник можно было бы считать эталоном экологического состояния природной системы, если бы не возросший рост антропогенного воздействия в результате курортной деятельности, выраженной в притоке авто- и водного транспорта, усиленной нагрузкой на очистные сооружения, а также стоками с сельскохозяйственных угодий [1]. Тяжелые металлы, такие как Zn, Cd, Pb, Cu, как известно, являются токсическими компонентами нормированными для вод культурно-бытового пользования [2], превышение нормы может привести к негативному воздействию на экосистему и здоровье человека. Для проведения исследований необходима современная приборно-методическая база. Задачей настоящей работы является исследование загрязнения тяжелыми металлами водных экосистем Карадагского природного заповедника методом инверсионной вольтамперометрии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Наиболее допустимый метод для проведения мониторинга водных экосистем на содержание тяжелых металлов может быть метод инверсионной вольтамперометрии (ИВА) на твердом графитовом электроде. Метод имеет хорошие аналитические характеристики: чувствительность $\sim 10^{-10}$ моль/л, относительную погрешность S_r до 0,1, селективность, что достигается подбором индифферентного электролита, возможность определения из одной аликвоты нескольких компонентов. Метод легко поддается компьютеризации, что важно для автоматизации при мониторинге и создании банка данных [3, 4].

Исследования проводили на полярографе ПУ-1 из одной аликвоты на ацетатном фоне в режиме ИВА.

Были исследованы пробы морской и пресной воды, отобранные в бухтах на территории Карадагского природного заповедника на содержание цинка, кадмия, меди и свинца.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования проводились с 2001 года. За этот период можно наблюдать динамику содержания Zn, Cd, Pb, Cu в пробах: летом 2001 года в пробах морской

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ ИНВЕРСИОННОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ

воды обнаружен цинк до 0,25 мг/л и свинец до 0,12 мг/л, что, в общем, не превышает ПДК; в 2002 году обнаружен цинк до 0,16 мг/л и кадмий до 0,045 мг/л, что превышает ПДК в 4-5 раз, а свинец не обнаружен. Наибольшее содержание тяжелых металлов у причала биостанции, но и в заповедных бухтах (Золотые ворота и др.) также были обнаружены. Дальнейшие исследования 2003 года показали, что в пробах отсутствуют медь и свинец, но обнаружены менее ПДК до 0,55 мг/л цинк и превышение кадмия по ПДК более чем в 10 раз (до 0,17 мг/л у очистных сооружений, причала биостанции, Лягушачья бухта, и даже грот Шайтана до 0,11 мг/л). В поверхностных водах наиболее чистыми оказались заповедные бухты (Золотые ворота, Сердоликовая). Известно, что основной источник кадмия в водоемах Крыма – это смывы с полей осадковыми водами. Результаты исследования морской воды в 2003 г. приведены в таблице 1.

Таблица 1.
Содержание тяжелых металлов на поверхности морской воды,
($p = 0,95$; $n = 3$)

Металл	Бухта Лягушачья	М. Мальчин	Бухта Сердоликовая	Грот Шайтан	Золотые Ворота	Скала Иван Разбойник	Причал биостанции	Кузьмичевы камни	Очистные сооружения
Кадмий, мг/л	0,22	<0,01	следы	0,11	н/о	следы	0,17	0,10	0,17
Цинк, мг/л	н/о	н/о	1,00	0,55	следы	следы	0,35	0,55	0,55

Исследования по глубинам показало значительное превышение концентрации кадмия в Сердоликовой бухте на глубинах 3 м – 0,01 мг/л, 9 м – 0,17 мг/л, что свидетельствует об укрупнении частиц вещества, содержащего кадмий с последующим его отложением на морское дно. В пробах мидий был также обнаружен кадмий в концентрациях до 17 мг/кг.

Сходимость результатов, полученных методом ИВА и атомно-абсорбционного анализа до 10 %, что показывает возможность применения ИВА для мониторинга.

Весной 2004 года в пробах морской воды тяжелые металлы не обнаружены в связи с уменьшением антропогенной нагрузки.

Анализ проб морской воды затруднен большим содержанием анионов и комплексообразующих составляющих. Более достоверные анализы, возможно, получить при анализе пресных водоемов. Нами были исследованы пробы пресной воды источников Карадага, находящихся в бухтах и в центре массива, на содержание соединений кадмия, цинка, свинца и меди. Исследования проводили с 2000 по 2004 года. Результаты приведены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, в пробах ряда источников обнаружен кадмий до 0,17 мг/л (что составляет 17 ПДК), содержание цинка снизилось (меньше ПДК) к 2002 году.

Таблица 2.
Содержание тяжелых металлов в пробах пресной воды на территории Карадага

№	Место отбора проб	Концентрация, мг/л				
		Zn			Cd	Pb
		2000	2001	2002	2002	2000
1.	Источник Гяур Чишна	0,78	0,20	0,13	0,07	0,10
2.	Источник Долина Роз	0,91	0,19	0,37	0,17	0,10
3.	Колодец (биостанция)	1,50	0,44	0,24	0,90	0,40
4.	Источник Лягушачья бухта	–	0,07	–	–	–
5.	Источник бухта Кузьмича	–	0,08	–	–	–
6.	Источник Бухта Сердоликовая	–	0,16	–	–	–

Содержание свинца в 2001-2004 годы также не подтвердилось, медь в пробах пресных источников не обнаружена вообще. В 2003-2004 годах в пробах пресной воды тяжелые металлы практически не обнаружены и только в пробах вблизи биостанции замечены следы цинка и кадмия. Результаты коррелируют с выводами сотрудников Карадагского природного заповедника о влиянии антропогенной нагрузки на биоразнообразие видов [5].

ВЫВОДЫ

Полученные результаты свидетельствуют о динамике загрязнения Карадагского природного заповедника и целесообразности проведения мониторинга по содержанию тяжелых металлов методом инверсионной вольтамперометрии.

Список литературы

1. Современное состояние загрязнения вод Черного моря / Под ред. Т.И. Симонова. – Севастополь, 1996. – 228 с.
2. Контроль химических и биологических параметров окружающей среды / Под ред. П.К. Исаева. – СПб: Экометрия, 1998. – 851 с.
3. Электрохимические методы в контроле окружающей среды / Под ред. Е.Я. Неймана. – М.: Химия, 1990. – 238 с.
4. Сулова Н.А. Исследование возможности совместного определения токсичных металлов на компьютеризированной вольтамперометрической системе в объектах окружающей среды // Ученые записки Симферопольского государственного ун-та. Математика, физика, химия. – 1998. – №7(46). – С. 186-189.
5. Ким И.Г., Кузнецова Е.Ю., Сулова Н.А. Загрязнение среды Карадагского природного заповедника как фактор снижения биоразнообразия // Ученые записки ТНУ им. В.И. Вернадского. Биология, химия. – 2003. – Т. 16(55), №3. – С. 86-90.

Поступила в редакцию 01.03.2006 г.

УДК 631.416.8

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОРГАНО-МИНЕРАЛЬНОГО ГУМИНОВОГО ПРЕПАРАТА “GEOPLUS” С ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

Юркова И.Н. Бугара А.М.

В настоящее время все большую актуальность приобретает разработка новых способов ремедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами и радионуклидами. Технологии, заключающиеся в снятии загрязненных слоев почвы, транспортировке и депонировании их в определенных местах, экстракции тяжелых металлов физико-химическими методами или иммобилизации являются высокочрезвычайными, негативно влияют на биологическую активность и физико-химические свойства почв и требуют специального оборудования.

Альтернативой этим технологиям может быть применение органо-минеральных гуминовых препаратов, полученных на основе озерного сапропеля. Озерный сапропель, в отличие от других видов подобного сырья, содержит широкий спектр биологически активных веществ, почвенных микроорганизмов и бактерий защитного типа действия [1].

С точки зрения взаимодействия с тяжелыми металлами (ТМ) наибольший интерес представляет основной компонент озерного сапропеля – гуминовые кислоты. Наличие в их молекулах ароматического каркаса, высокозамещенного функциональными группами, среди которых преобладают карбоксильные и гидроксильные, обуславливает их способность вступать в ионные и донорно-акцепторные взаимодействия, участвовать в окислительно-восстановительных и сорбционных процессах [2]. Как следствие, гуминовые вещества связывают тяжелые металлы и органические токсиканты и комплексы. Молекулярная масса гуминовых кислот, характеризующихся неоднородностью состава, по разным данным составляет от 700 до 200000 Да [3, 4]. От размеров и конфигурации частиц гуминовых кислот зависит их способность к миграции и комплексообразованию. Гуминовые кислоты сорбируются высокодисперсными минеральными частицами и тем самым закрепляют ТМ, с которыми активно комплексоуются, в твердой фазе почвы [5].

В ряду известных удобрений, получаемых на основе озерного сапропеля, наиболее эффективным препаратом нового поколения, сочетающим в себе лучшие качества предыдущих гуминовых препаратов, является комплексный органо-минеральный препарат “Geoplus”. В результате применения современных нанотехнологий при производстве препарата “Geoplus” сохраняется комплекс биологически активных веществ сапропеля и образуются более активные

низкомолекулярные цепочки гуминовых веществ, отличающиеся высокой сорбцией тяжелых металлов и радионуклидов и сродством к клеточным мембранам.

Наиболее распространенными тяжелыми металлами, загрязняющими почвы, являются кадмий и свинец. Поэтому цель данной работы заключалась в исследовании взаимодействия препарата "Geoplus" с кадмием и свинцом в водных растворах и почве.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования сорбционной активности препарата "Geoplus" по отношению к тяжелым металлам (ТМ) проводили в двух направлениях: сорбция ТМ в водных растворах (кадмий/свинец + раствор "Geoplus") и в почве.

В качестве источника ионов кадмия и свинца были использованы соли $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, ч.д.а. и $\text{PbNO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, х.ч. в концентрации от 5 до 50 мг/л по кадмию и от 10 до 200 мг/л по свинцу. Максимальные концентрации кадмия и свинца в экспериментах соответствовали 10-кратному превышению ПДК. Препарат "Geoplus" представляет собой густую полидисперсную суспензию. Поэтому схема эксперимента включала определение сорбционной емкости как дисперсной фазы препарата, так и гуминовых кислот (ГК), находящихся в коллоидном состоянии.

Суспензию препарата "Geoplus" (1 об.% или 3,5 г сух. в-ва/л) перемешивали с растворами солей кадмия и свинца в течение 1 часа, а затем центрифугировали (10 минут, 3 тыс.об/мин), рН суспензий составлял 7,0-7,3 (рН смеси исходных растворов ТМ и "Geoplus"). Надосадочную жидкость делили на две части, в одной определяли содержание кадмия или свинца, а из второй осаждали гуминовые кислоты раствором CaCl_2 (1 мг/л). Образующийся гель ГК отделяли центрифугированием (20 мин, 3 тыс.об/мин). В надосадочной жидкости определяли остаточную концентрацию кадмия или свинца.

В экспериментах была использована модельная почва, бедная органическими веществами (1,8 % гумуса), содержащая 20% песка. В емкости с почвой (навеска 100 г) вносили растворы солей кадмия и свинца в концентрации 5, 10, 20, 30, 40, 50 мг Cd/кг и 10, 50, 100, 120, 170, 200 мг Pb/кг в двух повторностях. После высыхания почвы в одну часть образцов вносили раствор "Geoplus" (2 об.%), а вторую увлажняли таким же объемом воды. После 2-х суток экспозиции почву высушивали при температуре 20° С, измельчали и просеивали. Каждый образец делили на 2 части для определения валового содержания и "подвижных" форм металла [6].

Определение содержания тяжелых металлов в растворах, почве и биомассе растений проводилось методом атомно-адсорбционной спектрофотометрии на приборе ААS3N.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты сорбции кадмия и свинца дисперсной фазой и гуминовыми кислотами препарата "Geoplus" приведены на рис. 1 и 2. Как видно, ход кривых изотерм сорбции кадмия и свинца дисперсной фазой значительно отличался (рис. 1). Изотерма сорбции свинца соответствовала изотермам Ленгмюра, а кадмия носила

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОРГАНО-МИНЕРАЛЬНОГО ГУМИНОВОГО ПРЕПАРАТА

полимолекулярный характер, что может быть связано с различной сорбционной активностью комплексов Cd^{2+} - ГК и свободных ионов кадмия и согласуется с данными авторов [7, 8]. Насыщения сорбции в интервале исследованных концентраций ТМ не наблюдалось, что связано с более высокими значениями максимальной сорбционной емкости.

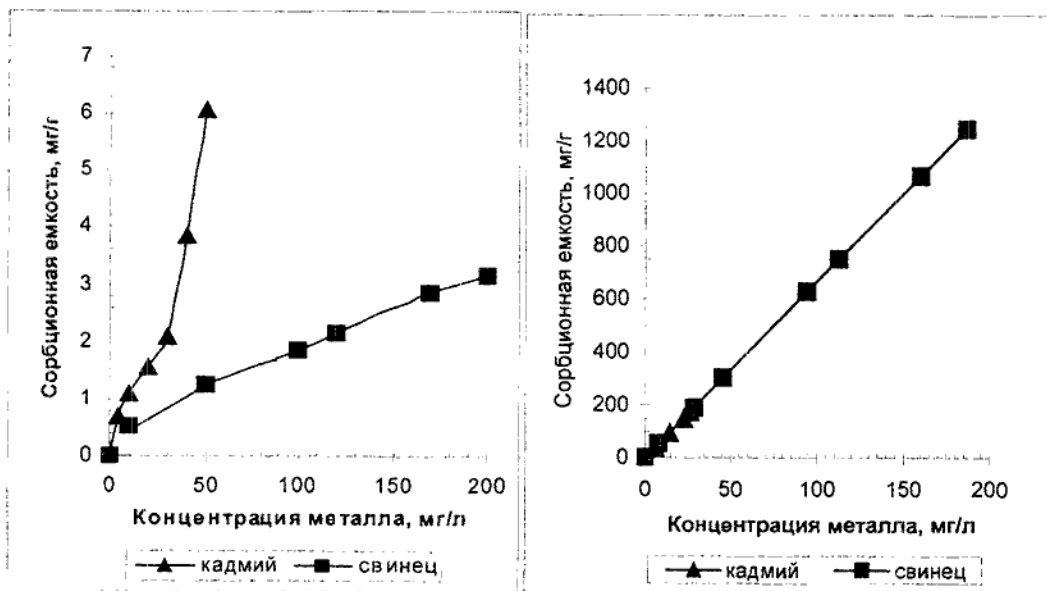


Рис. 1. Сорбция кадмия и свинца дисперсной фазой препарата "Geoplus".

Рис. 2. Сорбция кадмия и свинца гуминовыми кислотами препарата "Geoplus".

Как видно из результатов, представленных на рис. 2, сорбция на ГК более чем в 50-400 раз превышала сорбцию на дисперсной фазе. Это и не удивительно, если учесть, что в первом случае сорбция происходила только на поверхности дисперсной фазы, а в биополимерной молекуле ГК, благодаря ее "рыхлой" пространственной структуре, катионы имеют доступ ко всем центрам адсорбции. При этом, кривые зависимости сорбционной емкости ГК для кадмия и свинца практически сливались (рис. 2), что свидетельствует о неспецифической сорбции этих металлов функциональными группами ГК и подтверждается в работе [9].

Также как и в случае с сорбцией кадмия и свинца дисперсной фазой, сорбционная емкость ГК не достигала максимальных значений. Полученные нами величины сорбции кадмия и свинца были выше, чем таковые, полученные другими авторами на гуминовых препаратах или чистых ГК, выделенных из различных типов сырья [10]. Высокие значения сорбционной емкости ГК препарата "Geoplus" можно объяснить, с одной стороны, спецификой состава ГК, выделенных из сапропелей [11], а, с другой, высокой эффективностью гуматов за счет более активных низкомолекулярных цепочек гуминовых веществ, образующихся в результате нанопроцессов при производстве препарата "Geoplus".

Так, в работе [12] показано, что фракция ГК с молекулярной массой 1000-10000 Да связывает основную часть ионов кадмия. Авторами [11] было установлено, что именно в этой фракции энергия связи ГК и металла на порядок выше, чем во фракциях с меньшей и большей молекулярной массой. Это связано с тем, что в зависимости от фракционного состава в структуре ГК преобладают разные функциональные группы.

Сравнивая количество фенольных и карбоксильных групп, ответственных за комплексообразование ТМ, приведенное в анализе ГК различного происхождения [13], с полученными нами результатами, можно сделать вывод, что максимально возможные значения сорбционной емкости ГК значительно выше, чем экспериментально полученные нами.

Как видно из результатов, приведенных в таблице, в контрольных опытах (без "Geoplus") почвенный поглощающий комплекс сорбировал лишь незначительную часть ионов металлов, тогда как подвижными оставалось от 84 до 96% кадмия и 65-98% свинца.

Таблица.
Связывание свободных ионов металлов в почве препаратом "Geoplus"

Внесено ТМ, мг/кг	Контроль			"Geoplus" (2 об. %)		
	Валовое содержание, мг/кг	"Подвижные" формы		Валовое содержание, мг/кг	"Подвижные" формы	
		мг/кг	%		мг/кг	мг/кг
Кадмий						
5,0	6,1	5,1	84	5,8	0,05	0,9
10,0	11,3	9,6	85	11,0	0,06	0,5
20,0	21,7	18,7	86	20,9	0,17	0,8
30,0	32,0	28,2	88	31,7	0,25	0,8
40,0	43,8	40,7	93	42,2	0,42	1,0
50,0	54,3	52,1	96	51,3	0,62	1,2
Свинец						
10	11,3	7,3	65	10,8	0,15	1,4
50	51,2	37,4	73	51,9	1,3	2,5
100	101,8	81,4	80	97,3	3,2	3,3
120	122,4	105,3	86	118,8	7,4	6,2
170	174,5	164,0	94	170,6	14,2	8,3
200	204,7	200,6	98	202,3	20,2	10,0

Внесение препарата "Geoplus" в почву вызывало уменьшение свободных ионов кадмия до концентрации 0,05 мкг/кг (при валовом содержании 5,8 мг/кг) и 0,62 мг/кг (валовое содержание 51,3 мг/кг). Остаточное количество ионов свинца даже

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОРГАНО-МИНЕРАЛЬНОГО ГУМИНОВОГО ПРЕПАРАТА

при внесении его в почву до 200 мг/кг под действием "Geoplus" уменьшалось почти в 10 раз.

Сорбция свободных ионов металлов, вносимых в почву, была значительно выше для свинца. Так, при внесении 50 мг Me/kg в контрольных опытах (без "Geoplus") подвижными оставалось 96% кадмия и только 73% свинца.

При сравнении содержания "подвижных" форм кадмия и свинца видно, что при одних и тех же концентрациях вносимых металлов в опытах с "Geoplus" оставалось значительно меньше свободных ионов кадмия. Вероятно, это связано с различной сорбционной активностью комплексов Cd^{2+} - ГК и Pb^{2+} - ГК. В пользу этого свидетельствуют и результаты сорбционной емкости дисперсной фазы "Geoplus" (рис. 1). По-видимому, сорбция комплексов Cd^{2+} - ГК имеет полимолекулярный характер не только на дисперсных частицах "Geoplus", но и почвы.

Такие высокие показатели влияния препарата "Geoplus" на комплекссообразование ионов кадмия и свинца в почве обусловлены идеальными условиями эксперимента: бедная органическими веществами и глинистыми минералами почва, с одной стороны, и высокая концентрация "Geoplus". Можно предположить, что и на реальных почвах, загрязненных тяжелыми металлами, применение препарата "Geoplus" в более низких концентрациях будет приводить к переходу свободных ионов ТМ в связанное, нетоксичное для растений состояние.

ВЫВОДЫ

Полученные в работе данные свидетельствуют о том, что препарат "Geoplus" может быть перспективным средством для детоксикации почв, загрязненных тяжелыми металлами. При этом, даже в условиях повышенного загрязнения (10-кратное превышение ПДК) концентрация "подвижных" форм уменьшается в 10-40 раз.

Список литературы

1. Кирейчева Л.В., Хохлова О.Б. Сапронели: состав, свойства, применение. – М: ПОМА, 1998. –120 с.
2. Perdue E.M. Analytical constraints on the structural features of humic substances // *Geochim. Cosmochim. Acta.* – 1984. – № 48. – P. 1435.
3. Perminova I.V., Frimmel F.H., Kudryavtsev A.V., Kulikova N.A., Abbt-Braun G., Hesse S., Petrosyan S. Molecular weight characteristics of humic substances from different environments as determined by size exclusion chromatography and their statistical evaluation.// *Environ. Sci. Technol.* – 2003. – V. 37. – P. 2477.
4. Stevenson F J. Geochemistry of soil humic substances. In *Humic Substances in Soil, Sediment, and Water: Geochemistry, Isolation, and Characterization.* // Eds. Aiken G.R., McKnight D.M., Wershaw R.L., MacCarthy P. John Wiley & Sons. – New York, 1985. – P. 13.
5. Добровольский В.В. Биосферные циклы тяжелых металлов и регуляторная роль почвы // *Почвоведение.* – 1997. – №4. – С. 431-441.
6. Ладонин Д.В. Соединения тяжелых металлов в почвах -- проблемы и методы изучения // *Почвоведение.* – 2002. – №6. – С. 682-692.
7. Эстрела-Льопис В.Р. Внеклеточные биополимеры *Chlorella vulgaris* Beijer. ЛАПГ-3 (Chlorophyta) в биокolloидных и биосорбционных процессах извлечения металлов из водных суспензий и растворов // *Альгология.* – 1999. – Т.9, №2. – С. 166.

8. Estrela-Llopis V.R., Yurkova I.N., Borodinova T.I. The heterocoagulation and biosorbition of particles and metal ion in the presence of surfactants / XII International conference "Surface forces". Zvenigorod, Russia. Abstract. – 2002. – P. 107.
9. Ладонин Д.В., Марголина С.Е. Взаимодействие гуминовых кислот с тяжелыми металлами // Почвоведение. – 1997. – №7. – С. 801-811.
10. Холин Ю.В. Гумусовые кислоты как главные природные комплексообразующие вещества // Universitates. – 2001. – №4. – С.88-90.
11. Кирейчева Л.В., Хохлова О.Б. Сравнительный эффект гуминовых препаратов типа «Дарина» и сапропеля // Агрохимический вестник. – 2004. – №3. – С. 75-82.
12. Славинская Г.В., Селеменев В.Ф. Фульвокислоты природных вод.- М., 2001. – 156 с.
13. Платонов В.В., Проскуряков В.А., Савченков В.Е. и др. Гуминовые кислоты – эффективные сорбенты тяжелых металлов /III съезд Докучаевского общ-ва почвоведов Российской Академии наук. – 2002. – С. 76.

Поступила в редакцию 01.03.2006 г.

УДК 547.918:543.422:615.4

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС ТРИТЕРПЕНОВОГО ГЛИКОЗИДА α -ХЕДЕРИНА С СИЛДЕНАФИЛОМ (ВИАГРОЙ)

Яковишин Л.А., Рубинсон М.А., Кузнецова А.Л., Гришковец В.И., Корж Е.Н.

α -Хедерин (сапиндозид А, калопанакс сапонин А), представляющий собой 3-О- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-О- α -L-арабинопиранозид хедерагенина, является одним из самых распространенных тритерпеновых гликозидов растений семейства аралиевых (*Araliaceae* Juss.). Он найден в *Aralia elata*, *Kalopanax pictus*, *Kalopanax septemlobus*, *Polyscias dichroostachya*, *Acanthopanax sieboldianus*, *Hedera nepalensis*, *Hedera rhombea*, *Hedera helix*, *Hedera taurica* и *Hedera canariensis* [1 – 4]. α -Хедерин входит в состав таких широко известных лекарственных препаратов для лечения кашля как геделикс [5, 6] и проспан [5, 7], созданных на основе листьев плюща обыкновенного *Hedera helix*.

Комплексообразование тритерпеновых гликозидов с биологически активными веществами, в том числе и лекарственными препаратами, в отличие от стероидных гликозидов, остается еще малоизученным. Получены комплексы тритерпеновых гликозидов с холестерином [1], протеиногенными аминокислотами [8] и сульфаниламидами и анальгетиками [9].

Задачей настоящей работы является изучение молекулярного комплекса α -хедерина с силденафилом. Цитрат силденафила (виагра, дженагра) наиболее распространенный лекарственный препарат для лечения эректильной дисфункции [10, 11]. Силденафил также является действующим веществом нового средства для лечения пульмонарной артериальной гипертензии *tevatio*. Взаимодействие силденафила с лекарственными веществами других фармакологических групп остается еще малоизученным. Недавно получен молекулярный комплекс силденафила с ацетилсалициловой кислотой [12].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выделение и анализ α -хедерина. Для получения комплексов использовали α -хедерин, выделенный нами из плющей крымского *Hedera taurica* Савт. и канарского *Hedera canariensis* Willd., по методике, приведенной в работах [3, 4]. ТСХ проводили на аналитических пластинках Sorbfil (Российская Федерация) марки ПТСХ-П-А-УФ-254 с размерами частиц силикагеля 5–7 мкм (тип сорбента СТХ-1А). Использовали системы растворителей CHCl_3 – CH_3OH –25 % водный NH_3 (100:20:3 и 100:30:5). Проявитель – 0,2 % раствор *пара*-оксибензальдегида в 2 н.

H₂SO₄ [13]. Хроматограммы нагревали до 100°C. R_f 0.12 и 0.49 (соответственно в указанных выше системах растворителей).

Выделение и анализ силденафила. Таблетки лекарственного средства виагра (производитель фирма Pfizer PGM, Франция; UA/0313/01/02) измельчали после удаления оболочки и извлекали силденафил 3,5 % водным раствором аммиака. Смесь фильтровали, к фильтрату добавляли хлороформ и хлороформный раствор препаративно разделяли на силикагеле КСК (фракция 5–17 мкм, LaHema, Чехия) при элюировании метанолом. ТСХ-анализ проводили на пластинках Sorbfil (элюент метанол). Силденафил детектировали с помощью источника УФ-излучения (R_f 0.6).

Получение комплекса. Комплекс получали путем смешивания метанольных растворов, содержащих по 1 ммоль α-хедерина и силденафила. Полученную смесь выдерживали при 40–50°C в течение 1,5 часов при постоянном перемешивании. Метанол отгоняли в вакууме.

ИК-спектр α-хедерина (КВг, ν, см⁻¹): 3400 (ОН), 2900 (СН), 1610 (СО), 1410 (СО), 1250–1410 (СН₃), 1040 (С–О–С, С–ОН).

ИК-спектр силденафила (КВг, ν, см⁻¹): 3390 (NH), 2910 (СН), 2850 (NH), 2785 (СН₃N), 2350 (NH), 1670 (СО), 1565 (NH), 1550 (Ar), 1445 (Ar), 1375 (Ar), 1340 (SO), 1275 (С–О–C_{Ar}), 1238 (NH), 1140 (SO), 1050 (CN), 1015 (Ar), 920 (SN), 815 (C_{Ar}H), 775 (C_{Ar}H), 725 (C_{Ar}H), 675 (C_{Ar}H), 560 (CS).

ИК-спектр комплекса α-хедерина и силденафила (КВг, ν, см⁻¹): 3360 (ОН и NH), 1675–1680 (СО), 2910 (СН), 2745 (СН₃N), 2330 (NH), 1575 (NH), 1550 (Ar), 1445 (Ar), 1440 (СО), 1380 (Ar), 1350 (SO), 1270 (С–О–C_{Ar}), 1238 (NH), 1125 (SO), 1038 (С–О–С, С–ОН), 812 (C_{Ar}H), 775 (C_{Ar}H), 725 (C_{Ar}H), 672 (C_{Ar}H), 555 (CS).

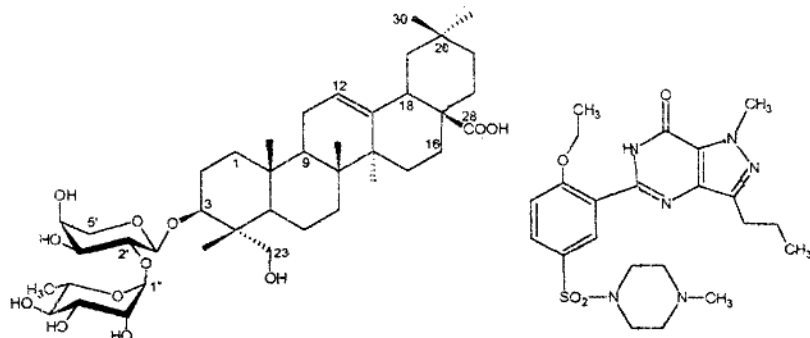
ИК-спектры получали на приборе «Specord» IR 75 в таблетках с КВг.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для извлечения силденафила из готовой лекарственной формы использовали стандартную методику выделения и очистки алкалоидов. Измельченный лекарственный препарат обрабатывали 3,5 % водным раствором аммиака. Полученную смесь фильтровали и к фильтрату добавляли хлороформ. Жидкости смешивали и после расслоения хлороформный слой наносили на колонку с SiO₂ и элюировали метанолом. Комплекс силденафила и α-хедерина получали путем смешивания эквимольных количеств веществ. Взаимодействие силденафила с α-хедерином подтверждали данными ИК-спектроскопии.

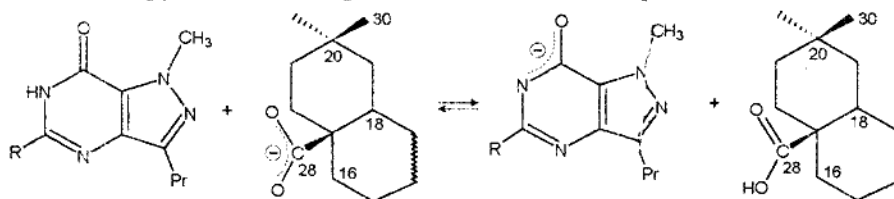
В ИК-спектре гликозида легко идентифицированы сигналы, относящиеся к асимметричным (1610 см⁻¹) и симметричным (1410 см⁻¹) валентным колебаниям группы СО, положение которых указывает на ионизированное состояние карбоксильной группы агликонной части [1]. В области 3400 см⁻¹ обнаружена широкая интенсивная полоса валентных колебаний ассоциированных ОН-групп. Валентные колебания связей с участием атомов кислорода (С–О–С, С–ОН) находятся при 1040 см⁻¹. Связи СН поглощают при 2900 см⁻¹ (валентные колебания).

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС ТРИТЕРПЕНОвого ГЛИКОЗИДА



Для ИК-спектра сildenaфила характерны интенсивная полоса поглощения группы CO с участием связей CN, C–C–O и C–N–C – полоса «амид I» при 1670 см^{-1} , широкая полоса в области 3390 см^{-1} (валентные колебания связи NH) и интенсивная полоса «амид II» при 1565 см^{-1} (деформационные колебания связи NH). Полосы поглощения, связанные с колебаниями связей с атомом серы, обнаружены при 1340 (асимметричные колебания связей SO), 1140 (симметричные колебания связей SO), 920 (валентные колебания связи SN) и 560 см^{-1} (валентные колебания связи CS). Валентные колебания связей CH проявляются при 2910 см^{-1} .

В ИК-спектре комплекса полосы поглощения групп CO гликозида и сildenaфила находятся в области $1675\text{--}1680\text{ см}^{-1}$. Таким образом, наблюдается смещение полосы поглощения группы CO α -хедерина в комплексе на $+65\text{--}70\text{ см}^{-1}$ по сравнению с индивидуальным соединением, свидетельствующее о некотором уменьшении степени ионизации группы COOH гликозида. Возможно, это объясняется протонным обменом между анионами, в результате чего полоса поглощения CO-группы сildenaфила смещается в спектре комплекса на $-5\text{--}10\text{ см}^{-1}$.



При анализе спектральных данных комплекса также обнаружено уменьшение частот валентных колебаний OH- и NH-групп на $30\text{--}40\text{ см}^{-1}$, повышение частоты амидной полосы II на 10 см^{-1} и изменение частот поглощения $\nu_{as}(\text{SO})$ на $+10$ и $\nu_s(\text{SO})$ на -15 см^{-1} по сравнению с исходными лигандами. Это указывает на возможную ассоциацию молекул также и за счет образования межмолекулярных водородных связей с участием OH-групп гликозида и NH- и SO-групп сildenaфила.

ВЫВОДЫ

1. Впервые получен комплекс тритерпенового гликозида α -хедерина с сildenaфилом (виагрой).

2. Комплексообразование силденафила с α -хедерином подтверждено данными ИК-спектроскопии. Сделано предположение об участии в комплексообразовании OH-, CO-, COOH-, NH- и SO- групп.

Список литературы

1. Hostettmann K., Marston A. Saponins. – Cambridge: Cambridge University Press, 1995. – 548 p.
2. Деканосидзе Г.Е., Чирва В.Я., Сергиенко Т.В. Биологическая роль, распространение и химическое строение тритерпеновых гликозидов. – Тбилиси: Мецниереба, 1982. – 349 с.
3. Пашков А.С., Гришковец В.И., Лолойко А.А., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* I. Строение таурсида E из листьев *Hedera taurica* //Химия природ. соедин. – 1987. – № 3. – С. 363-366.
4. Гришковец В.И., Сидорев Д.Ю., Яковичин Л.А., Арнаутов Н.Н., Пашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* I. Строение гликозидов L-A, L-B₁, L-B₂, L-C, L-D, L-E₁, L-G₁, L-G₂, L-G₃, L-G, L-H₁, L-H₂ и L-I, из листьев *Hedera canariensis* //Химия природ. соедин. – 1996. – № 3. – С. 377-383.
5. Зузук Б.М., Кулик ?.В., Зузук Л. И. Плющ выходящий *Hedera helix* L. //Провизор. – 2003. – № 12. – С. 13-14.
6. Яковичин Л.А., Гришковец В.И. Комплекс тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата Hedelix® //Химия природ. соедин. – 2003. – № 5. – С. 417-418.
7. Яковичин Л.А., Вожжова М.А., Кузнецова А.Л., Гришковец В.И. Исследование тритерпеновых гликозидов лекарственно препарата проспан® //Журнал орг. и фарм. химии. – 2005. – Т. 3, вып. 1 (9). – С. 57-59.
8. Яковичин Л.А., Луговкин А.М., Маркова П.А. Комплексообразование тритерпенового гликозида α -хедерина с алифатическими протеиногенными аминокислотами // Материалы II Международн. конф. «Лесные биологически активные ресурсы». – Хабаровск (Россия). – 2004. – С. 219-222.
9. Далимов Д.Н., Исаев Ю.Г., Сайиткулов А.М. Молекулярные комплексы моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты с некоторыми лекарственными средствами и их интерфериндицирующая активность // Химия природ. соедин. – 2001. – № 2. – С. 132-134.
10. Drewes S.E., Gorge J., Kuan F. Recent findings on natural products with erectile-dysfunction activity //Phytochemistry. – 2003. –Vol. 62. – P. 1019-1025.
11. Возианов О.Ф., Горпинченко Г.П., Бойко М.І. Застосування віагри у лікуванні пацієнтів з еректильною дисфункцією / Урологія. – 2000. – № 4. – С. 60-65.
12. Яковичин Л.А., Кузнецова А.Л., Вожжова М.А. Молекулярный комплекс силденафила (виагры) с аспирином / Материалы ІІІ україн. науч.-техн. конф. студентів, аспірантів і молодих учених «Актуальні питання теоретическої і прикладної фізики і біофізики. Фізика. Біофізика – 2005». – Сьвятополь (Україна). – 2005. – С. 135-137.
13. Яковичин Л.А. Детектирующие реагенты для ТСХ тритерпеновых гликозидов //Химия природ. соедин. – 2003. – № 5. – С. 419-420.

Поступило в редакцию 01.03.2006

АННОТАЦИИ

Биологические науки

Бугара А.М., Кабузенко С.Н., Омельченко А.В. Влияние препарата «Geoplus» на устойчивость к засолению и засухе растений кукурузы на ранних этапах онтогенеза // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 3-7.

Изучали влияние препарата «Geoplus» на устойчивость к засолению и засухе растений кукурузы на ранних этапах онтогенеза. Установлено, что препарат «Geoplus» оказывает положительное действие на энергию прорастания и всхожесть семян кукурузы на фоне действия хлоридного засоления, повышает гидрофильность и водоудерживающую способность почвы, снижает транспирацию растений.

Ключевые слова: гуминовое удобрение «Geoplus», кукуруза, засоление почвы, гидрофильные соединения, транспирация.

Бугара А.М., Чмелева С.И., Сидякин А.И., Панов Д. А., Работягов В.Д. Каллусные культуры ломоноса виноградолистного (*Clematis vitalba L.*) - продуценты тритерпеновых гликозидов // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 8-13.

Исследованы особенности каллусогенеза в культуре вегетативных органов ломоноса виноградолистного (*Clematis vitalba L.*) и проведен анализ каллусных культур на содержание тритерпеновых гликозидов. Показано, что каллусные культуры содержат широкий спектр тритерпеновых гликозидов, характерных для интактных растений. Наряду с этим выявлены фракции тритерпеновых гликозидов, не свойственные органам интактных растений ломоноса виноградолистного.

Ключевые слова: ломонос виноградолистный, каллусные культуры, тритерпеновые гликозиды.

Гидулянова К.В., Коношенко С.В. Влияние окислительного стресса на жирно-кислотный состав мембран эритроцитов в условиях *in vitro* // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 14-20.

Методом газожидкостной хроматографии установлено, что в условиях инициации окислительных реакций *in vitro* в среде Фентона в мембранах эритроцитов прослеживаются изменения в содержании жирных кислот. В частности, наибольшее снижение претерпевают жирные кислоты семейства $\omega 3$. В семействах полиненасыщенных жирных кислот $\omega 6$ и $\omega 9$ данные изменения имеют менее выраженный характер. Прослеживается тесная корреляция между уровнем содержания жирных кислот и концентрацией гидроперекисей и ТБК-активных продуктов в мембранах эритроцитов.

Ключевые слова: мембрана эритроцитов, жирно-кислотный состав, окислительный стресс.

Грабовская Е.Ю., Малыгина В.И. Особенности поведенческой адаптации крыс с различными конституциональными особенностями к действию переменного магнитного поля сверхнизкой частоты // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 21-27.

Исследовано влияние переменного магнитного поля сверхнизкой частоты на поведенческую адаптацию крыс с различным уровнем двигательной активности и эмоциональности в «открытом поле». Показано, что переменное магнитное поле частотой 8 Гц индукцией 5 мкТл усиливает процессы торможения в центральной нервной системе у животных со средней и высокой двигательной активностью, а у животных с низкой двигательной активностью приводит к усилению процессов возбуждения.

Ключевые слова: переменное магнитное поле, двигательная активность, центральная нервная система, поведенческая адаптация, индивидуальная чувствительность.

Джелдубаева Э.Р., Чуюн Е.Н. Сравнительное исследование анальгетического действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты и анальгина при тонической боли у крыс // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 28-39.

Проведено сравнительное исследование эффективности анальгетического действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты (ЭМИ КВЧ) и анальгина у крыс при экспериментально вызванной тонической боли. Показано, что однократное воздействие ЭМИ КВЧ обладает сходным антиноцицептивным эффектом с внутрибрюшинным введением раствора анальгина в дозе 8 мг/кг. Однако раствор анальгина в большей степени влияет на протекание второй тонической фазы «формалинового теста», тогда как предварительное действие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ существенно изменяет динамику и снижает продолжительность первой острой фазы, причем даже в большей степени, чем раствор анальгина в дозе 12 мг/кг.

Ключевые слова: электромагнитное излучение крайне высокой частоты, анальгин, тоническая боль, острая фаза и тоническая фаза «формалинового теста».

Ёлкина Н.М., Казакова В.В. Метаболические изменения в эритроцитах больных циррозом печени // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 40-42.

Показано, что при циррозе печени изменяется метаболическое состояние эритроцитов: интенсифицируются гликолитические реакции, растет активность

мембранной K^+ , Na^+ -АТФ-азы; снижается активность ферментов, участвующих в восстановительных процессах клетки.

Ключевые слова: эритроцитарный метаболизм, гликолиз, активность ферментов, патология.

Ибрагимова Э.Э. **Влияние азротехногенного загрязнения среды на репродуктивные органы плодовых растений** // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 43-49.

Исследовалось состояние органов мужской репродукции плодовых растений, произрастающих в зоне интенсивного движения автотранспорта, где обнаружено повышенное содержание тяжелых металлов (свинец и цинк). Отмечается повышенный уровень продукции стерильной пыльцы репродуктивными органами изученных растительных организмов.

Ключевые слова: пыльца, стерильность, фертильность, спонтанный, индуцированный, репродуктивный, экотоксикант, загрязнение, тяжелые металлы.

Кабузенко С.Н., Омельченко А.В. **Динамика накопления активного натрия в проростках растений кукурузы отличающихся по степени солеустойчивости** // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 50-56.

Определяли динамику засоляющих ионов натрия в органах растений кукурузы солеустойчивого гибрида Шаланда МВ и менее солеустойчивого сорта Одесская 10. Показано что, у растений более солеустойчивого гибрида больше накапливаются ионы натрия в корне, чем в надземной части, т.е. проявляется барьерная роль корня при поступлении «засоляющих» ионов в растение. Показана роль свободного пространства тканей в приспособлении к экстремальному засолению.

Ключевые слова: хлоридное засоление, свободное пространство, натрий.

Котов С.Ф., Жалдак С.Н., Симагина Н.О. **Влияние влажности, засоления, конкуренции и аллелопатических взаимодействий между растениями на жизненность и рост сведы в галофитных сообществах Крыма** // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 57-67.

Ценопопуляции сведы занимают экотопы с содержанием хлорид-аниона около 1%. Конкуренция угнетает рост растений и снижают скорость накопления органического вещества в 2,5 раза. Аллелопатические взаимодействия галофитов многолетников ухудшают жизненность сведы, реальную семенную продуктивность и репродуктивное усилие.

Ключевые слова: *Suaeda acuminata*, *S. prostrata*, засоленность, влажность, конкуренция, аллелопатия, Крым.

Омельченко С.О., Залевская И.Н. **Содержание токсичных элементов в тканях бычка-кругляка, обитающего в акваториях Черного и Азовского морей** //

Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 68-72.

Исследовали содержание токсичных элементов в тканях широко распространенного вида бычка-кругляка, обитающего в прибрежных акваториях Черного и Азовского морей. Существенные различия в содержании токсикантов в тканях бычка-кругляка, обитающего в Черном и Азовском морях, зависят от места вылова и особенностей экологического состояния акваторий.

Ключевые слова: бычок-кругляк, морские акватории, Азовское и Черное моря, токсичные элементы.

Отурина И.П., Зацепина Б.В. **Динамика антибиотикочувствительности бактерий *Klebsiella pneumoniae*** // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 73-79.

Исследована динамика чувствительности штаммов *Klebsiella pneumoniae*, высеванных в Феодосии от людей, к различным группам антибиотиков с использованием метода диффузии в агар. Показана необходимость систематического мониторинга антибиотикочувствительности клебсиелл.

Ключевые слова: клебсиелла, чувствительность, антибиотики.

Палёная Ю.В., Филоненко Т.Г., Казакова В.В. **Морфо-биохимические изменения в тонком кишечнике при воздействии ионизирующего излучения** // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 80-85.

В статье описаны результаты экспериментальных исследований о влиянии гамма-излучения на баланс протеазо-антипротеазной системы, уровень эндотоксикоза и морфологические изменения в стенке кишечника. Результаты исследования свидетельствуют о нарушении баланса в системе протеолитических ферментов и их ингибиторов, о повышении концентрации средних молекул. Выявлена сосудистая реакция тканей на начальных этапах и хронизация воспаления в отдаленные сроки после облучения.

Ключевые слова: тонкий кишечник, ионизирующее излучение, протеолиз, эндотоксикоз, морфология, воспаление.

Погодина С.В. **Возрастные особенности реакций кардио-респираторной системы пловцов в процессе адаптации к специфическим физическим нагрузкам** // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 86-92.

В статье обсуждаются возрастные изменения реакций кардио-респираторной системы пловцов на физические нагрузки различной мощности. Данные особенности рекомендуется учитывать при составлении многолетних тренировочных программ в спортивном плавании.

Ключевые слова: адаптация, физические нагрузки, возрастные особенности, аэробный потенциал, кардио-респираторная система, внутрисистемные взаимосвязи.

Теплицкая Л.М. Моделирование симбиоза в культуре семян *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce *in vitro* // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 93-100.

В результате исследований была выделена чистая культура эндомикоризного гриба крымской орхидеи вида *C. damasonium* (Mill.) Druce. Выбрана среда и условия его культивирования в изолированных условиях *in vitro*, даны основные биотехнологические характеристики колонии: скорость роста, физические и химические факторы культивирования, выявлены морфологические показатели гриба *in vitro* и в растении, которые являются показателем физиологического состояния гриба и его стадии развития.

Ключевые слова: орхидные, микориза, симбиоз, культура *in vitro*.

Фазылов А. Р., Бугара А.М., Юркова И.Н., Горденко С. Л. Каллусные культуры плюща обыкновенного (*Hedera helix* L.) как источник тритерпеновых гликозидов // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 101-104.

Показана зависимость прироста биомассы каллуса от содержания фитогормонов в питательной среде. Установлено, что каллусные культуры, индуцированные из зародышей плюща обыкновенного, содержали основные фракции тритерпеновых гликозидов, характерные для интактного растения.

Ключевые слова: плющ обыкновенный, каллусные культуры, тритерпеновые гликозиды

Чуян Е.Н., Махонина М.М., Заячникова Т.В. Модифицирующее действие гипокинетического стресса на изменение показателя синтетической активности лимфоцитов крови крыс при воздействии низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ // Ученые записки таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 105-112.

Методом люминесцентного микроспектрального анализа проведены исследования изменения показателя синтетической активности лимфоцитов крови крыс при последовательном с гипокинезией действии низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты (ЭМИ КВЧ) (длина волны - 7,1 мм, плотность потока мощности 0,1 мВт/см²). Показано, что в результате развития гипокинетического стресса происходит снижение показателя синтетической активности лимфоцитов, что является результатом снижения функциональной активности этих клеток. Действие ЭМИ КВЧ на животных, предварительно находящихся в условиях гипокинетического стресса, приводит к менее выраженному повышению показателя синтетической активности лимфоцитов крови крыс, чем у животных, которые до КВЧ-воздействия оставались интактными. Полученные данные являются свидетельством того, что изменение показателя

синтетической активности лимфоцитов крови крыс зависит от исходного состояния организма.

Ключевые слова: гипокинетический стресс, синтетическая активность лимфоцитов, электромагнитное излучение крайне высокой частоты.

Юркова И.Н., Бугара А.М. Культивирование в условиях in vitro каллусной ткани цикламена – источника биологически активных веществ // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 113-117.

Получены активно растущие каллусные культуры *Cyclamen persicum*. Показано, что состав гликозидов каллусных культур и клубней интактных растений близок. Проведенные исследования показывают, что каллусные культуры *Cyclamen persicum* могут быть перспективным альтернативным источников фармакологически активных тритерпеновых гликозидов.

Ключевые слова: каллусные культуры, цикламен, биологически активные вещества

Химические науки

Александркин И.В., Горбунов Р.В., Темная Т.Г. Процессы сорбции ионов кадмия на почвенных образцах // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 118-124.

В статье рассмотрены процессы адсорбции ионов кадмия на почве озера Сасык-Сиваш. Изучено влияние значений рН на процессы самоочищения почв.

Ключевые слова: кадмий, адсорбция, почвы Сасык-Сиваша

Баевский А.М., Баевский М.Ю., Приходько И.М. Синтез и реакционная способность 3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-1,5-бензодиапин-2-она образцах // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 125-129.

Взаимодействием 1,2-фенилендиамина с метакриловой кислотой получен 3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-1,5-бензодиазепин-2-он. Рассмотрено влияние условий конденсации на выход целевого продукта. Изучены реакции алкилирования и ацилирования 3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-1,5-бензодиазепин-2-она.

Ключевые слова: 3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-1,5-бензодиазепин-2-он; 1,2-фенилендиамин, метакриловая кислота, борная кислота, конденсация, ацилирование, алкилирование.

Гусев А.Н., Шульгин В.Ф. Спейсерированные димеры меди(II) на основе ацилдигидразонов 2-гидроксиацетофенонов // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 130-140.

Обобщены результаты исследования методом электронного парамагнитного резонанса слабых обменных взаимодействий между парамагнитными центрами в биядерных комплексах меди(II) на основе ацилдигидразонов 2-гидроксиацетофенонов. Проанализированы факторы, влияющие на интенсивность обмена, вынесены суждения о возможных механизмах данного явления.

Ключевые слова: меди(II) комплексы, ацилдигидразоны, электронный парамагнитный резонанс, сверхтонкая структура, спин-спиновое взаимодействие.

Довгий И.И., Гришковец В.И., Качала В.В., Шапков А.С. Использование методов ЯМР-спектроскопии для установления строения гликозидов *Cussonia paniculata* // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 141-146.

Описано использование методов одно- и двумерной спектроскопии ядерного магнитного резонанса для установления строения тритерпеновых гликозидов из листьев *Cussonia paniculata*.

Ключевые слова: тритерпеновые гликозиды, ядерно-магнитна-резонансная спектроскопия, *Cussonia paniculata*, *Araliaceae*.

Обух А.И., Шульгин В.Ф., Ларин Г.М. Димерные комплексы меди(II) на основе ацилдигидразонов фталового альдегида // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 147-151.

Синтезированы и исследованы биядерные комплексы меди(II) с ацилдигидразонами фталового альдегида (H_2L) состава $[Cu_2L \cdot nPy \cdot mSolv]$, в которых координационные полиэдры соединены полиметиленовой цепочкой разной длины (от 1 до 5 звеньев). В спектрах электронного парамагнитного резонанса растворов исследуемых комплексов при комнатной температуре наблюдается сигнал из четырех линии сверхтонкой структуры с константой порядка $50 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$, что свидетельствует о независимом поведении парамагнитных центров.

Ключевые слова: медь(II) димеры, фталевый альдегид, ацилдигидразоны, электронный парамагнитный резонанс.

Панов Д.А., Гришковец В.И., Курсанова М.А., Криворутченко Ю.Л. Противогрибковая и гемолитическая активность тритерпеновых гликозидов, выделенных из калапанакса семилопастного // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С.152-155.

Изучены фунгицидная и гемолитическая активности тритерпеновых гликозидов, выделенных из *Kalopanax septemlobum*. Определены минимальные ингибирующие концентрации в отношении музейного штамма *Candida albicans* и

концентрации, вызывающие 50%-ный гемолиз эритроцитов. Установлено, что наибольшей активностью обладают 3-O- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-O- α -L-арабинопиранозиды хедерагенина, олеаноловой и эхиноцистовой кислот.

Ключевые слова: тритерпеновые гликозиды, противогрибковая активность, гемолитическая активность, *Kalopanax septemlobum*.

Поспелова Н.В., Копытов Ю.П., Нехорошев М.В. Простой способ подготовки проб для анализа содержания тяжелых металлов в системе «взвесь – мидии – биоотложения» методом атомной адсорбции // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С.156-160.

Разработана методика подготовки проб для анализа содержания тяжелых металлов (Zn, Cd, Cu, Pb) в системе «взвесь – мидии – биоотложения» методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией. Взвешенное вещество собирали на ядерные фильтры. В качестве предварительной подготовки проб для анализа использовали кислотную минерализацию. Подобная пробоподготовка экономна по времени и расходу реактивов, а также создает мягкие условия разложения органического вещества. Концентрация кадмия, меди, цинка в мягких тканях мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. прямо пропорционально содержанию каждого элемента во взвешенном веществе. Практически во всех пробах среди исследованных металлов количественно преобладает цинк и медь. Наблюдается сходство между микроэлементным составом мидий, взвеси и биоотложений, также показано значительное концентрирование цинка, кадмия, и меди в биоотложениях по сравнению с мягкими тканями мидий.

Ключевые слова: метод атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией, металлы, марикультура.

Рубцова С.И., Бурдиян Н.В., Беляева О.И. Аэробно-анаэробные процессы самоочищения контактных зон «суша-море» в акватории Севастопольских бухт // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С.161-169.

Получены сведения о численности гетеротрофных, тионовых, сульфатредуцирующих, денитрифицирующих, углеводородокисляющих групп микроорганизмов в прибрежных наносах региона Севастополя. Проанализированы зависимости численности бактерий от химической характеристики донных осадков, ливневого стока. Сделана попытка оценки самоочищающей способности акватории в аэробных и анаэробных условиях в контактной зоне «суша-море».

Ключевые слова: прибрежные наносы, аэробные и анаэробные бактерии, нефтяные углеводороды.

Сурова Н.А., Крымова В.В. Исследование методом инверсионной вольтамперометрии загрязнения тяжелыми металлами водных экосистем Карадагского природного заповедника // Ученые записки Таврического

национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 170-172.

Показана возможность применения метода инверсионной вольтамперометрии для анализа тяжелых металлов пресноводных и морских экосистем Карадагского природного заповедника. Показана динамика распространения загрязнителей на всю экосистему.

Ключевые слова: инверсионная вольтамперометрия, предельно допустимые концентрации, тяжелые металлы.

Юркова И.Н., Бугара А.М. **Взаимодействие органо-минерального гуминового препарата «Geoplus» с тяжелыми металлами** // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 173-178.

Исследовано взаимодействие гуминового препарата “Geoplus” с кадмием и свинцом в растворах и почве. Показано, что концентрация свободных ионов кадмия и свинца в почве уменьшалась в 10-40 раз. Применение препарата “Geoplus” на загрязненных тяжелыми металлами почвах будет способствовать их оздоровлению.

Ключевые слова: гуминовые препараты, тяжелые металлы, кадмий, свинец, оздоровление почв.

Яковичин Л.А., Рубинсон М.А., Кузнецова А.Л., Гришковец В.И., Корж Е.Н. **Молекулярный комплекс тритерпенового гликозида α -хедерина с силденафилом (виагрой)** // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С.179-182.

Описано получение комплекса тритерпенового гликозида α -хедерина с силденафилом (виагрой). Комплексообразование подтверждено данными инфракрасной спектроскопии.

Ключевые слова: комплекс, тритерпеновые гликозиды, α -хедерин, силденафил, виагра, инфракрасная спектроскопия.

АНОТАЦІЇ

Біологічні науки

Бугара О.М., Кабузенко С.М., Омельченко О.В. Вплив препарату «Geoplus» на стійкість до засолення і посухи рослин кукурудзи на ранніх етапах онтогенезу // Ученьні записки Тавріського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 3-7.

Вивчали вплив препарату «Geoplus» на стійкість до засолення і посухи рослин кукурудзи на ранніх етапах онтогенезу. Встановлено, що препарат «Geoplus» позитивно впливає на енергію проростання і схожість насіння кукурудзи на тлі дії хлоридного засолення, підвищує гідрофільність і водоутримуючу здатність ґрунту, знижує транспірацію рослин.

Ключові слова: гумінове добриво «Geoplus», кукурудза, засолення ґрунту, гідрофільні сполуки, транспірація.

Бугара О.М., Чмельова С.І., Сідякін А.І., Панов Д.О., Работягов В.Д. Калусні культури ломиносу виноградолистного (*Clematis vitalba* L.) - продуценти тритерпенових глікозидів // Ученьні записки Тавріського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 8-13.

Досліджені особливості калусогенезу в культурі вегетативних органів ломиносу виноградолистного та проведений аналіз калусних культур на вміст тритерпенових глікозидів. Показано, що калусні культури містять широкий спектр тритерпенових глікозидів, характерних для інтактної рослини. Разом з цим виявлені фракції тритерпенових глікозидів не характерних органам інтактних рослин ломиносу виноградолистного.

Ключові слова: ломиніс виноградолистний, калусні культури, тритерпенові глікозиди.

Гідулянова Х.В., Конощенко С.В. Вплив окислювального стресу на жирно-кислотний склад мембран еритроцитів в умовах *in vitro* // Ученьні записки Тавріського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 14-20.

Методом газожидкостної хроматографії встановлено, що в умовах ініціації окислювальних реакцій *in vitro* (середовище Фентона) у мембранах еритроцитів здійснюються зміни у вмісті жирних кислот. Зокрема, найбільшого зниження зазнають жирні кислоти родини $\omega 3$. У родинях поліненасичених жирних кислот $\omega 6$ і $\omega 9$ дані зміни мають менш значний характер. Простежується тісна кореляція між рівнем вмісту жирних кислот та концентрацією гідроперекисів і ТБК-активних продуктів у мембранах еритроцитів.

Ключові слова: мембрана еритроцитів, жирно-кислотний склад, окислювальний стрес.

Грабовська О.Ю., Малигіна В.І. Особливості поведінкової адаптації щурів з різними конституціональними особливостями до дії змінного магнітного поля наднизької частоти // Ученьні записки Тавріського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 21-27.

Досліджений вплив змінного магнітного поля наднизької частоти на поведінкову адаптацію щурів з різним рівнем рухової активності і емоційності в «відкритому полі». Показано, що змінне магнітне поле частотою 8 Гц індукцією 5 мкТл посилює процеси гальмування в центральній нервовій системі у тварин з середньою і високою руховою активністю, а у тварин з низькою руховою активністю приводить до посилення процесів збудження.

Ключові слова: змінне магнітне поле, рухова активність, центральна нервова система, поведінкова адаптація, індивідуальна чутливість.

Джелдубасва Е.Р., Чуял О.М. Порівняльне дослідження анальгетичної дії низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надто високої частоти і анальгін у щурів при тонічному болю // Ученьні записки Тавріського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 28-39

Проведено порівняльне дослідження ефективності анальгетичної дії низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надто високої частоти (ЕМВ НВЧ) і анальгін у щурів при експериментально викликаному тонічному болю. Показано, що одноразова дія ЕМВ НВЧ володіє схожим антиноцицептивним ефектом з внутрішньочеревним введенням розчину анальгін у дозі 8 мг/кг. Однак розчин анальгін більшою мірою впливає на протікання другої тонічної фази «формалінового тесту», тоді як попередня дія низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ суттєво змінює динаміку і знижує тривалість першої гострої фази, причому навіть більшою мірою, чим розчин анальгін у дозі 12 мг/кг.

Ключові слова: електромагнітне випромінювання надто високої частоти, анальгін, тонічний біль, гостра фаза та тонічна фаза «формалінового тесту».

Йолкіна Н.М., Казакова В.В. Метаболічні зміни в еритроцитах хворих на цироз печінки // Ученьні записки Тавріського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 40-42.

Показано, що за цирозом печінки змінюється метаболічний стан еритроцитів: інтенсифікуються гліколітичні реакції, зростає активність мембранної K^+ , Na^+ -АТФ-ази, знижується активність ферментів, які приймають участь у відновлювальних процесах клітини.

Ключові слова: еритроцитарний метаболізм, гліколіз, активність ферментів, патологія.

Ібрагімова Є.Є. Вплив аеротехногенного забруднення середовища на репродуктивні органи плодових рослин // Ученьні записки Тавріського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. –

Т. 19 (58). – № 1. – С. 43-49.

Досліджувався стан органів чоловічої репродукції плодових рослин, що виростають в зоні інтенсивного руху автотранспорту, де знайдено підвищений вміст важких металів (свинець і цинк). Наголошується підвищений рівень продукції стерильного пилку репродуктивними органами вивчених рослинних організмів.

Ключові слова: пилоч, стерильність, фертильність, спонтанний, індукований, репродуктивний, екотоксикант, забруднення, тяжкі метали.

Кабузенко С.М., Омельченко О.В. Динаміка накопичення активного натрію в паростках рослин кукурудзи, що відрізняються за ступенем солестійкості // Ученьні записки Таврічеського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 50-56.

Визначали динаміку засолюючих іонів натрію в органах рослин кукурудзи солестійкого гібриду Шаланда МВ і менш солестійкого сорту Одеська 10. Показано що, у рослин більш солестійкого гібриду більше накопичується іонів натрію в корені, ніж у надземній частині, тобто виявляється бар'єрна роль кореня при надходженні «засолюючих» іонів в рослину. Показано роль вільного простору тканин у пристосуванні до екстремального засолення.

Ключові слова: хлоридне засолення, вільний простір, натрій.

Котов С. Ф., Жалдак С. Н., Сімагіна Н. О. Вплив вологості, засолення, конкуренції та алелопатичних взаємодій між рослинами на життєвість і ріст содника в галофітних угрупованнях Криму солестійкості // Ученьні записки Таврічеського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 57-67.

Ценопопуляції содника займають екотопи зі змістом хлорид-аніона близько 1 %. Конкуренція гнітить ріст рослин і знижують швидкість нагромадження органічної речовини в 2,5 рази. Алелопатичні взаємодії галофітів багатолітників погіршують життєвість содника, реальну насінну продуктивність і репродуктивне зусилля.

Ключові слова: *Suaeda acuminata*, *S. prostrata*, засоленість, вологість, конкуренція, алелопатія, Крим.

Омельченко С.О., Залевська І.М. Вміст токсичних елементів у тканинах бичка-кругляка, що живе в акваторіях Чорного і Азовського морів // Ученьні записки Таврічеського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 68-72.

Досліджували вміст токсичних елементів у тканинах широко розповсюдженого виду бичка-кругляка, що живе в прибережних акваторіях Чорного і Азовського морів. Істотні розходження в наявності токсикантів у тканинах бичка-кругляка, що живе в Чорному і Азовському морях, залежать від місця вилову і особливостей екологічного стану акваторій.

Ключові слова: бичок-кругляк, морські акваторії, Азовське і Чорне моря, токсичні елементи.

Отуріна І.П., Заценіна Б.В. Динаміка антибіотикочутливості бактерій *Klebsiella pneumoniae* // Ученьє запискі Таврічєского національного університета ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 73-79.

Досліджена динаміка чутливості штамів *Klebsiella pneumoniae*, що висіяні у Феодосії від людей, до різних груп антибіотиків з використанням методу дифузії в агар. Показана необхідність систематичного моніторингу антибіотикочутливості клебсієл.

Ключові слова: клебсієла, чутливість, антибіотики.

Пальона Ю.В., Філоненко Т.Г., Казакова В.В. Морфо-біохімічні зміни в тонкому кишечнику при впливі іонізуючого випромінювання // Ученьє запискі Таврічєского національного університета ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 80-85.

У статті наведені результати експериментальних досліджень про вплив гамма-випромінювання на баланс протеазо-антипротеазної системи, рівень ендотоксикозу й морфологічні зміни в стінці кишечника. Результати дослідження свідчать про порушення балансу в системі протеолітичних ферментів і їхніх інгібіторів, про підвищення концентрації середніх молекул. Виявлено судинну реакцію тканин на початкових етапах і хронізацію запалення у віддалений термін після опромінення.

Ключові слова: тонкий кишечник, іонізуюче випромінювання, протеоліз, ендотоксикоз, морфологія, запалення.

Погодіна С.В. Вікові особливості реакцій кардіо-респіраторної системи плавців у процесі адаптації до специфічних фізичних навантажень // Ученьє запискі Таврічєского національного університета ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 86-92.

У статті обговорюються вікові зміни реакцій кардіо-респіраторної системи плавців на фізичні навантаження різної потужності. Дані особливості рекомендується враховувати при складанні багаторічних тренувальних програм у спортивному плаванні.

Ключові слова: адаптація, фізичні навантаження, вікові особливості, аеробний потенціал, кардіо-респіраторна система, внутрісистемні взаємозв'язки.

Теплицька Л.М. Моделювання симбіозу у культурі насіння *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce *in vitro* // Ученьє запискі Таврічєского національного університета ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 93-100.

В результаті досліджень була виділена чиста культура ендofітного мікоризного гриба кримської орхідеї виду *C. damasonium* (Mill.) Druce. Підібране середовище та умови його культивування в ізольованих умовах *in vitro*, дані основні біотехнологічні характеристики колонії: швидкість росту, фізичні і хімічні чинники культивування, виявлені морфологічні показники гриба *in vitro* і в рослинах, які є показником фізіологічного стану гриба та його стадії розвитку.

Ключові слова: орхідні, мікориза, симбіоз, культура *in vitro*.

Фазидов А. Р., Бугара О.М., Юркова І.М., Горденко С.Л. Калусні культури плюща звичайного (*Hedera helix L.*) як джерело тритерпенових глікозидів // Ученьні записки Таврічеського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 101-104.

Показана залежність приросту біомаси калуса від вмісту фітогормонів в живильному середовищі. Встановлено, що калусні культури індуковані із зародків плюща звичайного містили основні фракції тритерпенових глікозидів, характерні для інтактної рослини.

Ключові слова: плющ звичайний, калусні культури, тритерпенові глікозиди.

Чуян О.М., Махоніна М.М., Заячнікова Т.В. Модифікуюча дія гіпокінетичного стресу на зміну показника синтетичної активності лімфоцитів крові щурів при впливі низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ // Ученьні записки Таврічеського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 105-112.

Методом люмінесцентного мікроспектрального аналізу проведені дослідження зміни показника синтетичної активності лімфоцитів крові пацюків при послідовному з гіпокінезією дії низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надто високої частоти (ЕМВ НВЧ) (довжина хвилі - 7,1 мм, щільності потоку потужності 0,1 мВт/см²). Показано, що в результаті розвитку гіпокінетичного стресу відбувається зниження показника синтетичної активності лімфоцитів, що є результатом зниження функціональної активності цих кліток. Дія ЕМВ НВЧ на тварин, що попередньо знаходяться в умовах гіпокінетичного стресу, приводить до менш вираженого підвищення показника синтетичної активності лімфоцитів крові пацюків, чим у тварин, що до НВЧ-впливу залишалися інтактні. Отримані дані є свідченням того, що зміна показника синтетичної активності лімфоцитів крові пацюків залежить від вихідного стану організму.

Ключові слова: гіпокінетичний стрес, синтетична активність лімфоцитів, електромагнітне випромінювання надто високої частоти.

Юркова І.Н., Бугара О.М. Культивування в умовах *in vitro* калусної тканини цикламена – джерела біологічно активних речовин // Ученьні записки Таврічеського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 113-117.

Одержані калусні культури *Cyclamen persicum*, що активно ростуть. Показано, що склад глікозидів калусних культур і бульб інтактних рослин близький. Проведені дослідження показують, що калусні культури *Cyclamen persicum* можуть бути перспективним альтернативним джерелом фармакологічно активних тритерпенових глікозидів.

Ключові слова: калусні культури, цикламен, біологічно активні речовини.

Хімічні науки

Алексахкін І.В., Горбунов Р.В., Темна Т.Г. **Процеси сорбції іонів кадмію на ґрунтових зразках** // Ученьні записки Таврічеського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 118-124.

В статті розглянуто процеси адсорбції іонів кадмію на ґрунті озера Сасик-Сиваш. Вивчено вплив величини рН на процеси самоочищення ґрунтів.

Ключові слова: кадмій, адсорбція, ґрунти Сасик-Сиваша

Басєвський О.М., Басєвський М.Ю., Приходько І.М. **Синтез та реакційна здатність 3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-1,5-бензо-діазепин-2-ону** // Ученьні записки Таврічеського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 125-129.

Взаємодією 1,2-фенілендіаміну з метакриловою кислотою синтезовано 3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-1,5-бензодіазепин-2-он. Розглянуто вплив умов конденсації на вихід цільового продукту. Вивчені реакції алкілування та ацилювання 3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-1,5-бензодіазепин-2-ону.

Ключові слова: 3-метил-2,3,4,5-тетрагідро-1Н-1,5-бензодіазепин-2-он; 1,2-фенілендіамін, метакрилова кислота, борна кислота, конденсація, ацилювання, алкілування

Гусєв О.М., Шульгін В.Ф. **Спейсеровані димери на основі ацилдігідрозонів 2-гідроксиацтофенонів** // Ученьні записки Таврічеського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 130-140.

Узагальнено результати дослідження методом електронного парамагнітного резонансу слабких обмінних взаємодій між парамагнітними центрами у біядерних комплексах міді(II) на основі ацилдігідрозонів 2-гідроксиацтофенонів. Проаналізовано чинники, що впливають на інтенсивність обміну, і винесено судження про можливі механізми цього явища.

Ключові слова: купруму(II) комплекси, ацилдігідрозони, електронний парамагнітний резонанс, надтяжка структура, спин-спінова взаємодія.

Довгий І.І., Грішковець В.І. **Використання методів ЯМР-спектроскопії для встановлення будови тритерпенових глікозидів *Cussonia paniculata*** // Ученьні записки Таврічеського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 141-146.

В статті описано використання одно- та двовимірної спектроскопії ядерного магнітного резонансу для встановлення будови тритерпенових глікозидів з листів *Cussonia paniculata*.

Ключові слова: тритерпенові глікозиди, ядерно-магнітна резонансна - спектроскопія, *Cussonia paniculata*, *Araliaceae*.

Обух А.І., Шульгін В.Ф., Ларін Г.М. **Димерні комплекси міді(II) з ацилдігідрозонами фталєвого альдегіду** // Ученьні записки Таврічеського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 147-151.

Синтезовано та досліджено біядерні комплекси міді(II) із ацилдигідрозонами фталевого альдегіду складу $[Cu_2L_nPy_mSolv]$, в яких координаційні поліедри з'єднані поліметиленовим ланцюгом різної довжини (від 1 до 5 ланок). У спектрах електронного парамагнітного резонансу розчинів досліджених комплексів при кімнатній температурі спостерігається сигнал із 4-ох ліній надтонкої структури з константою $50 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$, що свідчить про незалежну поведінку парамагнітних центрів.

Ключові слова: мідь(II) димери, фталевий альдегід ацилдигідрозони, електронний парамагнітний резонанс.

Панов Д.О., Гришковець В.І., Кірсанова М.О., Криворутченко Ю.Л. Протигрибкова та гемолітична активності тритерпенових глікозидів з калопанакса семилопастного // Ученьні записки Тавріського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 152-155.

Вивчено фунгіцидну та гемолітичну активності тритерпенових глікозидів з *Kalopanax septemlobum*. Знайдено мінімальні ігнібуючі концентрації щодо музейного штаму *Candida albicans* та концентрації, що викликають 50%-вий гемоліз еритроцитів. Встановлено, що найбільшу активність мають 3-O- α -L-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 2)-O- α -L-арабінопіранозиди хедерагенину, олеанолової та ехіноцистової кислот.

Ключові слова: тритерпенові глікозиди, протигрибкова активність, гемолітична активність, *Kalopanax septemlobum*.

Поспелова Н.В., Копитов Ю.П., Нехорошев М.В. Простий спосіб підготовки проб для аналізу вмісту важких металів у системі "зважена речовина - мідії - біовідкладення" методом атомної абсорбції // Ученьні записки Тавріського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 156-160.

Розроблено методику підготовки проб для аналізу вмісту важких металів (Zn, Cd, Cu, Pb) у системі "зважена речовина - мідії - біовідкладення" методом атомно-абсорбційної спектроскопії з електротермічної атомізацією. Зважену речовину збирали на ядерні фільтри. Як попередню підготовку проб для аналізу використовували кислотну мінералізацію. Подібна пробопідготовка ощадлива за часом і витратою реактивів, а також створює м'які умови розкладання органічної речовини. Концентрація кадмію, міді, цинку в м'яких тканинах мідії *Mutilus galloprovincialis* Lam. прямо пропорційно вмісту кожного елемента в зваженій речовині. Практично у всіх пробах серед досліджених металів кількісно переважає цинк і мідь. Спостерігається подібність між мікроелементним складом мідій, суспензії і біовідкладень, також показане значне концентрування цинку, кадмію і міді в біовідкладеннях у порівнянні з м'якими тканинами мідій.

Ключові слова: метод атомно-абсорбційної спектроскопії з електротермічної атомізацією, метали, марикультура.

Рубцова С.І., Бурдіян Н.В., Беляєва О.І. Аеробно-анаеробні процеси самоочищення контактних зон «суша-море» в акваторії Севастопольських бухт // Ученьє запискі Таврічеського національного університета ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С.161-169.

Одержано данні про чисельність гетеротрофних, тіонових, сульфатредуктуючих, денітрифікуючих, вуглеводнеокислюючих груп мікроорганізмів в прибережних наносах регіону Севастополя. Проаналізовано залежності чисельності бактерій від хімічної характеристики донних опадів, зливого стоку. Зроблена спроба оцінки самоочищуючої здібності акваторії в аеробних і анаеробних умовах у контактній зоні «суша-море».

Ключові слова: прибережні наноси, аеробні і анаеробні бактерії, нафтові вуглеводні.

Сурова Н.А., Кримова В.В. Дослідження методом інверсійної вольтамперометрії забруднення важкими металами водних систем Карадагського природного заповідника // Ученьє запискі Таврічеського національного університета ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С.170-172.

Показано можливість застосування методу інверсійної вольтамперометрії для аналізу важких металів прісноводних і морських екосистем Карадагського природного заповідника. Показано динаміку поширення забруднювачів на всю екосистему.

Ключові слова: інверсійна вольтамперометрія, гранично допустимі концентрації, важкі метали.

Юркова І.М., Бугара О.М. Взаємодія органо-мінерального гумінового препарату “Geoplus” із важкими металами // Ученьє запискі Таврічеського національного університета ім. В. І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 173-178.

Досліджено взаємодію гумінового препарату “Geoplus” із кадмієм та свинцем у розчинах та ґрунті. Показано, що концентрація вільних йонів кадмію та свинцю у ґрунті зменшувалась у 10-40 раз. Застосування препарату “Geoplus” на забруднених важкими металами ґрунтах буде сприяти їх оздоровленню.

Ключові слова: гумінові препарати, важкі метали, кадмій, свинець, оздоровлення ґрунту.

Яковішин Л.О., Рубінсон М.А., Кузнецова Г.Л., Гришковець В.І., Корж О.М. Молекулярний комплекс тритерпенового глікозиду α -хедерину з силденафілом (віагрою) // Ученьє запискі Таврічеського національного університета ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 179-182.

Описано одержання комплексу тритерпенового глікозиду α -хедерину із силденафілом (віагрою). Комплексоутворення підтверджено даними інфрачервоної спектроскопії.

Ключові слова: комплекс, тритерпенові глікозиди, α -хедерин, силденафіл, віагра, інфрачервона спектроскопія.

SUMMARY

Biological sciences

Bugara A.M., Kabuzenko S.N., Omelchenko A.V. **The influence of preparation «Geoplus» on stability of corn plants to saliniration and drought on early stages of ontogenesis** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 3-7.

The influence of the preparation «Geoplus» on stability of corn plants to saliniration and drought on early stages of ontogenesis was investigated. It was revealed that preparation «Geoplus» has positive action on energy of germination and germination of corn seeds at action of chloride saliniration, increases hydrophylyty and waterkeeping ability of soil, decreases transpiration of plants.

Keywords: fertilizers «Geoplus», corn, saliniration, hydrophylic substances, transpiration.

Bugara A. M., Chmeliyova S. I., Sidiyakin A. I., Panov D. A., Rabotyagov V. D. **Callus cultures of *Clematis vitalba* L. as producent of triterpene glycosides** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 8-13.

Some features of callusogenesis in vegetative organs culture of *Clematis vitalba* L. were studied and the callus cultures were tested on the content of triterpene glycosides there. It was found that callus cultures contain wide spectrum of triterpene glycosides, which is typical for intact plants. Fractions of triterpene glycosides, which were not found in intact plants were detected in callus cultures.

Keywords: *Clematis vitalba* L, callus cultures, triterpene glycosides.

Gidulyanova K.V., Konoshenko S.V. **Influence of oxidizing stress on fatty-acid composition of membranes of erythrocytes in conditions *in vitro*** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 14-20.

By method of gas-liquid chromatography it is established that the changes in the contents of the fat acids are found in membranes erythrocytes under the conditions of initiation oxidizing reactions *in vitro* (Fenton medium). In particular the greatest decrease undergo fat acids of family $\omega 3$. The changes have less expressed character in families $\omega 6$ and $\omega 9$. It is traced close correlations between a level of the contents of fat acids and concentration of hydroperoxides and TBA-active products in membranes of erythrocytes.

Keywords: membrane erythrocytes, fatty-acid composition, oxidizing stress.

Grabovskaya E.Yu., Malygina V.I. **Peculiarities of behavioral adaptation of rats with constitutional traits to action of variable magnet field of extremely low frequency** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 21-27.

The research that carried out touches upon the effects the variable magnetic field influence of extreme low frequency on the behavioral adaptation of rats with various levels of motion activity and emotionality. It was discovered that variable magnet field with 8 Hz frequency and 5 mTl induction reinforced inhibition processes in the central nervous system for animals with middle and high motor activity. At the same time, if an animal has low motor activity, variable magnetic field leads to the inert stream of the excitative processes and the reinforcement of the processes.

Keywords: variable magnet field, motor activity, central nervous system, behavioral adaptation, individual sensibility.

Djeldubaeva E.R., Chuya E.N. Comparative research of anesthetic action of low intensity electromagnetic field of extremely high-frequency and analgin at tonic pain in rats // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 28-39.

Comparative research of efficiency of anesthetic action of low intensity electromagnetic field of extremely high-frequency (EMF EHF) and analgin is conducted for rats in the conditions of experimentally caused tonic pain. It is shown that a single influence of EMF EHF has a similar antinociceptive effect with intraperitoneal injection of solution of analgin in a dose of 8 mgs/kg. However the solution of analgin in a greater degree influences on flowing of the second tonic phase of «formalin test», while the preliminary action of EMF EHF substantially changes the dynamics and reduces duration of the first sharp phase, even in a greater degree, than solution of analgin in a dose of 12 mgs/kg.

Keywords: electromagnetic radiation of extremely high-frequency, analgin, tonic pain, sharp phase and tonic phase of «formalin test».

Yolkina N.M., Kazzkova V.V. Metabolic changes in erythrocytes under cerous of liver // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 40-42.

It has been shown that metabolic state of erythrocytes is changed under cerous of liver: the glycolytic reactions and activity of membrane ATP-ase are increased and activity of some reduction enzymes is lowered.

Keywords: erythrocyte metabolism, glycolysis, activity of enzymes, pathology.

Ibragimova A.A. Influence of airtechnogenic pollution of environment on the reproductive organs of fruit plants // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V.I. Vernadskogo Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 43-49.

The state of organs of masculine reproduction of fruit plants growing in the area of intensive motion of motor transport was explored, where increased maintenance of heavy metals was (lead and zinc) found out. An increased level of sterile pollen production by reproductive organs of the studied vegetable organisms is marked.

Keywords: pollen, sterility, fertility, spontaneous, induce, reproductive, ecotoxicity,

pollution, heavy metals

Kabuzenko S.N., Omelchenko A.V. **The dynamics of accumulation of active sodium in sprouts of corn-plants which are distinguished by degree of stability** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 50-56.

The dynamics of saline ions of sodium in organs of corn-plants of salt-stable hybrid Shalanda MV and less salt-stable sort of Odesskaya 10 was defined. It was shown that in plants of more salt-stable hybrid sodium is accumulated more in the root than in the upperground part. Consequently, the barrier role of root appears at income of «salinization» ion in plant. The role of free area of tissues in accommodation to extreme salinity was shown.

Keywords: chloride salinity, free area, sodium.

Kotov S.F., Galdak S.N., Simagina N.O. **The influence of humidity, salinity, competition and allelopathic interactions between plants on vitality and growth *Suaeda* in halophyte communities of Crimea** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 57-67.

The coenopopulations of *Suaeda* occupy ecotype with the maintenance of chloride ion about 1%. The competition oppresses growth of plants and reduces speed of accumulation of organic substance in 2,5 times. Allelopathic influence of halophytes-perennials reduces vitality of *Suaeda*, real seed efficiency and reproductive effort.

Keywords: *Suaeda acuminata*, *S. prostrata*, salinity, humidity, competition, allelopathy, Crimea.

Omelchenko S.O., Zalevskaya I.N. **Content of toxic elements in the tissues of cloth neogobius melanostomus from aquatories of the Black and Azov Seas** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 68-72.

Content of toxic elements in cloth widely spreader specie - neogobius melanostomus from the Black and Azov Sea littoral aquatories was investigated. Significant differences in content of toxicants in tissues of бычка-кругляка from the Black and Azov Seas depend on place of catching and peculiarities of ecological state of aquatories.

Keywords: neogobius melanostomus, marine areas, Black and Azov Seas, toxic elements.

Oturina I.P., Zacepina B.V. **Dynamics of sensitivity to antibiotics of the bacteria *Klebsiella pneumoniae*** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 73-79.

The dynamics of sensitivity to the different groups antibiotics of the cultures *Klebsiella pneumoniae*, sown in Feodosiya from people, with the use of diffusion in agar method is investigated. The necessity of the systematic monitoring of sensitivity *Klebsiella* to antibiotics is shown.

Keywords: *Klebsiella*, sensitivity, antibiotics.

Palyonaya Yu.V., Filonenko T.G., Kazakova V.V. Morpho-biochemical changes in the small intestine in ionizing radiation // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 80-85.

The investigation revealed changes in balance of protease-antiprotease system, of endotoxic level and morphological disturbance in the wall of intestine. One notes disturbance of balance in proteolytic enzymes and their inhibitors, increased concentration of middle molecules. In the early stage vascular reaction of tissue was revealed and chronic inflammation was noted in the next stage after radiation.

Keywords: small intestine, ionizing radiation, proteolysis, endotoxycosis, morphology, inflammation.

Pogodina S.V. Age features of reactions of intimately respiratory system of the swimmers during adaptation to specific physical loadings // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 86-92.

In clause the age changes of reactions of intimate - respiratory system of the swimmers on physical loadings of various capacity are discussed. The given features are recommended to be taken into account at drawing up of the long-term programs of employment at the swimmers.

Keywords: adaptation, physical loadings, age features, intimate - respiratory system, communication inside system.

*Teplitskaya L.M. Modulation of symbiosis in culture of *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce *in vitro* // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 93-100.*

The clean culture of endomycorrhiza fungus of *C. damasonium* (Mill.) Druce species of Crimean orchids was obtained in the results of our research work. The nutrient media and cultivation conditions *in vitro* were selected, base biotechnological characteristics of the colony were shown: speed of growth, physical and chemical factors of cultivation, morphological parameters of fungus *in vitro* and in the plant were described. All of this parameters could characterize physiological condition of fungus and stages of his development.

Keywords: Orchidaceae, mycorrhiza, symbiosis, culture *in vitro*.

Chuyan E.N., Makhonina M.M., Zayachnikova T.V. Modifying action hypokinetic stress on change of a parameter of synthetic activity lymphocytes blood of rats at influence low intensity UHF EMF // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P.

By method of the luminescent microspectral analysis are carried out researches of change of a parameter of synthetic activity lymphocytes blood of rats at consecutive with

hypokinetic action low intensity electromagnetic field of extremely high frequency (UHF EMF). It is shown, that as a result of development hypokinetic stress there is a decrease in a parameter of synthetic activity lymphocytes, that grows out decrease in functional activity of these cells. Action UHF EMF on the animals which are preliminary being conditions hypokinetic of stress, leads to less expressed increase of a parameter of synthetic activity lymphocytes to blood of rats, than at animals which before influence UHF EMF remained sample used as control. Obtained data are the certificate of that change of a parameter of synthetic activity lymphocytes blood of rats depends on an initial condition of an organism.

Keywords: hypokinetic, synthetic activity of lymphocytes, electromagnetic field of extremely high frequency.

Fazylov A.R., Bugara A.M., Yurkova I.N., Gordenko S.L. Callus culture from the ivy ordinary (Hedera helix L.) as a source triterpen glycosides // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 101-104.

It was shown that a process of callus biomass formation depends on type and concentration of exogenous growth regulators in a nutrient medium. It was shown that callus cultures induced from the embryos of ivy of usual contained basic fractions of triterpen glycosides was similar to those from the intact plants.

Keywords: ordinary ivy, callus cultures, triterpen glycosides.

Yurkova I.N., Bugara A.M. Cultivation in vitro callus tissue of cyclamen - the source of biologically active substances // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 113-117.

Are obtained actively growing callus cultures *Cyclamen persicum*. It is shown that the composition of glycosides of callus cultures and tubers of intact plants is close. The conducted investigations show that the cultures of the callus cultures *Cyclamen persicum* can be promising alternative of the sources of pharmacologically active triterpene glycosides.

Keywords: callus cultures, cyclamen, biologically active substances.

Chemical sciences

Aleksashkin I.V., Gorbunov R.V., Temnaya T.G. Processes of sorption ions of cadmium on soil samples // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry» - 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 118-124.

In a paper the processes of an adsorption of ions of cadmium on soil of lake Sasyk-Sivash are reviewed. Influencing values pH on processes of a self-cleaning of grounds is learnt.

Keywords: cadmium, adsorption, soil of Sasyk-Sivash

Baevsky A.M., Baevsky M.Y., Prichodko I.M. Synthesis and reactionary ability 3-methyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1,5-benzodiazepin-2-one. // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 125-129.

By interaction 1,2-phenylenediamine with 2-methylacrylic acid it is received 3-methyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1,5-benzodiazepin-2-one. Influence of conditions of condensation on an output of a target product is considered. Reactions alkylation and acetylation 3-methyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1,5-benzodiazepin-2-one are investigated.

Keywords: 3-methyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1,5-benzodiazepin-2-one, 1,2-phenylenediamine, 2-methylacrylic acid, boric acid, alkylation, acetylation.

Gusev A.N., Shul'gin V.F. The space-armed copper(II) dimers based on the acylbishydrazones of the 2-hydroxyacetophenones // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 130-140.

Results of the investigations of the weak-long range exchange interaction between paramagnetic ions in the binuclear complexes of copper(II) with acylbishydrazones of the 2-hydroxyacetophenones by EPR method are presented. The reasons that influence on exchange intensity are analyses and probable mechanisms of this phenomena are discussed.

Keywords: copper (II) complexes, acylbishydrazones, EPR, HFS, spin-spin interaction.

*Dovgiy I.I., Grishkovets V.I. Using NMR-spectroscopy methods for structure determination of triterpene glycosides from *Cussonia paniculata* leaves // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 141-146.*

The using of different one- and two-dimensional Nuclear magneticresonance spectroscopy methods for structure determination of triterpene glycosides is described in the article.

Keywords: triterpene glycosides, Nuclear magneticresonance spectroscopy, *Cussonia paniculata*, *Araliaceae*.

Obuh A.I., Shul'gin V.F., Larin G.M. The binuclear copper(II) complexes with acylbishydrazones of the phthalaldehydic acid // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 147-151.

The binuclear copper(II) complexes $[Cu_2L_nPy_mSolv]$ with acylbishydrazones of the phthalaldehydic acid (H_4L), where coordination polyhedrons are connected by polymethylene chain (from 1 to 5 links) have been investigated. Four lines of HFS with constant $\approx 50 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ were observed in EPR spectra liquid solution of the complexes, what exhibit on independent behaviour the paramagnetic centres.

Panov D.A., Grishkovets V.I., Kirsanova M.A., and Krivorutchenko Yu.L. **Antifungal and hemolytic activity's of triterpene glycosides from *Kalopanax septemlobum*** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 152-155.

Antifungal and hemolytic activities of triterpene glycosides from *Kalopanax septemlobum* has been studied. A minimum inhibitory concentration as respects to museum culture of *Candida albicans* and the concentration which calling erythrocytolysis (HC₅₀ value) has been defined. The most active glycosides are 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-O- α -L-arabinopyranosides of hederagenin, oleanolic acid and echinocystic acid.

Keywords: triterpene glycosides, antifungal activity, hemolytic activity, *Kalopanax septemlobum*.

Pospelova N.V., Kopytov J.P., Nekhoroshev M.V. **Simple way of sample preparation for the analysis of heavy metal content in system "a suspension - mussels - biodeposits" by an atomic absorption method** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 156-160.

The technique of sample preparation for the analysis of a heavy metal content (Zn, Cd, Cu, Pb) in system "a suspension - mussels - biodeposits" by method AAC ETA is developed. A suspension is collected on nuclear filters. As preliminary sample preparation for the analysis an acid decomposition is used. Similar sample preparation is economical on time and the charge of reactants, and also creates soft conditions of decomposition of organic substance. Concentration of cadmium, cooper and zinc in soft tissues of mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam. is directly ratio to each element contents in the suspension. Practically in all samples among the investigated metals zinc and cooper quantitatively prevails. Similarity between microelement structure of mussels, a suspension and biodeposits is observed, also significant concentrating of zinc, cadmium and cooper in biodeposits is shown in comparison with soft tissues of mussels.

Keywords: atomic absorption spectroscopy with electrothermal atomization, marine culture.

Rubtsova S.I., Burdian N.V., Belyaeva O.I. **Aerobic-anaerobic processes of the self-purification of contact zones "land – sea" in water area of the Sevastopol bays** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 161-169.

It has been taken data of number heterotrophic, thiobacteria, oil-oxidizing and sulphatereducing bacteria in the littoral line deposits of Sevastopol region. The dependences of number of bacteria on the chemical characteristic of bottom sediments, storm drain are analysed. The attempt of an estimation of the self-purification of ability of water area in aerobic and anaerobic conditions in a contact zone "land- sea" is made.

Keywords: coastal sediment, aerobic and anaerobic bacteria, oil hydrocarbons.

Surova N.A., Krymova V.V. **Investigation of heavy metals pollutions of the Karagag's reserve water system by the invertional voltamperometry method** //

Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 170-172.

Has shown an opportunity of application of a method invertional voltammetry for the analysis of heavy medals of ecological systems of natural reserve Karadag. Dynamic of distubution of pollutions in ecosystem has been shown.

Keywords: invertional voltammetry, maximum permissible, heavy metals

Yurkova I.N., Bugara A.M. **Interaction of organic-mineral humic preparation "Geoplus" with the heavy metals** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 173-178.

Interaction of the "Geoplus" humic preparation with cadmium and lead in solutions and soil was investigated. Decreasing of cadmium and lead free ions concentration from 10 to 40 times was shown in soil. The application of the "Geoplus" preparation on soils polluted by heavy metals will contribute to their sanitation.

Key words: humic preparation, heavy metals, cadmium, lead, sanitation of the soil.

Yakovishin L.A., Rubinson M.A., Kuznetsova A.L., Grishkovets V.I., Korzh E.N. **Molecule complex of triterpene glycoside α -hederine and sildenafil (viagra)** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2006. – V.19 (58). – №1. – P. 179-182.

In this paper the obtaining complex of triterpene glycoside α -hederine and sildenafil (viagra) is described. The complex's formation is confirmed by infrared spectroscopy.

Keywords: complex, triterpene glycosides, α -hederine, sildenafil, viagra, infrared spectroscopy.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

- Алексахкин
Игорь Владимирович** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, ассистент кафедры геоэкологии, e-mail: aligor@rambler.ru.
- Баевский
Алексей Михайлович** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, студент 4-го курса кафедры органической и биологической химии, e-mail: bmy@pop.cris.net.
- Баевский
Михаил Юрьевич** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат химических наук, доцент кафедры органической и биологической химии, e-mail: bmy@pop.cris.net.
- Беляева
Ольга Ивановна** Научно-исследовательский центр Вооруженных сил Украины «Государственный оксанариум», младший научный сотрудник, тел. (0692)552-374.
- Бугара
Александр Михайлович** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии растений и биотехнологии, тел. (0562) 230-392, e-mail: btc@tnu.crimea.ua.
- Бурдиян
Наталья Витальевна** Институт биологии южных морей НАН Украины, ведущий инженер, тел. (0692)543-456.
- Гидулянова
Кристина Викторовна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры биохимии, тел. (0652) 573-551, e-mail: airisia@mail.ru.
- Горбунов
Роман Вячеславович** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, студент кафедры геоэкологии, e-mail: gorbunov_r@ukr.net.
- Горденко
Светлана Леонидовна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры органической химии, тел. (0562) 230-392.
- Грабовская
Елена Юрьевна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент, заведующая кафедрой медико-биологических основ физической культуры, тел. (0652) 225-980.
- Гришковец
Владимир Иванович** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой физической и аналитической химии, e-mail: vladgri@ukr.net
- Гусев
Алексей Николаевич** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат химических наук, ассистент кафедры общей химии, тел. (0652)230-258, e-mail: galex@crimea.edu.
- Джелдубаева
Эльвица Рашидовна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных

биофизики, тел. (0652) 230-365, e-mail: timur@crimea.edu.

- Довгий
Илларион Игоревич** Севастопольский национальный университет ядерной энергии и промышленности, старший преподаватель кафедры химических технологий ядерно-топливного цикла. Адрес: г. Севастополь, ул. Курчатова 7.
- Ёлкина
Наталья Маратовна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры биохимии, тел. (0652) 230-295.
- Жалдак
Светлана Николаевна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, ассистент кафедры ботаники, тел.(0652)230-297, e-mail: galdak@ukr.net.
- Залевская
Ирина Николаевна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии, тел. 8(0652)230-295.
- Зацепина
Белла Валерьевна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, студентка, специализант кафедры физиологии растений и биотехнологии, тел. (0562) 230-392.
- Заячникова
Татьяна Валентиновна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 230-365, e-mail: timur@crimea.edu.
- Ибрагимова
Эвелина Энверовна** РВУЗ: Крымский инженерно-педагогический университет, аспирант кафедры биологии, экологии и безопасности жизнедеятельности, тел.: (0652) 241-106, e-mail: csuru@ukr.net.
- Кабузенко
Светлана Николаевна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии растений и биотехнологии, тел. (0562) 230-392.
- Казакова
Вера Валентиновна** Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, кандидат биологических наук, доцент кафедры медицинской биологии, тел. : (0652) 294-960.
- Качала
Вадим Вадимович** Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН, научный сотрудник. Адрес: Москва, В-334, Ленинский проспект, 47.
- Кирсанова
Марина Александровна** Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, аспирант кафедры микробиологии. Адрес: г. Симферополь, бульвар Ленина 5/7, 95006.
- Коношенко
Светлана
Владимировна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой биохимии, тел.(0652) 441-762.
- Копытов
Юрий Петрович** Институт биологии южных морей НАН Украины, научный сотрудник отдела биотехнологии и биоресурсов, тел. (0692)

550-990.

- Корж
Елена Николаевна** Севастопольский национальный технический университет, кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры физики. тел. (0692)235-106.
- Котов
Сергей Федорович** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, декан биологического факультета, заведующий кафедрой ботаники, тел. (0652)230-235, e-mail: sftkv@ukr.net.
- Криворутченко
Юрий Леонидович** Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии. Адрес: г.Симферополь, бульвар Ленина 5/7, 95006.
- Крымова
Валентина Витальевна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат химических наук, доцент кафедры физической и аналитической химии, тел. (0652) 23-03-92.
- Кузнецова
Анна Леонидовна** Севастопольский национальный технический университет, специализант кафедры физики, тел. (0692) 235-106.
- Ларин
Геннадий Матвеевич** Институт общей и неорганической химии им. Н. С. Курнакова Российской академии наук, доктор химических наук, заведующий лабораторией, профессор, тел. (095) 954-1279, e-mail: lagema@igic.ras.ru.
- Мальгина Вера
Ильинична** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры физической реабилитации, тел. (0652) 255-047.
- Махонина
Мария Михайловна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 230-365, e-mail: timur@crimea.edu.
- Нехорошев
Михаил Валентинович** Институт биологии южных морей НАН Украины, кандидат химических наук, старший научный сотрудник отдела марикультуры и прикладной океанологии, тел. (0692) 550-990.
- Обух
Андрей Иванович** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры общей химии, тел. (0652)230-316.
- Омельченко
Александр
Владимирович** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, соискатель, м.н.с. кафедры физиологии растений и биотехнологии, тел. (0562) 230-392, e-mail: omesavl@ukr.net.
- Омельченко
Светлана Олеговна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирантка кафедры биохимии, тел. (0562) 233-930.
- Отурина
Ирина Павловна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии

- растений и биотехнологии, тел. (0562) 230-392, e-mail: irina.oturina@mail.ru.
- Палёная
Юлия Владимировна** Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, магистр биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной патофизиологии, тел.(0652)294-960, e-mail: palyul@rambler.ru.
- Панов
Денис Александрович** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физической и аналитической химии, тел. (0652) 23-03-92.
- Погодина
Светлана
Владимировна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры спорта, тел. (0652) 258-103.
- Поспелова
Наталья Валериевна** Институт биологии южных морей НАН Украины, аспирант отдела марикультуры и прикладной океанологии, тел. (0692)550-990, e-mail: nani29@front.ru.
- Приходько
Ирина Михайловна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, младший научный сотрудник кафедры органической и биологической химии, e-mail: bmy@pop.cris.net
- Сидякин
Андрей Иванович** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, студент, специализант кафедры физиологии растений и биотехнологии, тел. (0562) 230-392.
- Симагина
Наталья Олеговна** Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского, ассистент кафедры ботаники, зав. гербарием ТНУ, тел.(0652)230-297, e-mail: lno@ukr.net.
- Сурова
Наталья Андреевна.** Таврический экологический институт, кандидат химических наук, доцент, тел. (0652) 23-03-92.
- Работягов
Валерий Дмитриевич** Никитский ботанический сад Национального научного центра. НБС–ННЦ, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник отдела Новых ароматических и лекарственных растений, тел. (0562) 230-392.
- Рубинсон
Мария Анатольевна** Севастопольский национальный технический университет, магистрант кафедры физики, тел. (0692) 235-106.
- Рубцова
Светлана Ивановна** Институт биологии южных морей НАН Украины, кандидат биологических наук, научный сотрудник, тел. (0692) 544-110, e-mail: rubtsova@ibss.iuf.net.
- Темная
Татьяна Геннадиевна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, студент кафедры геоэкологии, e-mail: aligor@rambler.ru.
- Теплицкая
Людмила Михайловна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии растений и биотехнологии, тел. (0562) 230-392, e-mail:

	btc@tnu.crimea.ua.
Фазылов Альберт Рузальевич	Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского, аспирант кафедры физиологии растений и биотехнологии, пр. Вернадского, 4, Симферополь, 95007, тел.(0652) 230-392, e-mail: btc@tnu.crimea.ua.
Филоненко Татьяна Григорьевна	Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии, тел.(0652)222-313, e-mail: tema_fil@mail.ru.
Чмелева Светлана Ивановна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии растений и биотехнологии, тел. (0562) 230-392.
Чуян Елена Николаевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 230-365, e-mail: timur@crimea.edu.
Шашков Александр Степанович	Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН, ведущий научный сотрудник. Адрес: Москва, В-334, Ленинский проспект, 47.
Шульгин Виктор Федорович	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой общей химии, тел. (0652)230-316, e-mail: vshul@crimea.edu.
Юркова Ирина Николаевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Биотехнологический центр, кандидат технических наук, старший научный сотрудник, тел. (0562)230-392, e-mail: btc@tnu.crimea.ua.
Яковишин Леонид Александрович	Севастопольский национальный технический университет, кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры физики (курс химии), тел. (0692) 235-106, e-mail: chemsevntu@rambler.ru.

СОДЕРЖАНИЕ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Бугара А.М., Кабузенко С.Н., Омельченко А.В. ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «ГЕОПЛЮС» НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ЗАСОЛЕНИЮ И ЗАСУХЕ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА	3
Бугара А.М., Чмелева С.И., Сидякин А.И., Панов Д. А., Работягов В.Д. КАЛЛУСНЫЕ КУЛЬТУРЫ ЛОМОНОСА ВИНОГРАДОЛИСТНОГО (<i>CLEMATIS VITALBA L.</i>) - ПРОДУЦЕНТЫ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ	8
Гидулянова К.В., Коношенко С.В. ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ЖИРНО-КИСЛОТНЫЙ СОСТАВ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ <i>IN VITRO</i>	14
Грабовская Е.Ю., Малыгина В.И. ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ КРЫС С РАЗЛИЧНЫМИ КОНСТИТУЦИОНАЛЬНЫМИ ОСОБЕННОСТЯМИ К ДЕЙСТВИЮ ПЕРЕМЕННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ СВЕРХНИЗКОЙ ЧАСТОТЫ	21
Джелдубаева Э.Р., Чуян Е.Н. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕ ВЫСОКОЙ ЧАСТОТЫ И АНАЛЬГИНА ПРИ ТОНИЧЕСКОЙ БОЛИ У КРЫС	28
Ёлкина Н.М., Казакова В.В. МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЭРИТРОЦИТАХ БОЛЬНЫХ ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ	40
Ибрагимова Э.Э. ВЛИЯНИЕ АЭРОТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ НА РЕПРОДУКТИВНЫЕ ОРГАНЫ ПЛОДОВЫХ РАСТЕНИЙ	43
Кабузенко С.Н., Омельченко А.В. ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ АКТИВНОГО НАТРИЯ В ПРОРОСТКАХ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ ОТЛИЧАЮЩИХСЯ ПО СТЕПЕНИ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ	50
Котов С.Ф., Жалдак С.Н., Симагина Н.О. ВЛИЯНИЕ ВЛАЖНОСТИ, ЗАСОЛЕНИЯ, КОНКУРЕНЦИИ И АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МЕЖДУ РАСТЕНИЯМИ НА ЖИЗНЕННОСТЬ И РОСТ СВЕДЫ В ГАЛОФИТНЫХ СООБЩЕСТВАХ КРЫМА	57
Омельченко С.О., Залевская И.Н. СОДЕРЖАНИЕ ТОКСИЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ТКАНЯХ БЫЧКА-КРУГЛЯКА, ОБИТАЮЩЕГО В АКВАТОРИЯХ ЧЕРНОГО И АЗОВСКОГО МОРЕЙ	68
Отурина И.П., Зацепина Б.В. ДИНАМИКА АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i>	73
Палёная Ю.В., Филоненко Т.Г., Казакова В.В. МОРФО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТОНКОМ КИШЕЧНИКЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ	80
Погодина С.В. ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИЙ КАРДИО-РЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ ПЛОВЦОВ В ПРОЦЕССЕ АДАПТАЦИИ К СПЕЦИФИЧЕСКИМ ФИЗИЧЕСКИМ НАГРУЗКАМ	86

Теплицкая Л.М.	
МОДЕЛИРОВАНИЕ СИМБИОЗА В КУЛЬТУРЕ СЕМЯН <i>CERHALANTHERA DAMASONIUM</i> (MILL.) DRUCE <i>IN VITRO</i>	93
Фазылов А. Р., Бугара А.М., Юркова И.Н., Горденко С. Л.	
КАЛЛУСНЫЕ КУЛЬТУРЫ ПЛЮЩА ОБЫКНОВЕННОГО (<i>HEDERA HELIX L.</i>) КАК ИСТОЧНИК ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ	101
Чуян Е.Н., Махонина М.М., Заячникова Т.В.	
МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЯ СИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭМИ КВЧ	105
Юркова И.Н., Бугара А.М.	
КУЛЬТИВИРОВАНИЕ В УСЛОВИЯХ <i>IN VITRO</i> КАЛЛУСНОЙ ТКАНИ ЦИКЛАМЕНА – ИСТОЧНИКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ	113
 <u>ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ</u>	
Алексахкин И.В., Горбунов Р.В., Темная Т.Г.	
ПРОЦЕССЫ СОРЕБЦИИ ИОНОВ КАДМИЯ НА ПОЧВЕННЫХ ОБРАЗЦАХ	118
Баевский А.М., Баевский М.Ю., Приходько И.М.	
СИНТЕЗ И РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ 3-МЕТИЛ-2,3,4,5-ТЕТРАГИДРО-1Н-1,5-БЕНЗОДИАПИН-2-ОНА ОБРАЗЦАХ	125
Гусев А.Н., Шульгин В.Ф.	
СПЕЙСЕРИРОВАННЫЕ ДИМЕРЫ МЕДИ(II) НА ОСНОВЕ АЦИЛДИГИДРАЗОНОВ 2-ГИДРОКСИАЦЕТОФЕНОНОВ	130
Довгий И.И., Гришковец В.И., Качала В.В., Шашков А.С.	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ СТРОЕНИЯ ГЛИКОЗИДОВ <i>CUSSONIA PANICULATA</i>	141
Обух А.И., Шульгин В.Ф., Ларин Г.М.	
ДИМЕРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ МЕДИ(II) НА ОСНОВЕ АЦИЛДИГИДРАЗОНОВ ФТАЛЕВОГО АЛЬДЕГИДА	147
Панов Д.А., Гришковец В.И., Кирсанова М.А., Криворутченко Ю.Л.	
ПРОТИВОГРИБКОВАЯ И ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КАЛАПАНАКСА СЕМИЛОПАСТНОГО	152
Поспелова Н.В., Копытов Ю.П., Нехорошеев М.В.	
ПРОСТОЙ СПОСОБ ПОДГОТОВКИ ПРОБ ДЛЯ АНАЛИЗА СОДЕРЖАНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В СИСТЕМЕ «ВЗВЕСЬ – МИДИИ – БИООТЛОЖЕНИЯ» МЕТОДОМ АТОМНОЙ АДСОРБЦИИ	156
Рубцова С.И., Бурдиян Н.В., Беляева О.И.	
АЭРОБНО-АНАЭРОБНЫЕ ПРОЦЕССЫ САМООЧИЩЕНИЯ КОНТАКТНЫХ ЗОН «СУША-МОРЕ» В АКВАТОРИИ СЕВАСТОПОЛЬСКИХ БУХТ	161

Сурова Н.А., Крымова В.В ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ ИНВЕРСИОННОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ КАРАДАГСКОГО ПРИРОДНОГО ЗАПОВЕДНИКА	170
Юркова И.Н., Бугара А.М. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОРГАНО-МИНЕРАЛЬНОГО ГУМИНОВОГО ПРЕПАРАТА «GEORPLUS» С ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ	173
Яковишин Л.А., Рубинсон М.А., Кузнецова А.Л., Гришковец В.И., Корж Е.Н. МОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС ТРИТЕРПЕНОВОГО ГЛИКОЗИДА α -ХЕДЕРИНА С СИЛДЕНАФИЛОМ (ВИАГРОЙ).....	179
АННОТАЦИИ	183
АННОТАЦІЇ	191
SUMMARY	200
СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	208
СОДЕРЖАНИЕ	213