

**УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ**  
**КРЫМСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО**  
**УНИВЕРСИТЕТА имени В. И. ВЕРНАДСКОГО.**  
**БИОЛОГИЯ. ХИМИЯ**  
**Научный журнал**

**Том 7 (73), № 4**

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

**Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского**  
**Симферополь, 2021**

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

**Учредитель – ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского»  
Печатается по решению Научно-технического совета Крымского федерального  
университета имени В. И. Вернадского, протокол № 6 от 5 октября 2021 г.**

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

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

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

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

**Технический редактор – Ярмолюк Н. С., к. б. н., доц.**

**Раздел «Биология»:**

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

**Раздел «Химия»:**

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

Адрес редакции: 295007, г. Симферополь, пр-т Академика Вернадского, 4, корп. Б, ауд. 328

Подписано в печать 14.12.2021. Формат 70x100 1/16.

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

Дата выхода в свет «\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г.

Отпечатано в управлении редакционно-издательской деятельности  
ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского»

Адрес издательства и типографии:

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

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

# БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

---

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского

Биология. Химия. Том 7 (73). 2021. № 4. С. 3–22.

УДК 597.583.1.152.6 (268.81)

## ОСОБЕННОСТИ МИГРАЦИИ СВИНЦА В ЭКОСИСТЕМЕ КАСПИЙСКОГО МОРЯ

Ершова Т. С.<sup>1</sup>, Зайцев В. Ф.<sup>1</sup>, Чаплыгин В. А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет», Астрахань,  
Российская Федерация

<sup>2</sup>Волжско-Каспийский филиал ФГБНУ ВНИРО («КаспНИРХ»), Астрахань,  
Российская Федерация  
E-mail: ershova\_ts@mail.ru

Исследования посвящены изучению особенностей миграции свинца в экосистеме Каспийского моря. Показано, что Pb преимущественно аккумулируется илистыми донными отложениями. Среди исследованных таксономических групп организмов аккумуляторами свинца являются моллюски *Cerastoderma lamarcki* и *Mytilaster lineatus*, ракообразные *Rhithropanopeus harrisi* и *Balanus improvisus*, из рыб *Benthophilus macrocephalus* и *Syngnathus abaster caspius*. Отмечено, что в *Acipenser gueldenstaedtii* и *Acipenser persicus*, а также в *Alosa braschnikowii* и *Alosa kessleri* свинец депонируется преимущественно жабрами, почками. У *Phoca caspica* свинец аккумулируется в жировой ткани и легких.

**Ключевые слова:** свинец, миграция, донные отложения, моллюски, ракообразные, рыбы, каспийский тюлень, Каспийское.

### ВВЕДЕНИЕ

Повышение уровня содержания свинца в окружающей среде обусловлено его широким применением в промышленности [1] и выносом в водоемы со сточными водами металлургических предприятий, химических производств и т. д. [2, 1]. Производственный потенциал Волгоградской области включает в себя все источники техногенного воздействия (металлургические предприятия, химическая промышленность, металлообрабатывающие предприятия и т. д.) [3]. Таким образом, тяжелые металлы являются одними из основных загрязняющих веществ, поступающих в р. Волгу со всего ее огромного водосборного бассейна [4]. В связи с этим волжский сток, транспортирующий в своем составе различные загрязняющие вещества, оказывает влияние на качественный состав воды Каспийского моря [5, 4].

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись: вода Северо-Западной части Каспийского моря, различные виды донных отложений; моллюски: Митилястер (*Mytilaster lineatus*, Gmelin, 1791), Церастодерма (*Cerastoderma lamarcki*, Reeve, 1844),

моллюски рода Дидакна (*Didacna*, Eichwald, 1838); ракообразные: гаммарусы (*Gammarus*, Fabricius, 1775), морские тараканы (*Saduria entomon*, Linnaeus, 1758), креветки (*Palaemon adspersus*, Rathke, 1837), крабы (*Rhithropanopeus harrisi*, Gould, 1841), балянусы (*Balanus improvisus*, Darwin, 1854); рыбы бентофаги: пуголовка (*Benthophilus macrocephalus*, Pallas, 1787), бычок песочник (*Neogobius fluviatilis*, Pallas, 1814), бычок хвалынский (*Neogobius caspius*, Eichwald, 1831), вобла (*Rutilus rutilus caspicus*, Yakovlev, 1870), русский осетр (*Acipenser gueldenstaedtii*, Brandt, 1833), персидский осетр (*Acipenser persicus*, Borodin, 1897); рыбы – планктофаги: рыба-игла (*Syngnathus abaster caspius*, Risso, 1827), атерина (*Atherina mochon caspia*, Eichwald, 1831), килька обыкновенная (*Clupeonella caspia*, Svetovidov, 1941), сельдь-черноспинка (*Alosa kessleri*, Grimm, 1887), долгинская сельдь (*Alosa braschnikowii*, Borodin, 1904), каспийский тюлень (*Phoca caspica*, Gmelin, 1788).

Пробы гидробионтов получены в результате экспедиций от различных организаций в период 2011–2020 гг.

Концентрацию свинца в объектах исследования определяли на кафедре «Гидробиология и общая экология» АГТУ, используя метод атомно-абсорбционной спектроскопии с применением атомно-абсорбционного спектрометра с электротермической атомизацией МГА-915 МД согласно методик ПНД Ф 14.1:2:4.214-06 [6], ПНД Ф 16.2.2:2.3.71-2011 [7] и ГОСТ 30178-96 [8]. Концентрацию химического элемента выражали в мг/кг сухого веса. Коэффициент накопления (Кн) [9] рассчитывался по формуле:

$$K_n = \frac{C_i}{C}$$

где:  $C_i$  – содержание химического элемента в гидробионтах;

$C$  – содержание химического элемента в морской воде, донных отложениях, организмах питания.

Полученные в ходе исследования результаты обрабатывали статистически.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Вода Северо-Западной части Каспийского моря.** В ходе исследований показано, что содержание свинца в морской воде Северо-Западной части Каспийского моря невысокое и составляло  $4,41 \pm 0,26$  мкг/л и выявленная концентрация не превышала соответствующие предельно-допустимые концентрации для морских вод (10 мкг/л) и водоемов рыбохозяйственного значения (5 мкг/л). По сравнению с 2012–2014 гг. [10] в изучаемом водоеме концентрация свинца снизилась в 1,5 раза.

По мнению Е. В. Островской с соавторами [4] свинец распространялся в волжской струе в основном в поверхностном слое, и его концентрация уменьшалась по мере роста солености, и, следовательно, частично он был принесен на исследуемую акваторию с волжским стоком.

**Донные отложения Каспийского моря.** Биогеохимический анализ донных отложений показал, что свинец преимущественно аккумулировался илистыми образованиями северной части Каспийского моря, где его концентрация составляла  $11,15 \pm 0,94$  мг/кг (таблица 2). Концентрация свинца в песчаных и ракушечных донных отложениях по сравнению с илистыми ниже в 1,4 и 1,6 раза соответственно.

## ОСОБЕННОСТИ МИГРАЦИИ СВИНЦА В ЭКОСИСТЕМЕ ...

В северной части Каспийского моря концентрация свинца во всех исследованных донных отложениях выше, чем в средней части Каспийского моря (таблица 2), что свидетельствует о возможном осаждении свинца из воды в грунтах северной части Каспийского моря по мере увеличения солености воды.

Рассчитанный кларк концентрации свинца данного показателя составляет 0,88 мг/кг в грунтах северной части Каспийского моря и 0,59 мг/кг – в грунтах средней части Каспийского моря, что свидетельствует об относительно низкой биофильности элемента, т.к. кларк концентрации свинца значительно ниже, чем в литосфере (10 мг/кг) [11].

Рассчитанные кларки рассеяния свинца в исследованных видах донных отложений больше 1, причем в средней части Каспийского моря этот процесс происходит более интенсивно (таблица 2).

В таблице 1 представлены значения коэффициента концентрации свинца грунтов северной и средней частей Каспийского моря относительно воды северо-западной части.

**Таблица 1**

### Коэффициент концентрации свинца

	Концентрация свинца, мг/кг сухого вещества	Коэффициент концентрации $K_k = C_{\text{грунт}}/C_{\text{вода}}$
вода северо-западной части Каспийского моря, мг/л	0,004±0,0003	
донные отложения северной части Каспийского моря (усредненные данные)	8,75±0,31	2188
донные отложения средней части Каспийского моря (усредненные данные)	5,95±0,42	1488

**Таблица 2**

### Содержание свинца в различных видах донных отложений Каспийского моря, мг/кг сухого вещества

Виды донных отложений	Северная часть Каспийского моря	Кларки концентрации свинца относительно кларка по А. П. Виноградову $K_k = C_i/K_{\text{кларк}}$	Кларки рассеяния свинца относительно кларка по А. П. Виноградову $K_p = K_{\text{кларк}}/C_i$	Средняя часть Каспийского моря	Кларки концентрации свинца относительно кларка по А. П. Виноградову $K_k = C_i/K_{\text{кларк}}$	Кларки рассеяния свинца относительно кларка по А. П. Виноградову $K_p = K_{\text{кларк}}/C_i$
Илистые	11,15±0,94	1,12	0,89	9,47±0,97	0,95	1
Песчаные	8,23±0,68	0,82	1,2	3,10±0,30	0,31	3,2
Ракушечные	6,88±0,22	0,69	1,5	5,18±0,66	0,52	1,9
Средние значения	8,75±0,31	0,88	1,2	5,95±0,42	0,59	2,03
Кларк свинца по А.П. Виноградову [11] 10 мг/кг						

Свинец – тяжелый металл, который не является эссенциальным элементом и обладает высокой степенью токсичности в отношении гидробионтов, и в связи с этим возникает необходимость в мониторинге данного химического элемента в компонентах гидроценозов Каспийского бассейна.

**Моллюски.** Выбор церастодермы (*Cerastoderma lamarcki*), митилястера (*Mytilaster lineatus*) и моллюсков рода *Didacna* для биогеохимического исследования обусловлен тем, что они являются ценными кормовыми объектами для бентосоядных морских, полупроходных и проходных рыб Каспийского моря [12, 13].

Значения аккумуляции свинца в моллюсках митилястере и церастодерме сопоставимы и составляли  $42,46 \pm 2,22$  и  $44,18 \pm 1,85$  мг/кг (рисунок 1) и по сравнению с митилястером и церастодермой содержание свинца в моллюсках рода *Didacna* почти в 20 раз ниже ( $2,97 \pm 0,2$  мг/кг сухого вещества).

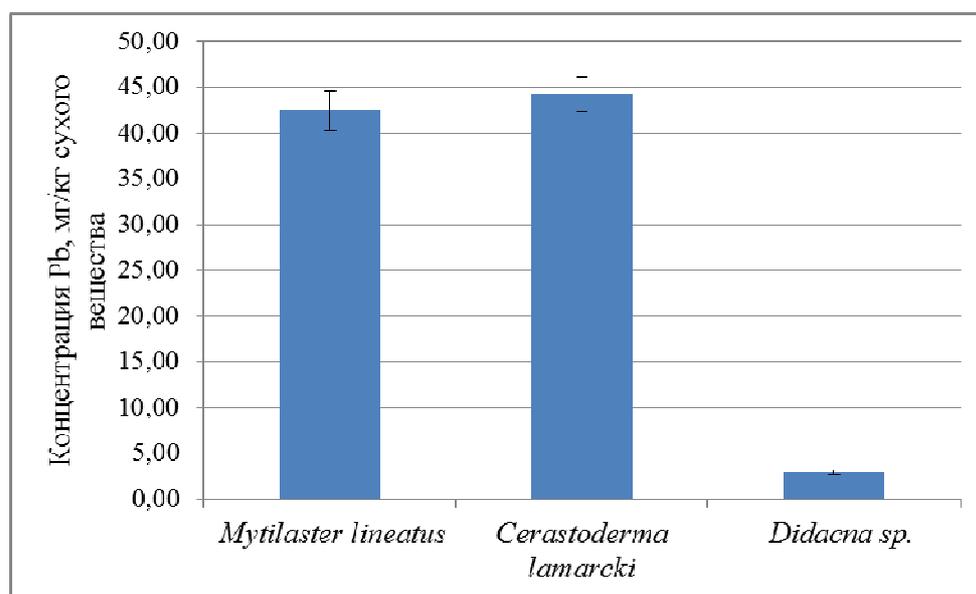


Рис. 1. Концентрация свинца в моллюсках Каспийского моря.

Известно, что химический элементарный состав организмов является одним из их видовых критериев [14]. Кроме того, на видовую специфику аккумуляции металлов моллюсками указывали Л. Т. Ковековдова и М. В. Симоконь [15] в своих исследованиях на данной группе животных Дальнего Востока России.

Исследованные виды моллюсков по способности аккумулировать свинец располагались в следующий убывающий ряд:

*Cerastoderma lamarcki* > *Mytilaster lineatus* > моллюски рода *Didacna*.

С целью выяснения источников поступления свинца в организм моллюсков рассчитаны коэффициенты накопления свинца относительно воды и грунта (таблица 3).

Таблица 3

## Коэффициент накопления свинца моллюсками Каспийского моря

	Концентрация Pb, мг/кг сухого вещества	Коэффициент накопления $K_n = C_i/C_{вода}$	Коэффициент накопления $K_n = C_i/C_{грунт}$
морская вода, мг/кг	0,004±0,0003		
грунт усредненные данные	7,35±0,69		
<i>Mytilaster lineatus</i>	42,46±2,22	10615	5,78
<i>Cerastoderma lamarcki</i>	44,18±1,85	11045	6,01
<i>Didacna sp.</i>	2,97±0,2	743	0,4

Коэффициенты накопления свинца ( $K_n$ ) относительно воды свидетельствуют о том, что все исследованные виды моллюсков являются его концентраторами. Ранее на это в своих работах обращала свое внимание А. В. Махлун [16]. При этом у митиластера и церастодермы  $K_n$  выше в 15 раз по сравнению с таковым дидакны.

**Ракообразные.** Среди исследованных видов ракообразных, обитающих в Каспийском море, наибольшими значениями аккумуляции свинца отличались крабы и баянусы (41,25±1,71 и 43,56±0,05 мг/кг) (рисунок 2), тогда как креветки, напротив, обладали наименьшими концентрациями этого элемента (14,18±0,11 мг/кг сухого вещества), что почти в 3 раза меньше, чем в крабах и баянусах.

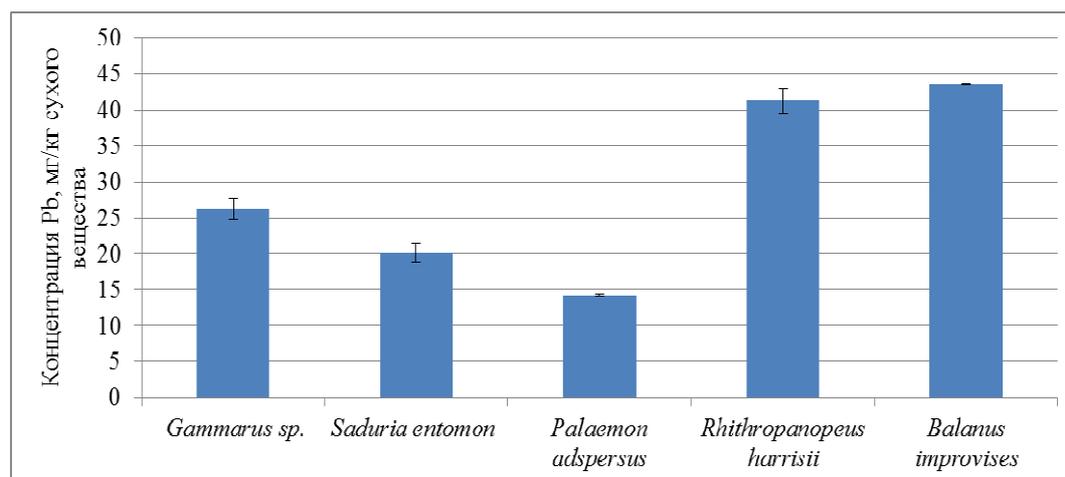


Рис. 2. Концентрация свинца в различных видах ракообразных Каспийского моря.

Исследованные виды ракообразных по способности аккумулировать свинец располагались в следующий убывающий ряд:

*Balanus improvises* > *Rhithropanopeus harrisii* > *Gammarus sp.* > *Saduria entomon* > *Palaemon adspersus*.

В таблице 4 представлены рассчитанные коэффициенты накопления свинца исследованными видами ракообразных.

**Таблица 4**  
**Коэффициент накопления свинца ракообразными Каспийского моря**

	Концентрация Pb, мг/кг сухого вещества	Коэффициент накопления Кн вода = Ci/Свода	Коэффициент накопления Кн вода = Ci/Сгрунт
вода северо-западной части Каспийского моря, мг/л	0,004±0,0003		
грунт усредненные данные	7,35±0,69		
<i>Gammarus sp.</i>	26,24±1,44	6560	3,57
<i>Saduria entomon</i>	20,18±1,22	5045	2,75
<i>Palaemon adspersus</i>	14,18±0,11	3545	1,93
<i>Rhithropanopeus harrisi</i>	41,25±1,71	10313	5,62
<i>Balanus improvisus</i>	43,56±0,05	10890	5,94

На основании рассчитанных коэффициентов накопления свинца относительно воды и грунта показано, что все исследованные виды ракообразных обладают способностью к его аккумуляции.

Лучше всего концентрационная функция выражена у балянусов и крабов.

**Рыбы-бентофаги.** Свинец, влияя на энзиматические процессы рыб, является постоянной нормальной составной частью их органов и тканей [17]. В организме рыб этот микроэлемент накапливается незначительно, так как малые дозы свинца необходимы для нормальной жизнедеятельности рыб [17, 18].

Среди исследованных видов рыб максимальное количество свинца обнаружено в *Benthophilus macrocephalus* (12,47±0,1 мг/кг сухого вещества) (рисунок 3), и в организме *Neogobius fluviatilis* и *Neogobius caspius* этот уровень был достоверно ниже в 1,6 и более чем в 3 раза соответственно.

Наименьшее количество свинца аккумулировалось в организме *Rutilus rutilus caspicus*, где его содержание не превышало 0,5 мг/кг сухого вещества [19].

Относительно русского и персидского осетров был проведен сравнительный анализ микроэлементного состава лишь некоторых органов (жабры, мышцы, почки и печень).

Результаты биогеохимических исследований органов показали максимальные концентрации свинца в жабрах осетров (3 и 2,5 мг/кг сухого вещества у русского и персидского осетров) (рисунок 4). Ранее на кумулятивный эффект этих органов в отношении свинца обращали свое внимание В. И. Воробьев, В. Ф. Зайцев и Е. Н. Щербакова [20].

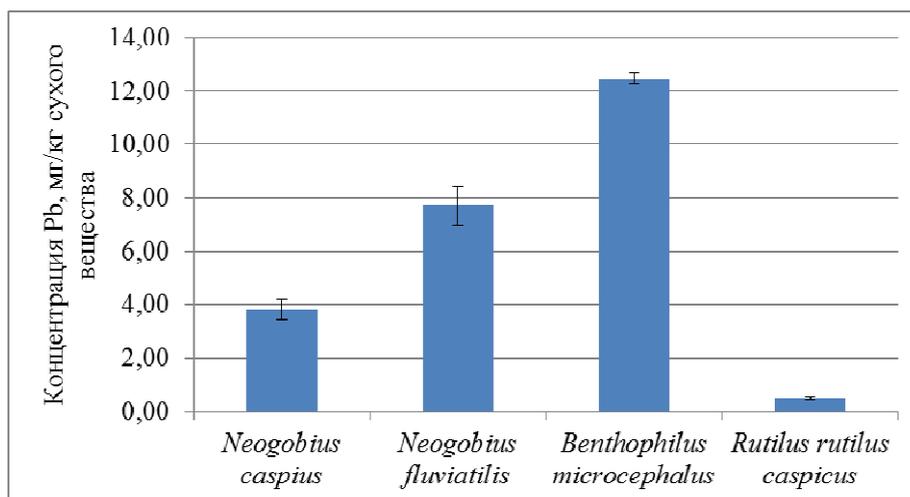


Рис. 3. Концентрация свинца в бентосных представителях ихтиофауны Каспийского моря.

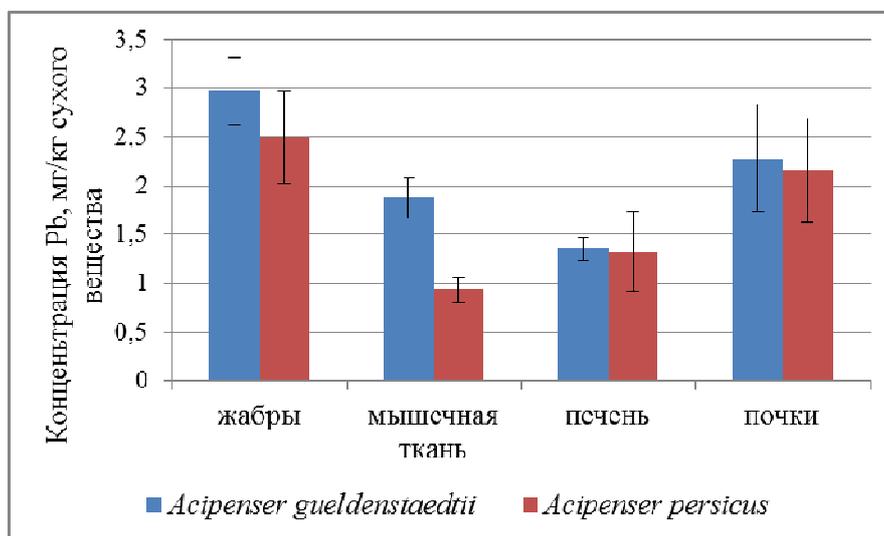


Рис. 4. Концентрация свинца в органах и тканях русского и персидского осетров.

Наибольшие значения исследованного элемента в жабрах можно объяснить их респираторной функцией и, в связи с этим их барьерной ролью, контролирующей проникновение этого поллютанта в организм: в организме в процессах переноса и отложения свинец аналогичен кальцию.  $Pb^{2+}$ , подобно  $Ca^{2+}$ , включается в метаболические процессы, поглощаясь жабрами пресноводных рыб через апикальный Ca-канал [1].

По мнению А. И. Моисеенко с соавторами [1] органом – мишенью для свинца является, прежде всего, почки, как функционально важный орган. Биосинтез и содержание металлотионеинов значительно увеличиваются в почках и печени при поступлении в организм соединений тяжелых металлов. Содержание металлотионеинов в печени меньше, чем в почках, и, соответственно, концентрация свинца выше в почках [21].

На основании вышесказанного далее по накоплению металла органами следовали почки (2,28 и 2,16 мг/кг), а затем печень рыб (1,35 и 1,32 мг/кг сухого вещества у русского и персидского осетров). Содержание свинца в печени у обоих видов осетров почти в 2 раза уступало таковому в жабрах.

По мнению А. Р. Исуева с соавт. [22] свинец легко проникает в организм, концентрируясь в почках и печени, где, как и другие металлы, связывается с протеиновыми ферментами, в частности с SH-группами. Это, в свою очередь, приводит к разрушению клеточных органелл в результате снижения интенсивности синтеза протеиновых белков [23].

Наименьшая кумуляция металла происходила в мышцах персидского осетра и составляла 0,93 мг/кг сухого вещества. У русского осетра по сравнению с персидским уровень накопления свинца мышечной тканью в 2 раза ниже (1,88 мг/кг сухого вещества). В отличие от русского осетра, где содержание поллютанта в мышцах выше предельно установленной концентрации почти в 2 раза, у персидского осетра и не превышало установленных норм в России (1,0 мг/кг сухого вещества). Стоит заметить, что во всех исследованных органах и тканях уровень аккумуляции данного химического элемента выше у русского осетра. При этом это связано не с видовой спецификой аккумуляции, на отсутствие которой ранее указывала в своих работах на других видах рыб Т. И. Моисеенко с соавторами [1], а возможно, причиной этому являются геохимические характеристики мест нагула рыб. Известно, что водные экосистемы суши в сравнении с морскими в большей степени подвержены антропогенному загрязнению [24]. Основным источником свинца в море является речной сток, в связи с этим концентрация химического элемента в компонентах экосистемы выше в северной части Каспийского моря. Русский осетр нагуливается северной части Каспийского моря, где существенно влияние речного стока, тогда как персидский осетр нагуливается в средней и южной части Каспийского моря.

Кроме того, В. Т. Комов, В. А. Гремячих и П. Н. Ершов [24] высказали предположение, что процесс накопления тяжелых металлов в морской рыбе ограничивают повышенная соленость, щелочность и более низкие среднегодовые температуры воды.

Для бентосных представителей ихтиофауны рассчитаны коэффициенты накопления свинца, которые представлены в таблице 5.

У персидского и русского осетров накопителями свинца являются все исследованные органы и ткани, но в большей мере это характерно для жабр и почек.

Рассчитанные коэффициенты накопления свинца органами русского и персидского осетров относительно объектов их питания (рыб-бентофагов) свидетельствуют об отсутствии перехода химического элемента по пищевой цепи.

Таблица 5

**Коэффициенты накопления свинца бентосными представителями ихтиофауны Каспийского моря**

	Концентрация Рb, мг/кг сухого вещества	Коэффициент накопления $K_n = C_i/C_{вода}$	Коэффициент накопления $K_n = C_i/C_{грунт}$	Коэффициент накопления $K_n = C_i/C_{рыб\ бентофагов}$	Коэффициент накопления $K_n = C_i/C_{рыб\ планктофагов}$
вода северо-западной части Каспийского моря, мг/л	0,004±0,0003				
грунт усредненные данные, мг/кг	7,35±0,69				
Рыбы-бентофаги (усредненное значение)	6,13±1,1				
<i>Neogobius caspius</i>	3,84±0,39	960	0,5		
<i>Neogobius fluviatilis</i>	7,71±0,75	1928	1,04		
<i>Benthophilus microcephalus</i>	12,47±0,1	3185	1,7		
<i>Rutilus rutilus caspicus</i>	0,5±0,08	125	0,07		
<i>Atherina mochon caspia</i>	6,53±0,77				
<i>Clupeonella caspia</i>	7,52±1,77				
<i>Syngnathus abaster caspius</i>	26±4,25				
Рыбы-планктофаги (усредненное значение)	13,35±1,23				
<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>					
жабры	2,968±0,35	742	0,4	0,5	0,22
мышцы	1,876±0,2	469	0,3	0,3	0,14
печень	1,348±0,12	337	0,2	0,2	0,1
почки	2,283±0,55	578	0,3	0,4	0,17
<i>Acipenser persicus</i>					
жабры	2,494±0,47	356	0,3	0,4	0,19
мышцы	0,93±0,13	232	0,1	0,2	0,07
печень	1,32±0,41	330	0,2	0,2	0,1
почки	2,157±0,53	539	0,3	0,4	0,16

**Рыбы – планктофаги.** Рыба-игла отличалась наибольшими значениями свинца в своем организме  $26 \pm 4,25$  мг/кг (рисунок 5), а содержание в кильке *Clupeonella cultriventris caspia* и атерине *Atherina mochon caspia* составляло  $7,52 \pm 1,77$  и  $6,53 \pm 0,77$  мг/кг сухого вещества. По сравнению с рыбой-иглой уровень аккумуляции свинца у этих рыб ниже в более чем в 3 раза.

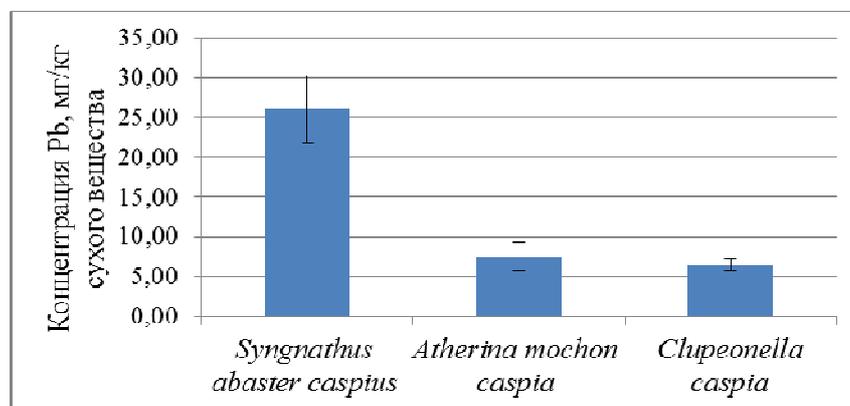


Рис. 5. Концентрация свинца в рыбах планктофагах.

Килька и атерина распространены по всей акватории Каспийского моря, также как и игла-рыба, но последняя в основном укрывается в траве – зостере, которая составляет фитобентос северной части Каспийского моря [25]. Возможно, этим можно объяснить повышенные концентрации свинца в игле-рыбе, которые зависят от биогеохимических условий обитания, связанные с более высокими концентрациями свинца в воде северной части Каспийского моря.

Как и у исследованных видов осетровых максимальные значения свинца зафиксированы в жабрах сельдей ( $7,69 \pm 1,03$  и  $8,45 \pm 0,89$  мг/кг сухого вещества у черноспинки *Alosa kessleri kessleri* и долгинской сельди *Alosa braschnicowii braschnicowii* соответственно) (рисунок 6). В остальных изученных органах содержание химического элемента находилось примерно на одном уровне. Концентрация свинца в них примерно в 8 раз меньше, чем в жабрах.

По способности к аккумуляции свинца органы и ткани исследованных видов сельдей располагаются в следующем убывающем порядке:

жабры > печень  $\geq$  гонады  $\geq$  мышцы.

Сравнивая полученные значения металла в мышечной ткани исследованных видов сельдей с предельно-допустимой (1 мг/кг), было зафиксировано незначительное превышение этой величины.

На основании рассчитанных коэффициентов накопления свинца показано, что все исследованные виды рыб способны аккумулировать в своем организме свинец ( $K_n > 1$ ), а в наибольшей степени это характерно для рыбы-иглы ( $K_n = 70,27$ ) (таблица 6).

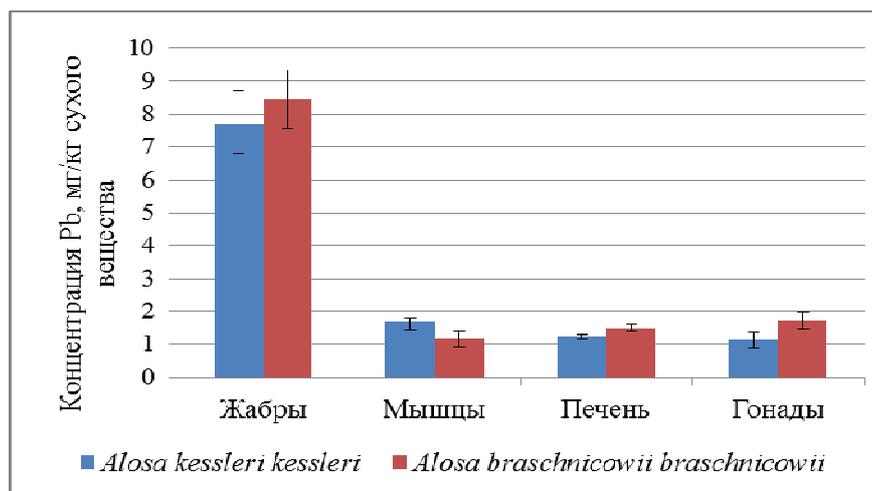


Рис. 6. Концентрация свинца в органах и тканях сельдей.

**Таблица 6**

**Коэффициенты накопления свинца рыбами планктофагами Каспийского моря**

	Концентрация Pb, мг/кг сухой массы	Коэффициент накопления $K_n = C_i/C_{\text{вода}}$	Коэффициент накопления $K_n = C_i/C_{\text{рыбы-планктофаги}}$	Коэффициент накопления $K_n = C_i/C_{\text{рыбы-бентофаги}}$
вода северо-западной части Каспийского моря, мг/л	0,004±0,0003			
<i>Atherina tochon caspia</i>	6,53±0,77	1632		
<i>Clupeonella caspia</i>	7,52±1,77	1880		
Рыбы-планктофаги (усредненное значение)	7,03±1,1			
<i>Neogobius caspius</i>	3,84±0,39			
<i>Neogobius fluviatilis</i>	7,71±0,75			
Рыбы-бентофаги (усредненное значение)	5,78±0,94			
<i>Alosa kessleri kessleri</i>				
жабры	7,69±1,03	1920		
мышцы	1,68±0,12	420		
печень	1,23±0,09	308		
гонады	1,13±0,24	283		
<i>Alosa brashnicowii brashnicowii</i>				
жабры	8,45±0,89	2112		
мышцы	1,16±0,24	290		
печень	1,49±0,1	373		
гонады	1,71±0,25	428		

У исследованных видов сельдей аккумуляционная способность выявлена во всех изученных органах. При этом жабры сельдей отличались высокими значениями коэффициента накопления.

Черноспинка *Alosa kessleri kessleri* и долгинская сельдь *Alosa braschnicowii braschnicowii* являются хищниками. Спектр их питания совпадает, где основными объектами питания по данным В. П. Иванова и Г. В. Комаровой [12] являются килька, атерина, бычки. В связи с этим выявлялась средняя концентрация свинца в объектах питания сельдей и посчитаны коэффициенты накопления металла органами сельдей. На основании рассчитанных коэффициентов накопления отмечено, что свинец не способен мигрировать по цепи питания сельдей.

**Каспийский тюлень *Phoca caspica*.** Свинец, независимо от путей поступления в организм связывается эритроцитами, и поэтому разносится кровью и накапливается, прежде всего, в жировой ткани органов. Возможно, это объясняет обнаружение наибольших значений металла в подкожно-жировой клетчатке тюленей. При этом необходимо отметить, что в возрастных группах особей от 1 до 7 лет и от 7 до 12 лет этот показатель превышал значения предельно допустимого уровня (в 2,5 и 1,5 раза соответственно) (таблица 7).

Таблица 7

**Концентрация свинца в органах и тканях каспийского тюленя**

Органы каспийского тюленя	по данным Т. Ikemoto et al., 2004 [30], мг/г сухой массы	по данным Н. А. Захаровой, 2007 [26], мг/кг сухой массы			По данным Т. С. Ершовой, В. Ф. Зайцева, 2016 [31], мг/кг сухой массы		
		1-7 лет	7-12 лет	12-17 лет	1-7 лет	7-12 лет	12-17 лет
почки	0,116	–	–	–	2,39	1,93	1,12
печень	0,006	4,79			1,97	1,87	1,76
легкие	–	–	–	–	2,3	2,53	1,56
подкожный жир	–	5,45			4,89	2,92	1,04

Наши данные вполне сопоставимы с данными Н. А. Захаровой [26], которая отмечала, что в период с 1992 по 2000 гг. наблюдалась тенденция к снижению концентрации свинца в органах и тканях каспийского тюленя с незначительным повышением его уровня в 2001 г.

Известно, что в кровь проникает всего 30–50 % свинца, поступившего в дыхательные пути, и можно предположить, что значительная его часть оседает в легких, что свидетельствует в пользу полученных результатов.

Биосинтез и содержание металлотионеинов значительно увеличиваются в почках и печени при поступлении в организм соединений тяжелых металлов. Причем содержание металлотионеинов в печени меньше, чем в почках, поэтому концентрация свинца выше в почках [21]. Кроме того, в составе соединений свинец способен откладываться в клетках почечных канальцев, образуя внутриядерные включения, так как у млекопитающих основным путем выведения свинца из тканей являются почки [21].

Часть свинца, поступившего с пищей, у животных превращается в хлорид и комплексы с желчными кислотами, которые всасываются как таковые. Желчь стимулирует транспорт свинца через эпителий слизистой оболочки [27–29, 21]. Тем не менее, в печени концентрация свинца имеет наименьшее значение среди исследованных органов.

Стоит отметить, что уровень содержания свинца в печени тюленей достаточно низкий по сравнению с таковыми, обнаруженными разными исследователями прошлых лет [30]. Так, у японских коллег концентрация свинца в печени соответствовала значению – 0,006 мг/г или 6 мг/кг сухой массы [30], что почти в 3 раза превосходит наши данные.

Данные И. А. Захаровой [26] по степени аккумуляции свинца печенью каспийского тюленя в период с 1992 по 2001 гг. также свидетельствует о достаточно высоких значениях поллютанта в тот период.

Концентрацию свинца в органах и тканях каспийского тюленя можно расположить в следующем убывающем порядке:

жир > легкие > почки > печень.

При проведении сравнительного анализа выявлена обратная тесная зависимость между возрастом тюленей и уровнем его аккумуляции в исследуемых органах ( $r = -0,97$ ;  $r = -0,96$ ;  $r = -0,98$ ;  $r = -0,77$  для почек, печени, жире и легких соответственно).

В результате проведенных исследований у каспийского тюленя по сравнению со старше возрастными особями в возрастном периоде от 1 до 7 лет установлена максимальная концентрация свинца в жире. Показано, что с возрастом степень накопления свинца в органах снижалась [31].

В таблице 8 представлены коэффициенты накопления свинца некоторыми органами и тканями каспийского тюленя.

Рассчитанные коэффициенты накопления свинца органами каспийского тюленя относительно объектов их питания (рыб-планктофагов, рыб-бентофагов) свидетельствуют об отсутствии перехода химического элемента по пищевой цепи.

На рисунках 7 и 8 представлены схемы миграции Pb по звеньям трофической цепи осетров (*Acipenser gueldenstaedtii*, *Acipenser persicus*) и сельдей (*Alosa kessleri kessleri* и *Alosa braschnicowii braschnicowii*). Показано, что свинец не способен мигрировать в цепях питания исследованных рыб. Этот химический элемент способен аккумулироваться лишь беспозвоночными животными.

Таблица 8  
Коэффициенты накопления свинца органами и тканями каспийского тюленя

	Концентрация Pb, мг/кг сухого вещества	Коэффициент накопления $K_n = C_i/C_{вода}$	Коэффициент накопления $K_n = C_i/C_{рыб\ планктофагов}$	Коэффициент накопления $K_n = C_i/C_{рыб\ бентофагов}$
вода северо-западной части Каспийского моря, мг/л	0,004±0,0003			
рыбы – планктофаги (килька и атерина)	5,55±1,04			
рыбы – бентофаги (вобла и виды семейства бычковые)	6,13±1,1			
<i>Phoca caspica</i> почки	1,9±0,02	475	0,3	0,3
печень	1,8±0,04	450	0,3	0,3
жировая ткань	2,95±0,15	738	0,5	0,5
легкие	2,13±0,11	533	0,4	0,3

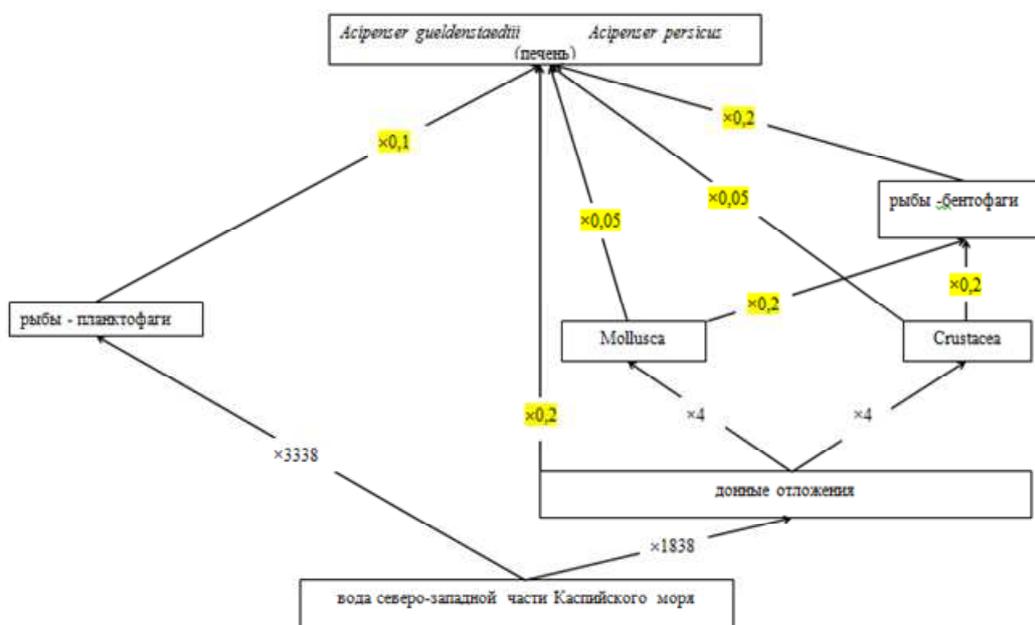


Рис. 7. Миграция Pb по звеньям пищевой цепи *Acipenser gueldenstaedtii* и *Acipenser persicus*

ОСОБЕННОСТИ МИГРАЦИИ СВИНЦА В ЭКОСИСТЕМЕ ...

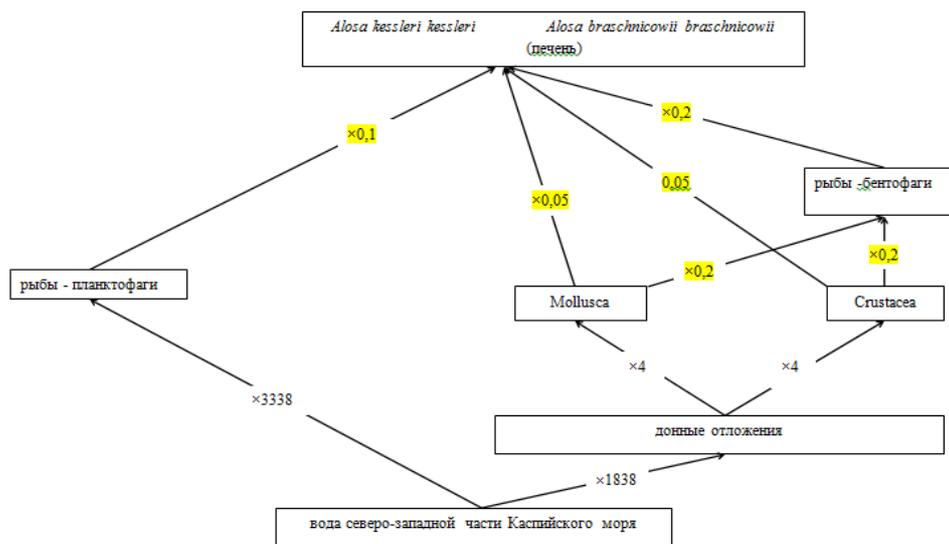


Рис. 8. Миграция Pb по звеньям пищевой цепи *Alosa kessleri kessleri* и *Alosa braschnicowii braschnicowii*.

На рисунке 9 представлена схема перехода Pb по звеньям трофической цепи *Phoca caspica*. Также как и в случае с исследованными трофическими цепями осетров и сельдей свинец в основном аккумулировался беспозвоночными животными. Исключение составляет коэффициент накопления свинца печенью зверя, рассчитанный относительно сельдевых рыб и который свидетельствует об их незначительном участии в накоплении свинца печенью.

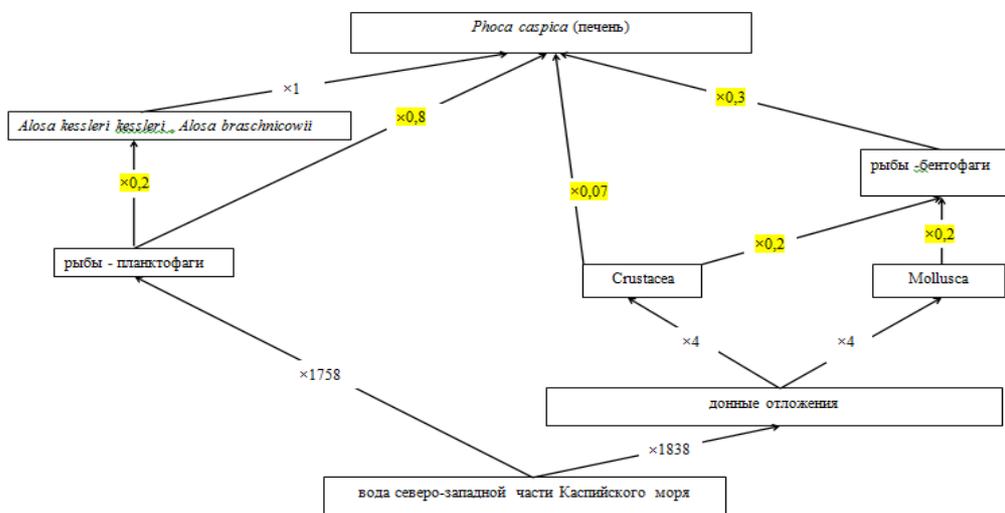


Рис. 9. Миграция Pb по звеньям пищевой цепи *Phoca caspica*.

Рассчитанные коэффициенты накопления свинца органами и тканями русского и персидского осетров, сельди черноспинки и долгинской сельди, а также каспийского тюленя относительно объектов их питания свидетельствуют о том, что он не способен мигрировать по их трофическим цепям.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование грунта и воды Каспийского моря на содержание в них свинца показало, что концентрация свинца в морской воде не превышала предельно установленную величину для морской воды; концентрация свинца меньше его кларка для морской воды (10 мг/кг), предложенного А. П. Виноградовым; свинец осаждается в грунтах северной части, вследствие чего его концентрация в 1,5 раза выше, чем в грунтах средней части Каспийского моря; свинец преимущественно аккумулировался илистыми донными отложениями; в грунтах в период с 2015 по 2019 гг. отмечено уменьшение концентрации Pb в 1,5 раза.

Выявлены организмы – концентраторы свинца в экосистеме Каспийского моря: среди ракообразных *Rhithropanopeus harrisi* и *Balanus improvisus*; среди исследованных видов моллюсков *Mytilaster lineatus* и *Cerastoderma lamarcki*; среди представителей ихтиофауны *Benthophilus microcephalus* и *Syngnathus abaster caspius*. Стоит отметить, что Pb накапливали преимущественно беспозвоночные животные.

Выявлены закономерности распределения свинца в органах и тканях гидробионтов, занимающих вершины трофических уровней: у *Acipenser gueldenstaedtii* и *Acipenser persicus*, *Alosa kessleri kessleri* и *Alosa brashnicowii brashnicowii* свинец преимущественно депонировался в почках и жабрах, у *Phoca caspica* – в жировой ткани, легких и почках.

Таким образом, Pb имеет особенность накапливаться лишь на некоторых трофических уровнях пищевых цепей *Acipenser gueldenstaedtii* и *Acipenser persicus*, *Alosa kessleri kessleri* и *Alosa brashnicowii brashnicowii*, а также *Phoca caspica*.

*Научно-исследовательская работа выполнена в рамках государственного задания Федерального агентства по рыболовству на 2020 год по теме: «Исследование содержания тяжелых металлов в кормовой базе и промысловой ихтиофауне Каспийского моря» № государственной регистрации АААА-А20-120032590074-3*

### Список литературы

1. Моисеенко Т. И. Рассеянные элементы в поверхностных водах суши: Технофильность, биоаккумуляция и экотоксикология / Т. И. Моисеенко, Л. П. Кудрявцева, Н. А. Гашкина. – М.: Наука, 2006. – 261 с.
2. Добровольский В. В. Тяжелые металлы: загрязнение окружающей среды и глобальная геохимия / В. В. Добровольский // Тяжелые металлы в окружающей среде. – М.: МГУ, 1980. – С. 3–12.
3. Болотов В. П. Содержание и миграция тяжелых металлов в компонентах экосистем Волгоградского водохранилища / В. П. Болотов, В. М. Зубкова, Н. Ю. Белозубова // Аграрная наука. – 2015. – №1. – С. 14–16.
4. Островская Е. В. Тяжелые металлы в системе «дельта Волги – Северный Каспий» / Е. В. Островская, В. Ф. Бреховских, З. В. Волкова [и др.] // Юг России: экология, развитие. – 2008. – № 4. – С. 133–140.

5. Кирьянов С. В. Влияние стока Волги на состояние загрязнения Северного Каспия / С. В. Кирьянов, Н. А. Афанасьев // Метеорология и гидрология. – 1992. – № 6. – С. 114–117.
6. ПНД Ф 14.1:2:4.214-06 «Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений массовой концентрации железа, кадмия, кобальта, марганца, никеля, меди, цинка, хрома и свинца в пробах природных и сточных вод методом плазменной атомно-абсорбционной спектrophотометрии» - М.: ФБУ «ФЦАО», 2011. – 22 с.
7. ПНД Ф 16.2.2:2.3.71-2011 «Количественный химический анализ почв. Методика измерений массовых долей металлов в осадках сточных вод, донных отложениях, образцах растительного происхождения спектральными методами». – М.: ФБУ «ФЦАО», 2011. – 46 с.
8. ГОСТ 30178-96 Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов. – М.: Стандартформ. – 2010. – 8 с.
9. Морозов Н. П. Химические элементы в гидробионтах и пищевых цепях / Морозов Н. П. // Биогеохимия океана. – М.: Наука, 1983. – С. 127–165.
10. Бреховских В. Ф. Загрязняющие вещества в водах Волжско-Каспийского бассейна / В. Ф. Бреховских, Е. В. Островская, З. В. Волкова [и др.]. – Астрахань: Сорокин Роман Васильевич, 2017. – С. 236–251.
11. Виноградов А. П. Геохимия редких и рассеянных химических элементов в почвах. / А. П. Виноградов. – М.: изд.-во АН СССР, 1957. – 298 с.
12. Иванов В. П. Рыбы Каспийского моря (систематика, биология, промысел) / В. П. Иванов, Г. В. Комарова // Астрахань: Изд-во АГТУ, 2008. – 224с.
13. Малиновская Л. В. Современная оценка макрозообентоса Каспийского моря как объекта питания бентосоядных рыб (на примере восточного района Северного и Среднего Каспия. / Л. В. Малиновская, Т. Д. Зинченко, Л. А. Кочнева // Аграрная Россия. – 2008. – № 3. – С. 29–34.
14. Вернадский В. И. Проблемы биогеохимии / В. И. Вернадский // Труды биогеохимической лаборатории. – Москва, 1980. – Т. 16. – 320с.
15. Ковековдова Л. Т. Ртуть в донных отложениях и промысловых гидробионтах залива Петра Великого (Японское море). / Л. Т. Ковековдова, М. В. Симоконь // Ртуть в биосфере: эколого-геохимические аспекты. – М.: ГЕОХИ РАН, 2010. – С. 227–230.
16. Махлун А. В. Микроэлементный состав донных сообществ авандельты Волги и западной части Северного Каспия: дисс. ... канд. биол. наук. / А. В. Махлун. – Севастополь 2017. – 157 с.
17. Войнар А. И. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. / А. И. Войнар. – М.: Высшая школа, 1960. – 544 с.
18. Попов П. А. Оценка экологического состояния водоёмов методами ихтиоиндикации / П. А. Попов. – Новосибирск: Изд-во Новосиб. гос ун-та, 2002. – 270 с.
19. Чаплыгин В. А. Бентосные организмы – концентраторы некоторых элементов в экосистеме Каспийского моря / В. А. Чаплыгин, А. С. Танасова, Т. С. Ершова, В. Ф. Зайцев // Биологическое разнообразие Кавказа и Юга России (Махачкала, 6-8 ноября 2018 г.): материалы XX Юбилейной Международной научной конференции. – Махачкала: Типография ИПЭ РД, 2018. – С. 627–630.
20. Воробьев В. И. Биогенная миграция тяжелых металлов в организме русского осетра / В. И. Воробьев, В. Ф. Зайцев, Е. Н. Щербакова. – Астрахань: Изд-во ООО «ЦНТЭП», 2007. – С. 116.
21. Бокова Т. И. Экологические основы инновационного совершенствования пищевых продуктов / Т. И. Бокова. – Новосибирск: Изд-во НГАУ, 2011. – 284 с.
22. Исуюв А. Р. О накоплении мутагенных химических веществ в органах промысловых рыб Каспия / А. Р. Исуюв, А. К. Аскерханов // Каспий – 95 (Москва, 20-23 июня. 1995 г.): материалы Международной конференции. – М., 1995. – С. 100–101.
23. Немова Н. Н. Биохимические эффекты накопления ртути у рыб / Н. Н. Немова. – Москва: Наука, 2005. – 164 с.
24. Комов В. Т. Сравнительное содержание ртути в мышцах рыб водоемов севера Европейской России (Кандалакшский залив Белого моря) / В. Т. Комов, В. А. Гремячих, П. Н. Ершов // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера (Петрозаводск, 5–8 октября 2009 г.): материалы XXVIII Междунар. конф. – Петрозаводск: Карельский науч. центр РАН, 2009. – С. 289–292.
25. Мукатова М. Д. Водные растения Волго-Каспия и возможность их переработки / М. Д. Мукатова, А. В. Привезенцев, Н. А. Киричко, Р. Р. Утеушев // Вестник АГТУ. – 2005. – №3 (26). – С.158–165.

26. Захарова Н. А. Оценка состояния популяции тюленя в Каспийском море и прогноз его добычи на 2007 год / Н. А. Захарова, В. В. Кузнецов, О. М. Валедская // Рыбохозяйственные исследования на Каспии. – Астрахань: Изд-во КаспНИРХа, 2007. – С. 389–401.
27. Трахтенберг И. М. Тяжелые металлы во внешней среде: современные гигиенические и токсикологические аспекты / И. М. Трахтенберг, В. С. Колесников, В. Р. Луковенко. – Минск: Наука и техника, 1994. – С. 285.
28. Барышников И. И. Тяжелые металлы в окружающей среде – проблема экологической токсикологии / И. И. Барышников, В. И. Барышников // Экологическая химия. –1997. – №2. – С. 102–106.
29. Лужников Е. А. Острые отравления / Е. А. Лужников, Л. Т. Костомарова. – М.: Медицина, 1989. – 432 с.
30. Ikemoto T. Comparison of trace element accumulation in Baikal seals (*Pusa sibirica*), Caspian seals (*Pusa caspica*) and northern fur seals (*Callorhinus ursinus*) / T. Ikemoto, T. Kunito, I. Watanabe [et al.]. // Environmental Pollution. – 2004. – Vol. 127. – P. 83–97.
31. Ершова Т. С. Тяжелые металлы в некоторых органах каспийской нерпы (*Phoca caspica*, Gmelin, 1788) / Т. С. Ершова, А. С. Танасова, В. Ф. Зайцев, В. В. Володина // Известия Дагестанского государственного педагогического университета «Естественные и точные науки». – 2016. – Т.10, №2. – С. 27–34.

## FEATURES OF LEAD MIGRATION IN THE ECOSYSTEM OF THE CASPIAN SEA

*Ershova T. S.<sup>1</sup>, Zaitsev V. F.<sup>1</sup>, Chaplygin V. A.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Astrakhan State Technical University, Astrakhan, Russia*

<sup>2</sup>*Volga-Caspian Branch of the All-Russian Scientific Research Institute of Fisheries and Oceanography-KaspNIRKh, Astrakhan, Russia*

*E-mail: ershova\_ts@mail.ru*

The increase in lead in the environment is due to its widespread use in industry and its removal into water bodies with wastewater from metallurgical enterprises, chemical industries. In addition, the concentration of lead in the environment increases due to its increased content in the exhaust gases of vehicles due to the use of tetraethyl lead as an antiknock agent in motor fuel. The objects of study were various types of bottom sediments of the Caspian Sea, sea water, as well as organisms occupying the tops of food chains in the ecosystem of the Caspian Sea: *Acipenser gueldenstaedtii*, *Acipenser persicus*, *Alosa braschnikowii*, *Alosa kessleri*, *Phoca caspica* and their food organisms. Sampling was carried out in the period from 2011–2020. Determination of lead in the studied samples was carried out by atomic absorption spectrometry. The concentration of chemical elements was expressed in mg / kg dry matter. The accumulation coefficient was calculated according to N. P. Morozov.

The concentration of lead in the water of the northwestern part of the Caspian Sea does not exceed the maximum permissible level established for sea waters. Compared to 2012–2014 in the studied water, the lead concentration decreased by 1.5 times.

It is noted that lead is predominantly accumulated by silty bottom sediments, and in the northern part of the Caspian Sea, as compared to the middle one, it is more intensively deposited from the water, which indicates the possible deposition of lead from the water in the soils of the North Caspian as the salinity of the water increases.

Lead was better accumulated by benthic invertebrates. The studied species of mollusks, according to their ability to accumulate lead, were arranged in the following decreasing row: *Cerastoderma lamarcki* > *Mytilaster lineatus* > *Didacna* sp., and the revealed metal concentrations in the studied representatives of crustaceans made it possible to reveal the following pattern: *Balanus improvisus* > *Rhithropanopeus harrisi* > *Gammarus* sp. > *Saduria entomon* > *Palaemon adspersus*.

Among the studied species of benthophagous fish, the largest amount of lead was found in representatives of the *Gobiidae* family, and the smallest in *Rutilus rutilus caspicus*. Among planktophagous fish *Syngnathus abaster caspius* was distinguished by the highest values of lead in its body.

During the work, lead concentrating organisms were identified: the mollusks *Cerastoderma lamarcki* and *Mytilaster lineatus*, *Rhithropanopeus harrisi* and *Balanus improvisus*, from the benthophagous fish *Benthophilus macrocephalus*, from the planktophagous fish *Syngnathus abaster caspius*. In the body of the *Acipenser gueldenstaedtii*, *Acipenser persicus*, as well as in the black-backed herring and *Alosa braschnikowii*, lead is deposited mainly in the gills, kidneys, and liver. In the Caspian seal, lead accumulates in adipose tissue, kidneys and lungs.

Thus, the calculated coefficients of lead accumulation in the organs of *Acipenser gueldenstaedtii* and *Acipenser persicus*, black-backed herring and *Dolginsky herring*, as well as the *Caspian seal* relative to their food objects indicate that it practically does not rise above the trophic level occupied by benthic invertebrates.

**Keywords:** lead, migration, bottom sediments, molluscs, crustaceans, fish, Caspian seal, Caspian.

#### References

1. Moiseenko T. I., Kudryavtseva L. P., Gashkina N. A. *Scattered elements in surface land waters: Technophilicity, bioaccumulation and ecotoxicology*, 261 p. (Moscow, Nauka, 2006). (in Russ).
2. Dobrovolsky V. V. Heavy metals: environmental pollution and global geochemistry, *Heavy metals in the environment*, 3 (Moscow, Moscow State University, 1980). (in Russ).
3. Bolotov V. P., Zubkova V. M., Belozubova N. Yu. The content and migration of heavy metals in the components of the ecosystems of the Volgograd reservoir. *Agricultural science*, 14, 1 (2015). (in Russ).
4. Ostrovskaya E. V., Brekhovskikh V. F., Volkova Z. V. Heavy metals in the «Volga delta – North Caspian» system. *South of Russia: ecology, development*, 133, 4 (2008). (in Russ).
5. Kiryanov S. V., Afanasyev N. A. Influence of the Volga runoff on the state pollution of the Northern Caspian. *Meteorology and Hydrology*, 114, 6 (1992). (in Russ).
6. HDPE F 14.1:2:4.214-06 «Quantitative chemical analysis of waters. Methods of measuring the mass concentration of iron, cadmium, cobalt, manganese, nickel, copper, zinc, chromium and lead in samples of natural and wastewater by plasma atomic absorption spectrophotometry», 22 p. (Moscow: FBU «FCAO», 2011) (in Russ).
7. HDPE F 16.2.2:2.3.71-2011 «Quantitative chemical analysis of soils. The method of measuring the mass fractions of metals in wastewater sediments, bottom sediments, samples of plant origin by spectral methods», 46 p. (M.: FBU «FCAO», 2011) (in Russ).
8. GOST 30178-96 Raw materials and food products. Atomic absorption method for the determination of toxic elements, 8 p. (M.: Standartinform, 2010). (in Russ).
9. Morozov N. P. Chemical elements in hydrobionts and food chains, *Biogeochemistry of the ocean*, 127 (M.: Nauka, 1983). (in Russ).
10. Brekhovskikh V. F., Ostrovskaya E. V., Volkov Z. V. *Pollutants in the waters of the Volga of the Caspian basin*, 236 p. (Astrakhan, Sorokin Roman Vasilievich, 2017). (in Russ).

11. Vinogradov A. P. *Geochemistry of rare and disseminated chemical elements in soils*, 298 (Moscow, publishing house of the Academy of Sciences of the USSR, 1957). (in Russ).
12. Ivanov V. P., Komarova G. V. *Fish of the Caspian Sea (taxonomy, biology, fishing)*, 224 p. (Astrakhan: Publishing house of ASTU, 2008). (in Russ).
13. Malinovskaya L. V., Zinchenko T. D., Kochneva L. A. Modern assessment of the macrozoobenthos of the Caspian Sea as an object of feeding for benthic-eating fish on the example of the eastern region of the North and Middle Caspian. *Agrarian Russia*, 29, 3 (2008). (in Russ).
14. Vernadsky V. I. Problems of biogeochemistry. *Proceedings of the Biogeochemical Laboratory*, 16, 320 (1980). (in Russ).
15. Kovekovdova L. T., Simokon M. V. Mercury in bottom sediments and commercial aquatic organisms in the Peter the Great Gulf (Sea of Japan). *Mercury in the biosphere: ecological and geochemical aspects*, 227 (Moscow, GEOKHI RAN, 2010). (in Russ).
16. Makhlyn A. V. *Microelement composition of benthic communities in the Volga delta and the western part of the North Caspian*: diss. ... cand. biol. sciences: 03.02.10 Hydrobiologiy, 157 (Sevastopol, 2017). (in Russ).
17. Voinar A. I. *The biological role of trace elements in the body animals and humans*, 544 p. (Moscow, Higher school, 1960). (in Russ).
18. Popov P. A. *Assessment of the ecological state of water bodies methods of ichthyoinidication*, 270 p. (Novosibirsk: Publishing house Novosib. State University, 2002). (in Russ).
19. Chaplygin V. A., Tanasova A. S., Ershova T. S., Zaitsev V. F. Benthic organisms – concentrators of some elements in the ecosystem of the Caspian Sea. *Biological diversity of the Caucasus and the South of Russia*: Materials of the XX Anniversary International Scientific Conference (Makhachkala, November 6–8, 2018), 627 (Makhachkala, Printing house IPE RD, 2018). (in Russ).
20. Vorobiev V. I., Zaitsev V. F., Shcherbakova E. N. *Biogenic migration of heavy metals into the organism of the Russian sturgeon*, 116 p. (Astrakhan, Publishing house of LLC «TsNTEP», 2007.). (in Russ).
21. Bokova T. I. *Ecological foundations of innovative improvement of food products*, 284 p. (Novosibirsk, Publishing house of NSAU, 2011). (in Russ).
22. Isuev A. R., Askerkhanov A. K. *On the accumulation of mutagenic chemicals in the organs of commercial fish in the Caspian*. *Caspian - 95*: Materials of the International conference (Moscow, June 20–23, 1995), 100 (Moscow, 1995). (in Russ).
23. Nemova N. N. *Biochemical effects of mercury accumulation in fish*, 164 p. (Moscow, Nauka, 2005). (in Russ).
24. Komov V. T., Gremyachikh V. A., Ershov P. N. Comparative content of mercury in the muscles of fish in water bodies of the north of European Russia (Kandalaksha Bay of the White Sea). *Biological resources of the White Sea and inland water bodies of the European North*: Materials of the XXVIII Intern. conf. (Petrozavodsk, October 5–8, 2009), 289 (Petrozavodsk, Karelian scientific. Center of RAS, 2009). (in Russ).
25. Mukatova M. D., Privezentsev A. V., Kirichko N. A., Uteushev R. R. Aquatic plants of the Volgo-Caspian Sea and the possibility of their processing. *Vestnik AGTU*, 3 (26), 158 (2005). (in Russ).
26. Zakharova N. A., Kuznetsov V. V., Valedskaya O. M. Assessment of the state of the seal population in the Caspian Sea and the forecast of its production for 2007. *Fisheries research in the Caspian*, 389. (Astrakhan: Publishing house of CaspNIRKh, 2007). (in Russ).
27. Trakhtenberg I. M., Kolesnikov V. S., Lukovenko V. R. Heavy metals in the external environment: modern hygienic and toxicological aspects, 285p. (Minsk, Navuka and tekhnika, 1994). (in Russ).
28. Baryshnikov I. I., Baryshnikov V. I. Heavy metals in the environment – a problem of ecological toxicology. *Environmental chemistry*, 102, 2 (1997). (in Russ).
29. Luzhnikov E. A., Kostomarov L. T. *Acute poisoning*, 432 p. (Moscow, Medicine, 1989). (in Russ).
30. Ikemoto T., Kunito T., Watanabe I. Comparison of trace element accumulation in Baikal seals (*Pusa sibirica*), Caspian seals (*Pusa caspica*) and northern fur seals (*Callorhinus ursinus*). *Environmental Pollution*, 83, 127 (2004).
31. Ershova T. S., Tanasova A. S., Zaitsev V. F., Volodina V. V. Heavy metals in some organs of the Caspian seal (*Phoca caspica*, Gmelin, 1788). *News of the Dagestan State Pedagogical University «Natural and Exact Sciences»*, 10 (2), 27 (2016). (in Russ).

**УДК 612.313**

## **САЛЬВОДИАГНОСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ ПРИ ДИСТАНЦИОННОМ ОБУЧЕНИИ**

*Ибрагимова Э. Э.*

*ГБОУВО РК «Крымский инженерно-педагогический университет имени Февзи Якубова»,  
Симферополь, Республика Крым, Россия  
E-mail: evelina\_biol@mail.ru*

В статье представлены данные сальводиагностики ротовой жидкости обучающихся и оценки их функционального статуса в процессе обучения в дистанционном формате. Установлены статистически значимые отличия морфотипов кристаллограмм обучающихся до начала занятий и после их проведения в дистанционной форме. Анализ кристаллограмм, полученных после занятий, позволил установить статистически значимое ( $p \leq 0,001$ ) изменение характера и степени кристаллизации. До занятий средний балл кристаллограмм составил  $3,33 \pm 1,15$ , после –  $2,20 \pm 1,37$ . Угнетение характера кристаллизации отражалось на морфологии кристаллов, появлении аморфных тел и снижении вязкости слюны. Изменение характера вязкости слюны обусловлено усилением адренергической иннервации желез, сопровождающейся секрецией небольшого количества вязкой густой слюны с высокой концентрацией муцина и других органических соединений, но низким содержанием солей.

**Ключевые слова:** дистанционное обучение, обучающиеся, слюнные железы, ротовая жидкость, сальводиагностика, кристаллизация, фация.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Оценка функционального состояния организма представляет значимую практическую ценность, так как позволяет выявлять скрытые изменения до начала манифестации серьезных нарушений, приводящих к заболеваниям различной этиологии. В силу этого исследователи ставят перед собой задачу по разработке и применению методов диагностики, отвечающих ряду важных требований, к числу которых относят неинвазивность, высокую информативность, быстроту реализации и получения данных диагностики, их достоверность. В данном аспекте можно выделить группу современных перспективных методов, отвечающих заявленным требованиям и широко используемых для клинико-диагностических целей, однако для большинства из них требуется применение дорогостоящего оборудования. Следует отметить, что достоверную и информативную картину функционального статуса организма можно получить благодаря биологическим жидкостям (БЖ) внутренней среды организма (крови, лимфы, ликвора), однако для их забора приходится использовать инвазивные методы. В последние десятилетия в клинико-лабораторной диагностике с успехом применяют биологическую жидкость ротовой полости (слюну), которую получают неинвазивно. Слюна в сравнении с выше указанными БЖ является более динамичной средой, отражающей ежедневные

изменения в организме, по которым можно судить о диверсификации на соматическом и психоэмоциональном уровнях [1].

На наш взгляд, оценка функционального состояния обучающихся с каждым годом приобретает все большее значение, так как отмечается снижение уровня здоровья детей, подростков и молодежи [2, 3]. Необходимо проводить постоянный мониторинг состояния здоровья обучающихся с целью идентификации факторов, оказывающих негативное влияние и разработки профилактических мероприятий по снижению возможных рисков. Основными факторами являются наследственные, экологические, климатические, однако показано негативное влияние на состояние здоровья обучающихся и социальных факторов (низкая физическая активность, игнорирование правил ЗОЖ и подверженность вредным привычкам, учебные нагрузки). В конце 2019 года все мировое сообщество столкнулось с очередной глобальной проблемой – пандемией новой коронавирусной инфекции COVID-19. В целях недопущения ее распространения многие сферы, включая образование, были вынуждены перейти в дистанционный формат работы и учебы. Такая нестандартная ситуация в образовательной сфере требовала новых подходов для качественной реализации учебного процесса, с которой педагоги и обучающиеся довольно неплохо смогли справиться, однако постоянное пребывание за гаджетами оказывает определенное влияние на организм, в частности на зрительную систему, опорно-двигательный аппарат, центральную нервную систему [4–7]. Значимую практическую ценность приобретает оценка функционального состояния обучающихся, находящихся в течение продолжительного времени за компьютерами в период дистанционного обучения. Согласно исследованиям Васильевой Н. А. [8], ротовая жидкость является индикатором для регистрации патогенного воздействия электромагнитного излучения персонального компьютера на организм пользователя.

Использование ротовой жидкости (саливадиагностика) для оценки функционального статуса организма обосновано тем, что она является сложным фильтратом плазмы крови и отражает состояние динамического постоянства внутренней среды организма [9]. Цель исследования – оценка функционального состояния обучающихся во время дистанционного формата обучения на основе анализа динамики кристаллогенной активности смешанной слюны, так как исследование кристаллизации биологических жидкостей может проводиться при воздействии факторов различной природы [1, 10].

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Материал для исследования (ротовую жидкость, РЖ) собирали дважды – утром перед началом занятий, затем после окончания занятий в дистанционном режиме. Перед забором обследуемые тщательно прополаскивали ротовую полость водой, затем собирали РЖ методом сплевывания в специальные стерильные полипропиленовые пробирки с крышкой и хранили в течение суток при комнатной температуре для дальнейшего исследования, так как образцы слюны стабильны на протяжении семидневного хранения при комнатной температуре [11].

Для кристаллографического анализа каплю смешанной слюны помещали на химически чистое обезжиренное предметное стекло и высушивали до полного

высыхания при комнатной температуре строго в горизонтальном положении. При дегидратации слюны происходит кристаллизация и формируется фация (пленка-кристаллизат), причем форма образующихся кристаллов отражает состав слюны, зависящий от функционального состояния организма [1, 11–13].

Через 3–4 часа после высыхания полученные фасции фотографировали, так как структура кристаллов РЖ сохраняется неизменной до 36 часов [12]. Визуальную оценку морфотипов полученных фаций проводили при помощи системы морфометрического анализа изображений, включающей микроскоп “Leica DM”, видеокамеру “Сапоп” и персональный компьютер. Проводили микроскопическое исследование всей площади высохших капель смешанной слюны и выражали в усредненном балле, в зависимости от типов кристаллообразования [11, 14]. Кристаллограммы исследовали путем детального описания кристаллов с отростками (дендритами) и статистически обосновывали их отличия, так как данные качественные показатели могут использоваться для экспресс-оценки функционального статуса [8]. Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи парного t-критерия Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анализа характера кристаллизации РЖ, полученной до и после занятий в дистанционном формате обучения путем сравнения морфотипов фаций, позволили выявить определенные отличия, свидетельствующие о изменении метаболического статуса обследуемых. В частности, обзорное микроскопическое исследование фаций РЖ, полученных до начала занятий, позволило установить разную степень и характер кристаллизации. Так при анализе фаций РЖ, полученных до начала занятий (рис. 1), были выявлены кристаллограммы в виде четких удлинненных кристаллических структур, берущих начало в центр капли и образующих древовидную (рис. 1, а), папоротникообразную (рис. 1, б) морфологию или представленных призматическими структурами, крестами, ветками. Полученные морфотипы ранжировали по 5-балльной шкале [11, 14].

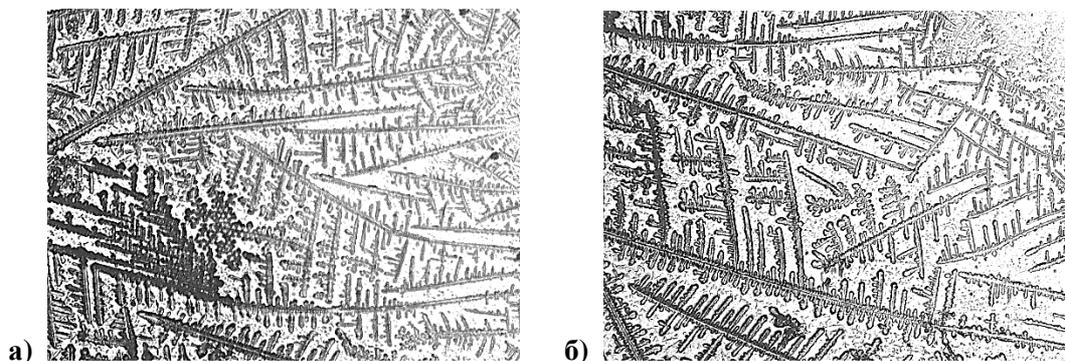


Рис. 1. Фации кристаллограмм ротовой жидкости обследованных обучающихся до начала занятий (5 баллов).

У 13,33 % обследованных были идентифицированы четкие кристаллограммы с ярко выраженными древовидными и папоротникообразными рисунками (что соответствует 5 баллам по шкале ранжирования). У большей части обучающихся – 40 % – кристаллограммы были представлены удлинненными кристаллами, имеющими форму призм, сходящихся между собой в произвольном порядке, что соответствует 4 баллам. При морфологическом анализе кристаллограмм 20 % обследуемых обнаруживались отдельно расположенные кристаллы без симметрии в центральной зоне фации, переходящие на периферии в более крупные древовидные структуры (3 балла) (рис. 2, а). Такое же количество (20 %) обучающихся имели фации с рисунком в виде отдельных веточек, крестов, хаотично расположенных по всей площади фации (2 балла) (рис. 2, б).

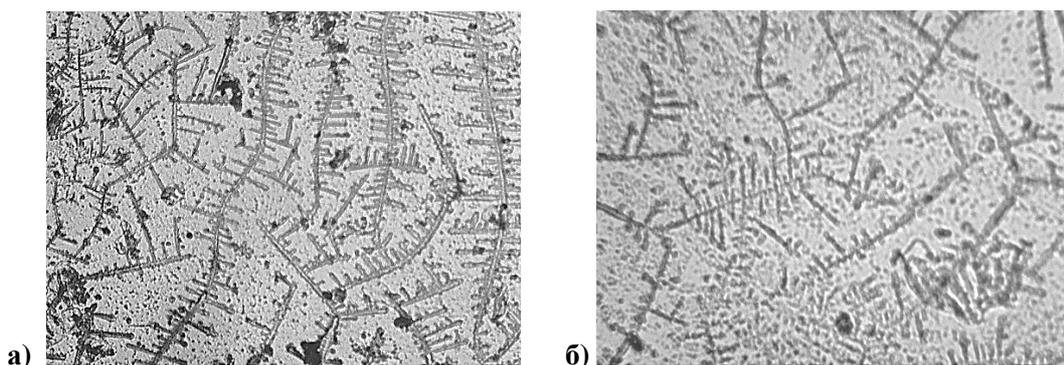


Рис. 2. Фации кристаллограмм ротовой жидкости обследованных обучающихся до начала занятий (2–3 балла).

У 2,6 % обследованных кристаллы отличались мелкими размерами, имели эллипсоидную или звездчатую форму, древовидных структур не идентифицировалось (1 балл). Таким образом, 46,67 % обучающихся имели низкий показатель кристаллизации РЖ, варьиравший в пределах от 1 до 3 баллов, что может свидетельствовать о нарушении структурных свойств РЖ.

Анализ кристаллограмм, полученных после занятий в дистанционном формате, позволил установить статистически значимое ( $p \leq 0,001$ ) изменение характера и степени кристаллизации. До занятий средний балл кристаллограмм составил  $3,33 \pm 1,15$  ( $m = \pm 0,211$ ), после  $2,20 \pm 1,37$  ( $m = \pm 0,251$ ). Снижение характера кристаллизации отражалось на морфологии кристаллов, отражавшейся в нарушении их формирования и упрощении структуры. Бельская с соавторами отмечает [11], что для формируемых в процессе высушивания образцов РЖ характерна достаточно выраженная вариабельность кристаллограмм, обусловленная особенностями формирующегося структурного каркаса (органического матрикса из молекул муцина), служащего основой для образующихся кристаллов. Кристаллизации РЖ на открытой поверхности при высыхании формирует три зоны: центральную, промежуточную и периферическую. В центре капли формируются самые крупные дендритные кристаллы в виде папоротника, обусловленная наличием в их структуре

гликопротеида муцина, имеющего разветвленную структуру. Возможно, нарушение кристаллического узора, неравномерность и хаотичность распределения кристаллов в различных участках дегидратизированной капли свидетельствует о изменении состава смешанной слюны при длительном пребывании у монитора. Было обнаружено не только изменение кристаллообразования биосубстрата, но и значительное упрощение структуры и количества формируемых кристаллов (рис. 3, а), а также полное их ингибирование и появление различных аморфных тел (рис. 3, б), увеличение ячеистости (0 баллов) у 13,33 % обучающихся после 5–6 часового пребывания у монитора (рис. 3).

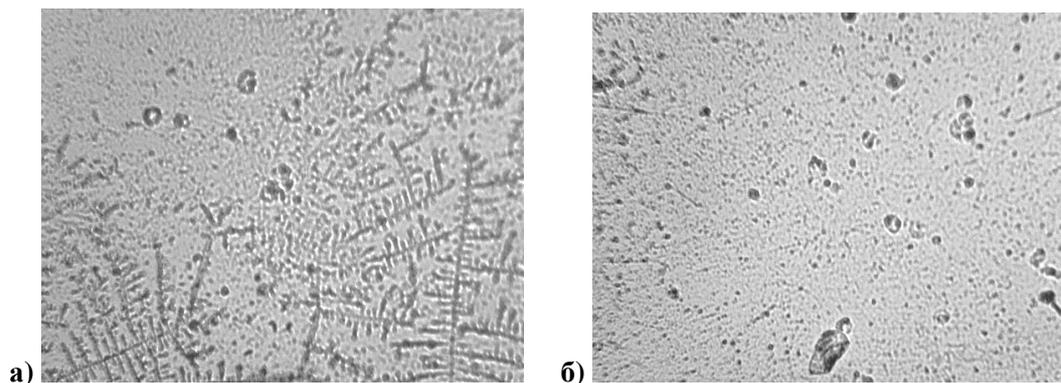


Рис. 3. Фазии биосубстрата обучающихся после занятий (а – угнетение и упрощение кристаллообразования, б – полное ингибирование кристаллогенеза).

Полученные данные согласуются с представленными в литературных источниках [8], согласно которым установлена зависимость реакции организма пользователя ПК от времени работы на нем, проявляющаяся выраженной тенденцией к деструктурированию кристаллов РЖ. В процессе анализа характера кристаллизации биосреды после пребывания за ПК, были выявлены кристаллы, характерные для слюны с повышенной вязкостью, о чем свидетельствовало их плотное и хаотичное расположение и наличие большого количества аморфных и зернистых структур более темного цвета. Увеличение вязкости слюны обусловлено изменением характера иннервации слюнных желез вегетативной нервной системой. Влияние симпатических и парасимпатических эффекторных воздействий на секреторную функцию слюнных желез и их кровоснабжение неодинаково. Парасимпатическая иннервация слюнных желез обуславливает обильную секрецию жидкой слюны с высокой концентрацией солей и низкой органических соединений. Холинергическое воздействие, приводящее к усилению процесса слюноотделения, параллельно приводит к вазодилатации кровеносных сосудов слюнных желез и усилению в них кровообращения. В свою очередь усиление адренергической иннервации желез приводит к секреции небольшого количества вязкой густой слюны с высокой концентрацией муцина и других органических соединений, но низким содержанием солей. Ограничение слюноотделения при усилении

адренергических нервных влияний сочетается с вазоконстрикцией кровеносных сосудов слюнных желез и уменьшением в них интенсивности кровотока [15]. Следовательно, длительное пребывание за монитором ПК оказывает воздействие на нервную систему [8], приводящее к активации процессов возбуждения в вегетативной нервной системе. Отличительной особенностью воздействия ЭМИ от ПК является возможность кумуляции биоэффекта на протяжении длительного времени и риск развития отдаленных последствий [16]. В нашем исследовании это воздействие было выявлено при сальводиagnosticе слюнных желез, приводящее к снижению секреции слюны и содержания в ней неорганических солей, что негативно сказывается на процессах кристаллизации. Полученные данные подтверждают необходимость четкого соблюдения правил работы за ПК, подразумевающих необходимость соблюдения перерывов между парами, которые многие пользователи не соблюдают.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Проведена сальводиagnosticа ротовой жидкости обучающихся в динамике дистанционного обучения на основе сравнительного анализа фаций кристаллограмм, полученных до и после занятий и ранжирования их по 5-балльной шкале.

Обзорное микроскопическое исследование кристаллограмм обучающихся, полученных до начала занятий, позволило установить разную степень и характер кристаллизации. В частности, 13,33 % обследованных имели четкие кристаллограммы с древесными и папоротникообразными рисунками, что соответствует 5 баллам, 40 % были оценены в 4 балла, по 20 % – 3 и 2 балла), 2,6 % – 1 балл. В целом у 46,67 % обучающихся выявлен низкий показатель кристаллизации биосреды, варьирующийся в пределах от 1 до 3 баллов.

Характер кристаллограмм, полученных после занятий в дистанционном формате, отличался статистически значимыми ( $p \leq 0,001$ ) отличиями, имеющими тенденцию к ухудшению кристаллообразования, вплоть до полного угнетения. До занятий средний балл кристаллограмм составил  $3,33 \pm 1,15$ , после  $2,20 \pm 1,37$ . Высказано предположение, что основной причиной данного процесса является длительное пребывание обучающихся у монитора, о чем свидетельствует появление аморфных и зернистых структур более темного цвета и изменение вязкости слюны.

Увеличение вязкости слюны при длительном пребывании у монитора обусловлено усилением адренергической иннервации желез и уменьшением в них интенсивности кровотока.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости соблюдения временных регламентов работы на ПК.

### **Список литературы**

1. Бельская Л. В. Кристаллизация биологических жидкостей – перспективы использования при диагностике / Л. В. Бельская, О. А. Голованова, В. Г. Туманидзе, Е. С. Шукайло // Бутлеровские сообщения. – 2010. – № 15. – С. 175.

2. Миннибаев Т. Ш. Комплексная оценка состояния здоровья студентов по результатам профилактических медицинских осмотров. Группы здоровья. / Т. Ш. Миннибаев, И. К. Рапопорт, В. В. Чубаровский, О. А. Савчук, К. Т. Тимошенко, С. В. Катенко // Здоровье населения и среда обитания. – 2014. – № 10 (259). – С. 16–18.
3. Ибрагимова Э. Э. Мониторинг уровня стресса обучающихся как подход профилактики нарушения регуляторных механизмов / Э. Э. Ибрагимова // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Социология. Педагогика. Психология. – 2019. – Т. 5 (71). – № 2. – С. 83–90.
4. Власова Е. М. Основные направления сохранения здоровья работающих с компьютерами / Е. М. Власова, Н. Н. Малютин // Медицина труда и промышленная экология. – 2003. – № 4. – С. 47–48.
5. Ким И. Н. Влияние электромагнитных полей на пользователя компьютерного оборудования / И. Н. Ким, Е. В. Мегеда // Гигиена и санитария. – 2007. – № 1. – С. 44–48.
6. Ким И. Н. О негативном влиянии видеотерминалов на органы зрения / И. Н. Ким, Е. В. Мегеда // Гигиена и санитария. – 2007. – № 2. – С. 30–33.
7. Чернозубов И. Е. Компьютер и здоровье / И. Е. Чернозубов // Лесная новь. – 1998. – № 7. – С. 21.
8. Васильева Н. А. Влияние электромагнитного излучения компьютера на состояние ротовой жидкости и твердых тканей зубов человека (клинико-экспериментальное исследование) : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.14 – стоматология. / Н. А. Васильева. – Омск, 2016. – 175 с.
9. Постнова М. В. Ротовая жидкость как объект оценки функционального состояния организма человека / М. В. Постнова, Ю. А. Мулик, В. В. Новочадов, А. Б. Мулик, Н. О. Назаров, Д. М. Фролов // Вестник Волгоградского государственного университета. Серия 3: Экономика. Экология. – 2011. – № 1 (18). – С. 246–253.
10. Коротких Н. Г. Влияние факторов внешней среды на кристаллизацию ротовой жидкости / Н. Г. Коротких, А. Н. Пашков, С. В. Болгов, В. П. Лошкарев // Стоматология. – 2002. – № 4. – С. 13–16.
11. Бельская Л. В. Кристаллизация биологических жидкостей – перспективы использования при диагностике / Л. В. Бельская, О. А. Голованова, Е. С. Шукайло. – Электронный ресурс. – Режим доступа: butlerov.com › Belskaya1\_28\_12\_2010\_44.
12. Вавилова Т. П. Биохимия тканей и жидкостей полостей рта / Т. П. Вавилова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 208 с.
13. Denisov A. V. Crystallization of components oral fluid in diabetics in case of absence of crystal structures / A. V. Denisov, G. M. Varer, E. I. Selifanova // Bull. Exp. Biol. Med. – 2005. – Vol. 140, № 1. – P. 100–101.
14. Пузикова О. Ю. Прогнозирование развития кариеса зубов с учетом интегрированных показателей и математического моделирования: автореф. дис. ... канд. мед. наук / О. Ю. Пузикова. – Омск, 1999. – 19 с.
15. Киричук В. Ф. Лекция 3 ротовое пищеварение, состав слюны и механизмы регуляции слюноотделения / В. Ф. Киричук, Е. В. Понукалина, Н. П. Чеснокова, Н. В. Полутова // Научное обозрение. – 2018. – № 1. – С. 63–67
16. Григорьев Ю. Г. Персональный компьютер – гигиеническая характеристика физических факторов на рабочем месте пользователя и оценка их возможного влияния на здоровье / Ю. Г. Григорьев [и др.] // Электромагнитные поля и здоровье человека / под ред. Ю. Г. Григорьева. – Москва, 2002. – С. 65–80.

## SALVODIAGNOSTICS OF THE FUNCTIONAL STATE OF STUDENTS WITH DISTANCE LEARNING

*Ibragimova E. E.*

*Crimean Engineering and Pedagogical University named after Fevzi Yakubov, Simferopol, Republic of Crimea, Russia*

*E-mail: evelina\_biol@mail.ru*

Salvodiagnosics of the oral fluid of students in the dynamics of distance education was carried out on the basis of a comparative analysis of the facies of crystallograms obtained before and after lessons and their ranking on a 5-point scale.

A survey microscopic examination of the students' crystallograms, obtained before the start of lessons, made it possible to establish a different degree and nature of crystallization. In particular, 13.33 % of the surveyed had clear crystallograms with tree-like and fern-like patterns, which corresponds to 5 points, 40 % were rated at 4 points, 20% – 3 and 2 points), 2,6 % – 1 points. In general, 46,67 % of students showed a low crystallization rate of the biological environment, which varied from 1 to 3 points.

The nature of the crystallograms obtained after lessons in the distance format differed in statistically significant ( $p \leq 0,001$ ) differences, which tend to deteriorate crystal formation, up to complete depression. Before classes, the average crystallogram score was  $3,33 \pm 1,15$ , after  $2,20 \pm 1,37$ . It was suggested that the main reason for this process is the long stay of students at the monitor, as evidenced by the appearance of amorphous and granular structures of a darker color and a change in the viscosity of saliva.

The change in the nature of the viscosity of saliva is due to the mechanisms of innervation of the salivary glands by the autonomic nervous system and a decrease in the intensity of blood flow in them. In particular, the increased adrenergic innervation of the glands leads to the secretion of a small amount of viscous thick saliva with a high concentration of mucin and other organic compounds, but a low salt content.

The data obtained indicate the need to comply with temporary regulations for working with computers.

**Keywords:** distance learning, students, salivary glands, oral fluid, salvodiagnosics, crystallization, facies.

### References

1. Belskaya L. V., Golovanova O. A., Tumanidze V. G., Shukailo E. S. Crystallization of biological fluids – prospects for use in diagnostics, *Butlerov messages*, **15**, 175 (2010).
2. Minnibayev T. S., Rapoport I. K., Chubarovsky V. V., Savchuk O. A., Timoshenko K. T., Katenko S. V. Comprehensive assessment of the health status of students based on the results of preventive medical examinations. Groups of health, *Public health and habitat*, **10 (259)**, 16 (2014).
3. Ibragimova E. E. Monitoring the stress level of students as an approach to preventing violations of regulatory mechanisms, *Scientific Notes of the V. I. Vernadsky Crimean Federal University. Sociology. Pedagogy. Psychology*, **5 (71), 2**, 83 (2019).
4. Vlasova E. M., Maljutina N. N. The main directions of preserving the health of people working with computers, *Occupational medicine and industrial ecology*, **4**, 47 (2003).
5. Kim I. N., Megeeda E. V. Influence of electromagnetic fields on the user of computer equipment, *Hygiene and sanitation*, **1**, 44 (2007).

6. Kim I. N., Megeda E. V. On the negative impact of video terminals on the organs of vision, *Hygiene and sanitation*, **2**, 30 (2007).
7. Chernozubov I. E. Computer and health, *Lesnaya nov*, **7**, 21 (1998).
8. Vasilyeva N. A. Influence of electromagnetic radiation of a computer on the state of oral fluid and hard tissues of human teeth (clinical and experimental study), *Dissertation for the degree of Candidate of Medical Sciences in the specialty 14.01.14 – dentistry*, 175 p. (Omsk, 2016).
9. Postnova M. V., Mulik Yu. A., Novochadov V. V., Mulik A. B., Nazarov N. O., Frolov D. M. Oral fluid as an object of evaluation of the functional state of the human body, *Bulletin of the Volgograd State University. Series 3: Economics. Ecology*, **1 (18)**, 246 (2011).
10. Korotkov N. G., Pashkov A. N., Bolgov S. V., Loshkarev V. P. Influence of environmental factors on the crystallization of oral fluid, *Stomatology*, **4**, 13 (2002).
11. Belskaya L. V., Golovanova O. A., Shukailo E. S. Crystallization of biological fluids - prospects for use in diagnostics, *Electronic resource, Access mode: butlerov.com* " Belskaya1\_28\_12\_2010\_44.
12. Vavilova T. P. *Biochemistry of tissues and fluids of the oral cavities* (M.: GEOTAR-Media, 2008).
13. Denisov A. B., Barer G. M., Selifanova E. I. Crystallization of components oral fluid in diabetics in case of absence of crystal structures, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **140, 1**, 100 (2005).
14. Puzikova O. Y. Forecasting the development of dental caries taking into account integrated indicators and mathematical modeling, *Abstract. Dissertation of Candidate of Medical Sciences* (Omsk, 1999).
15. Kirichuk V. F., Ponukalina E. V., Chesnokova N. P., Polutova N. V. Lecture 3 oral digestion, saliva composition and salivation regulation mechanisms, *Scientific Review*, **1**, 63 (2018).
16. Grigoriev Yu. G. [et al.] Personal computer – hygienic characteristics of physical factors at the user's workplace and assessment of their possible impact on health, *Electromagnetic fields and human health* (Moscow, 2002).

**УДК 504.06+581.5**

## **КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ В ХОПЕРСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ ПРИРОДНОМ ЗАПОВЕДНИКЕ**

*Игнатова И. В.<sup>1</sup>, Калаев В. Н.<sup>1</sup>, Каверина Н. В.<sup>1</sup>, Калаева Е. А.<sup>1</sup>, Харченко Н. Н.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет

им. Г. Ф. Морозова», Воронеж, Россия

E-mail: irina777.84@list.ru

Представлены результаты исследований состояния окружающей среды на территории Хоперского государственного природного заповедника. Установлено содержание химических элементов в почве, в листьях березы повислой и в хвое сосны обыкновенной в Хоперском государственном природном заповеднике и на прилегающей к нему территории (с. Пески). Результаты испытаний на токсичность почвенных образцов с помощью цериодафний (*Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg) позволяют классифицировать их как нетоксичные. Общее состояние среды Хоперского государственного природного заповедника на основании изучения флуктуирующей асимметрии листовой пластинки березы повислой оценивается как нормальное. На основании проведенных исследований можно рекомендовать полученные данные в качестве фоновых для мониторинговых исследований в районе Хоперского государственного природного заповедника после начала промышленной разработки медно-никелевых месторождений в Новохоперском районе Воронежской области.

**Ключевые слова:** Хоперский государственный природный заповедник, цериодафния, флуктуирующая асимметрия, тяжелые металлы, экологический мониторинг.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время в Новохоперском районе Воронежской области решается вопрос о разработке месторождений медно-никелевых руд в непосредственной близости от охраняемой территории федерального значения, что может оказать влияние на состояние окружающей среды, в том числе привести к загрязнению Хоперского государственного природного заповедника [1]. Поэтому особую важность имеет проведение комплексных исследований состояния окружающей среды до начала работ по промышленной добыче никеля, что позволит впоследствии объективно оценить возможный экологический ущерб.

Для определения степени загрязнения окружающей среды используют не только количественный химический анализ, но и ответные реакции живых организмов [2]. Достаточно часто для этих целей применяют древесные растения, которые длительное время произрастают на обследуемой территории. Одним из методов оценки качества среды является установление уровня флуктуирующей асимметрии листовой пластинки березы повислой (*Betula pendula* Roth), которая представляет собой различия между левой и правой сторонами морфологических структур, обладающих билатеральной симметрией. Данный тест достаточно часто

используют как индикатор уровня антропогенного загрязнения [3–8 и др.].

При проведении мониторинга недостаточно установить отклик растительных организмов на внешнее воздействие, необходимо также провести токсикологические исследования на животных. Наиболее часто для этих целей используют цериодафний (*Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg) [9], которые удобны для культивирования, характеризуются высокой плодовитостью маточной и синхронизированной культур в оптимальных условиях [2]. При применении этого тест-объекта можно регистрировать смертность, изменение плодовитости, двигательной активности, поведенческих реакций, морфометрии и окраски тела, скорости поедания корма, а в хроническом эксперименте – появление физиологических, морфологических и генетических изменений, возникших под влиянием токсиканта [9].

Цель работы – фоновый мониторинг состояния окружающей среды в районе Хоперского государственного природного заповедника до начала проведения работ по разработке медно-никелевых месторождений.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились в Хоперском государственном природном заповеднике (вблизи с. Варварино (51°10'56.9"N 41°44'17.2"E)) и на прилегающей территории (с. Пески Поворинского района (51°14'24.30"N 42°25'59.2"E)). Объектами исследования служили почва, листья березы повислой (*Betula pendula* Roth) и хвоя сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.).

Взятие почвенных образцов проводили на глубине 10–30 см в трех точках на каждой исследуемой территории. Хвою сосны и листья березы собирали с 4 фенотипически здоровых деревьев одного возраста на высоте 1,2–1,5 м. Элементный анализ собранных образцов почвы, хвои и листвы проводили в Центре коллективного пользования Воронежского госуниверситета на рентгенофлуоресцентном спектрометре S8 Tiger (Bruker AXS GmbH, Германия).

Для изучения флуктуирующей асимметрии производили сбор листьев березы повислой (по 400 листьев с каждой территории) в соответствии с рекомендациями [5].

На базе Филиала «ЦЛАТИ по Воронежской области» Федерального государственного бюджетного учреждения «Центр лабораторного анализа и технических измерений по Центральному федеральному округу» выполнен биологический контроль качества водных вытяжек исследуемых почв в соответствии с методикой [10].

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью пакета программы Stadia 7.0 Professional. Обработку данных осуществляли согласно рекомендациям [11]. Кластерный анализ проводили с использованием метрики нормированный Эвклид, стратегия группировки – группового соседа. В матрицу данных вносили для каждого обследованного дерева средние значения показателей флуктуирующей асимметрии, содержание в листьях березы химических элементов. Корреляционные связи устанавливали с использованием коэффициента корреляции Спирмена ( $r_s$ ). Вычисление корреляций для проведения факторного анализа

осуществляли с использованием коэффициента корреляции Спирмена. Выбор числа общих факторов осуществляли с использованием критерия Кеттелла.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Содержание металлов в почве и растительном материале на исследуемых территориях

В таблице 1 представлено содержание металлов в почвенных образцах. На обеих исследуемых территориях отмечается превышение ПДК по сурьме (в 1,3 раза), кроме того, в почвах с. Пески установлено превышение ПДК по мышьяку (в 1,3 раза). В пробах с территории с. Пески по сравнению с пробами из Хоперского государственного природного заповедника выше содержание цинка, меди, мышьяка, олова. Цинк и мышьяк относятся к высокоопасным металлам, а медь – к умереноопасным. На территории заповедника больше содержание свинца, который относится к высокоопасным металлам, кобальта, никеля, хрома (умеренноопасных) и ванадия и бария (малоопасных) [12].

**Таблица 1**  
**Содержание металлов в почвах исследуемых территорий**

Химический элемент	Валовое содержание металлов, мг/кг			
	Хоперский государственный природный заповедник	с. Пески	Величина ПДК (ОДК) [13]	Среднее значение для Воронежской области [14]
V	44,3	33,7	150*	
Cr	49,7	36,7		17,0
Ni	14	8,7	20**	13,1
Y	5	4		
Co	3	1		8,4
Cs	14,7	9		
Ba	684,7	530,7		
Cu	2,7	3,3	33**	23,3
Zn	22	22,3	55**	52,7
As	1,7	2,7	2**	1,2
Rb	17,3	14,7		
Sr	18,7	18,7		
Pb	9	7,7	32**	9,9
Zr	73	49		
Sn	1,3	2		
Cd	6	6	4,5*	0,2

*Примечание:* \* – величина ПДК, \*\* – величина ОДК.

Источниками свинца, хрома, меди являются бензин и сточные воды [15].

Основные источники поступления цинка в почву – осадки сточных вод, минеральные удобрения, воздушная пыль промышленного происхождения [12]. Показано, что в населенных пунктах происходит техногенное поступление меди и олова в почву. Повышенное содержание цинка в почвенных образцах населенного пункта связано с антропогенной деятельностью [16]. В зависимости от значимости тяжелых металлов для растений, они делятся на необходимые для жизнедеятельности в небольших концентрациях (медь, железо, марганец, цинк, молибден, кобальт, хром, никель, которые становятся токсичными только при значительном повышении содержания в почве и растениях) и не участвующие в метаболизме (свинец, ванадий, кадмий, ртуть, которые являются токсичными даже в очень низких концентрациях) [15].

Полученные нами результаты по содержанию некоторых металлов (свинца, мышьяка, никеля, хрома, кобальта и цинка) выше, а по меди – ниже значений, определенных Дьяковой Н. А. в Хоперском государственном природном заповеднике [14]. Это можно объяснить неравномерным распределением элементов в почвах. На двух исследуемых территориях содержание хрома, мышьяка и кадмия оказалось выше средних значений, установленных для Воронежской области [14].

Большинство металлов обнаруживаются в живых организмах в малых количествах, входя в состав биологически активных веществ. Выделяют микроэлементы, биологическая роль которых известна (кобальт, медь, молибден, цинк, хром, ванадий, никель, марганец), и элементы, роль которых не известна (свинец, кадмий, сурьма, мышьяк, олово и др.) [17].

В образцах листьев березы повислой, собранных на территории с. Пески, по сравнению с образцами с территории Хоперского государственного природного заповедника, наблюдается повышенное содержание всех исследуемых элементов (алюминия – в 1,3, марганца – в 2,1, железа – в 1,9, цинка – в 4,4, стронция – в 1,1, натрия – в 1,3, магния – в 1,2 раза) (табл. 2).

**Таблица 2**

**Элементный состав растительного материала на исследуемых территориях**

Химический элемент	Содержание элементов, мг/кг			
	Хоперский государственный природный заповедник		с. Пески	
	Листья березы повислой	Хвоя сосны обыкновенной	Листья березы повислой	Хвоя сосны обыкновенной
Na	87,5	170	115	110
Mg	2167,5	496,7	2510	516,7
Al	157,5	490	202,5	370
Si	417,5	1110	437,5	1073,3
Mn	657,5	203,3	1357,5	276,7
Fe	95	186,7	185	203,3
Zn	50	20	220	20
Sr	32,5	3,3	35	0

В хвое деревьев сосны обыкновенной, произрастающих в с. Пески, по сравнению с заповедником отмечается повышенное содержание таких элементов, как магний (в 1,04 раза), марганец (в 1,4 раза), железо (в 1,1 раза) (табл. 2). Полученные нами результаты по содержанию натрия, алюминия, железа, марганца, цинка и стронция находятся в пределах значений, описанных другими авторами; уровень магния на двух исследуемых территориях оказался ниже, а кремния – выше установленных ранее в работе [18]. Данное обстоятельство можно рассматривать как особенность сосны обыкновенной, произрастающей в Хоперском государственном природном заповеднике.

#### **Оценка токсичности почв Хоперского государственного природного заповедника и с. Пески с использованием периодафний**

Как следует из таблицы 3, все почвенные образцы не оказывают острого токсического действия на периодафний. В связи с этим можно утверждать, что почвы на обследуемых территориях не являются токсичными.

#### **Флуктуирующая асимметрия листовой пластинки березы повислой на исследуемых территориях**

На основании изучения морфологических признаков листовой пластинки березы повислой (табл. 4) и в соответствии с балльной шкалой, состояние окружающей среды в Хоперском государственном природном заповеднике можно оценить как нормальное (условная норма), а в с. Пески отмечается существенное отклонение от нормы, что можно связать с загрязнением почвы тяжелыми металлами. Так, ранее в работе [19] была показана связь флуктуирующей асимметрии листовой пластинки с увеличением загрязнения почвы тяжелыми металлами (цинк, медь, свинец, кадмий и др.).

Стоит отметить, что показатели флуктуирующей асимметрии связаны с содержанием некоторых химических элементов в листовой пластинке (табл. 5). Так, интегральный показатель флуктуирующей асимметрии коррелирует с содержанием цинка, марганца и железа в листьях; признак «угол между главной жилкой и второй от основания листа жилкой второго порядка» – с содержанием цинка, марганца, алюминия, кремния; признак «длина жилки второго порядка» – с содержанием марганца и железа; признаки «расстояние между основаниями первой и второй жилок второго порядка» и «расстояние между концами этих же жилок» – с содержанием цинка. В связи с этим возможно утверждать, что отдельные поллютанты могут оказывать более выраженные эффекты на одни признаки асимметрии и не оказывать воздействия на другие. Как следствие, это приводит к тому, что вклад различных морфометрических признаков при определении показателя асимметрии отдельной листовой пластинки будет не равнозначен и будет зависеть от характера загрязнителя. Это подтверждается ранее выполненными исследованиями [20].

Наибольшее количество корреляционных связей признака «угол между главной жилкой и второй от основания листа жилкой второго порядка» с содержанием некоторых элементов (цинка, марганца, алюминия, кремния) в листьях подтверждает ранее высказанное предположение, что этот показатель является

самым чувствительным к воздействию загрязнителей [20–22]. Отрицательные коэффициенты корреляции указывают на снижение значений показателя при увеличении уровня загрязнения.

**Таблица 3**  
**Оценка токсичности почв Хоперского государственного природного заповедника и с. Пески с использованием цеериодафний**

Место проведения исследования	Кратность разбавления водных вытяжек, раз	№ повторности	Время биотестирования, сутки/часы		Оценка качества, вывод
			1 / 24	2 / 48	
			Гибель цеериодафний (шт.) в каждом образце		
			рН ед рН, t °С, O <sub>2</sub> мг/дм <sup>3</sup> пробы после эксперимента	рН ед рН, t °С, O <sub>2</sub> мг/дм <sup>3</sup> пробы после эксперимента	
Контроль	1	1	<b>0*</b>	<b>0</b>	Не оказывает острого токсического действия
			рН = 7,7 t = 23,4 O <sub>2</sub> = 7,8	рН = 7,7 t = 23,5 O <sub>2</sub> = 7,7	
Хоперский государственный природный заповедник	1	1	<b>0</b>	<b>0</b>	Не оказывает острого токсического действия
			рН = 7,4 t = 22,8 O <sub>2</sub> = 7,0	рН = 7,3 t = 23,5 O <sub>2</sub> = 7,1	
		2	<b>0</b>	<b>0</b>	
			рН = 7,3 t = 22,8 O <sub>2</sub> = 7,0	рН = 7,3 t = 23,4 O <sub>2</sub> = 7,1	
с. Пески	1	1	<b>0</b>	<b>0</b>	Не оказывает острого токсического действия
			рН = 7,4 t = 23,0 O <sub>2</sub> = 7,7	рН = 7,3 t = 23,4 O <sub>2</sub> = 7,3	
		2	<b>0</b>	<b>0</b>	
			рН = 7,4 t = 23,0 O <sub>2</sub> = 7,6	рН = 7,3 t = 23,5 O <sub>2</sub> = 7,5	

Примечание: 0\* – означает отсутствие гибели в 10 экспериментальных образцах.

Таблица 4

**Флуктуирующая асимметрия листовой пластинки березы повислой на исследуемых территориях**

№ дерева	Интегральный показатель флуктуирующей асимметрии	
	Хоперский государственный природный заповедник	с. Пески
1	0,028±0,002	0,051±0,002
2	0,034± 0,002	0,042±0,003
3	0,039±0,002	0,056±0,002
4	0,023±0,002	0,058±0,002
Среднее значение ± ошибка среднего	0,031±0,001	0,051±0,001*

Примечание: \* – статистически значимые различия с показателями в Хоперском государственном природном заповеднике (P<0,01).

Таблица 5

**Корреляционные связи содержания некоторых химических элементов в листовой пластинки с ее морфологическими признаками у березы повислой (*Betula pendula* Roth)**

Химический элемент	Морфологические признаки листовой пластинки					
	Интегральный показатель флуктуирующей асимметрии	Ширина левой и правой половинок листа	Длина жилки второго порядка	Расстояние между основаниями первой и второй жилок второго порядка	Расстояние между концами этих же жилок	Угол между главной жилкой и второй от основания листа жилкой второго порядка
Zn	0,869**	нет	нет	0,762*	0,667*	-0,673*
Mn	0,691*	нет	0,708*	нет	нет	-0,625*
Fe	0,649*	нет	0,738*	нет	нет	нет
Al	нет	нет	нет	нет	нет	-0,637*
Sr	нет	нет	нет	нет	нет	нет
Si	нет	нет	нет	нет	нет	-0,643*
Na	нет	нет	нет	нет	нет	нет
Mg	нет	нет	нет	нет	нет	нет

Примечание: \* – коэффициент корреляции отличен от нуля (P<0,05); \*\* – коэффициент корреляции отличен от нуля (P<0,01).

По совокупности морфологических признаков листа и содержанию элементов в

растительном материале березы повислой исследуемые деревья были распределены по двум кластерам (рис. 1). Четкое разделение свидетельствует о разном уровне загрязнения на исследуемых территориях.

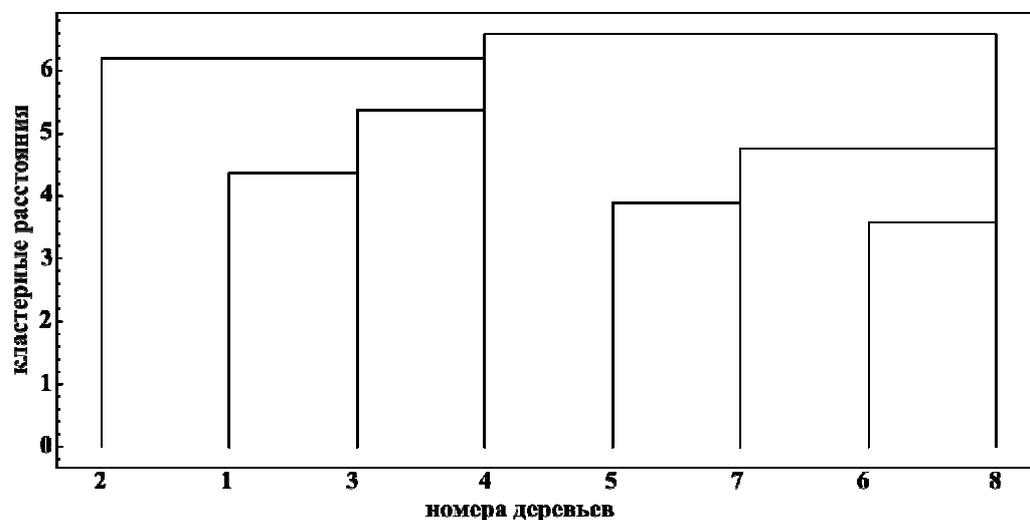


Рис. 1. Дендрограмма кластерных расстояний между деревьями на исследуемых территориях: 1–4 – деревья, произрастающие в с. Пески, 5–8 – деревья, произрастающие в Хоперском государственном природном заповеднике.

Факторный анализ позволил выявить систему из шести факторов, отражающих 98,56 % дисперсии признаков (табл. 6, рис. 2).

**Таблица 6**  
**Собственные значения и процент объясняемой дисперсии факторов**

Показатель	Фактор					
	1	2	3	4	5	6
Собственные значения	5,980	3,063	2,231	1,613	0,679	0,316
Дисперсия, %	42,46	21,75	15,84	11,45	4,823	2,243
Накопленная дисперсия, %	42,46	64,21	80,04	91,5	96,32	98,56

Из рисунка 3 и таблицы 7 следует, что исследуемые показатели образуют хорошо различимые группировки (исходные переменные проецируются на один из шести главных факторов), что позволяет интерпретировать результаты, не используя «вращение» факторов.

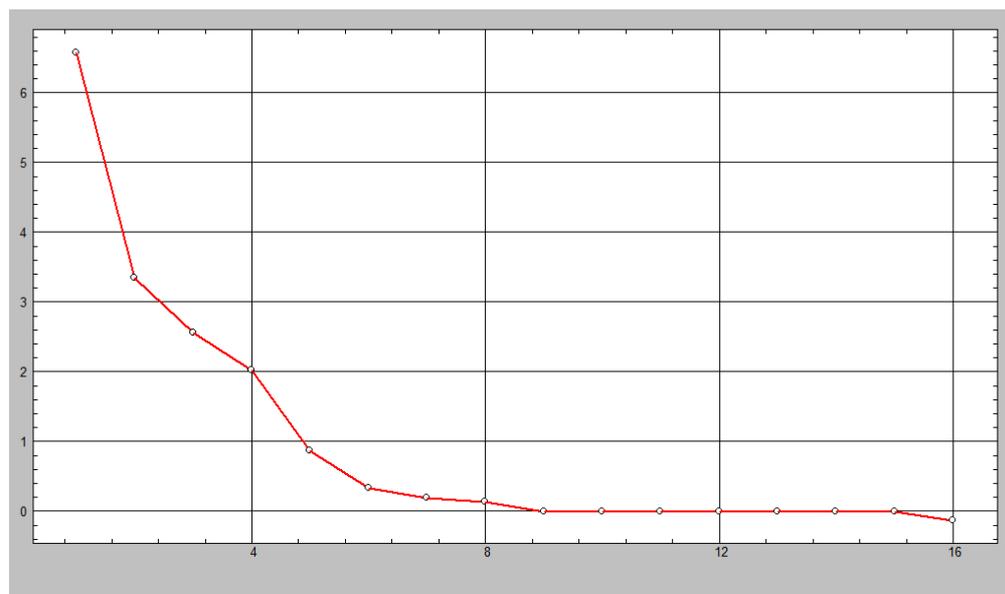


Рис. 2. График собственных значений факторов (ось Y) относительно номеров факторов (ось X).

В рамках проведенного анализа можно дать интерпретацию только 4 факторов, влияющих на характер изменения показателей морфологических признаков листовой пластинки березы повислой. Семантический смысл выделенных факторов позволяет сгруппировать показатели по наибольшим нагрузкам основных факторов.

К первому фактору относятся тяжелые металлы (цинк, марганец, железо), оказывающие максимальное влияние на морфологические признаки листовой пластинки.

Второй фактор – специфичность действия химических элементов на изучаемые морфологические признаки листовой пластинки.

Третий фактор – группа элементов (алюминий, кремний), оказывающих слабое влияние на морфологические признаки листовой пластинки.

Четвертый фактор – группа элементов (натрий, магний, стронций), не оказывающих влияния на морфологические признаки листовой пластинки.

Таким образом, в результате выполненных исследований степени загрязнения исследуемых территорий установлено, что в Хоперском государственном природном заповеднике загрязнение минимальное, с. Пески – выше среднего (существенное отклонение от нормы).

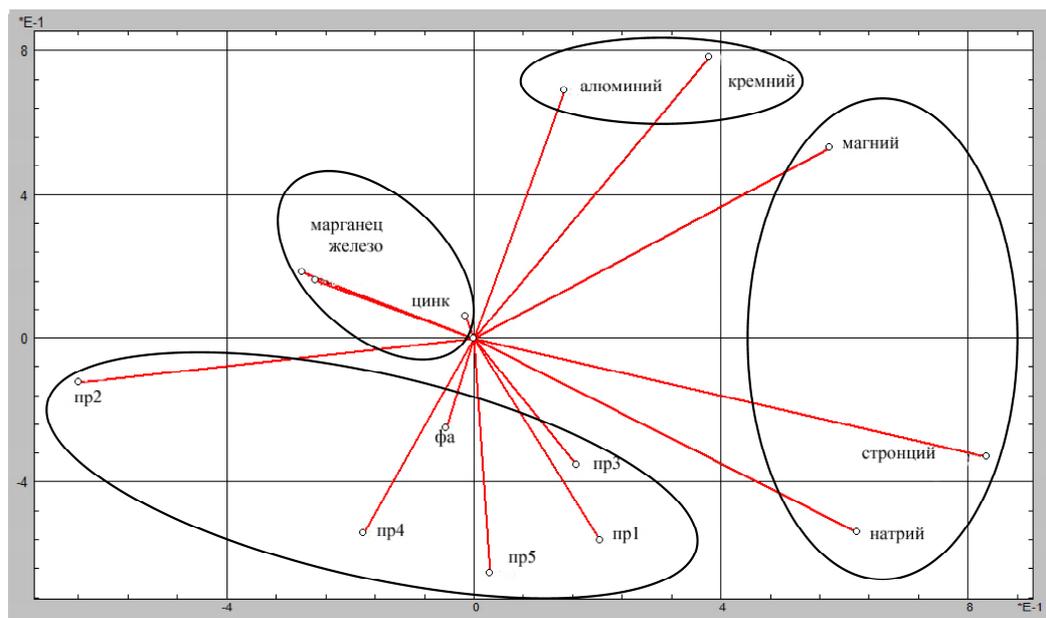


Рис. 3. Проекция нагрузок (ось X – 1 фактор, ось Y – 2 фактор) при факторном анализе: пр1 – ширина левой и правой половинок листа, пр2 – длина жилки второго порядка, пр3 – расстояние между основаниями первой и второй жилки второго порядка, пр4 – расстояние между концами этих же жилок, пр5 – угол между главной жилкой и второй от основания листа жилкой второго порядка, фа – интегральный показатель флуктуирующей асимметрии.

Таблица 7

Факторные нагрузки на исследуемые показатели до вращения

Признак	Фактор			
	1	2	3	4
1	2	3	4	5
Ширина левой и правой половинок листа	0,5475	-0,5588		
Длина жилки второго порядка	0,5419		-0,6391	
Расстояние между основаниями первой и второй жилки второго порядка	0,8396			
Расстояние между концами этих же жилок	0,6768	-0,5401		
Угол между главной жилкой и второй от основания листа жилкой второго порядка	-0,5949	-0,6508		
Интегральный показатель флуктуирующей асимметрии	0,9172			

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5
Zn	0,9735			
Mn	0,8596			
Fe	0,8452			
Si		0,7842		
Na		-0,5372	0,6208	-0,5468
Mg		0,532	0,5766	
Al	0,545	0,6891		
Sr			0,8308	

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлено содержание химических элементов в почве, листьях березы повислой и хвое сосны обыкновенной в Хоперском государственном природном заповеднике и на прилегающей к нему территории с. Пески. На территории с. Пески по сравнению с территорией Хоперского государственного природного заповедника выше содержание цинка, меди, мышьяка, олова. На территории заповедника выше содержание свинца, кобальта, никеля, хрома, ванадия и бария. В образцах листьев березы повислой, собранных на территории с. Пески, по сравнению с образцами с территории Хоперского государственного природного заповедника наблюдается более высокое содержание алюминия, марганца, железа, цинка, стронция, натрия, магния. В хвое деревьев сосны обыкновенной, произрастающих в с. Пески, по сравнению с заповедником отмечается повышенное содержание магния, марганца, железа. Содержание натрия, алюминия, железа, марганца, цинка и стронция находятся в пределах, описанных другими авторами, магния – оказалось ниже, а кремния – выше на двух исследуемых территориях.
2. Результаты испытаний на токсичность почвенных образцов с помощью цериодафний (*Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg) позволяют определить их как нетоксичные.
3. Общее состояние среды Хоперского государственного природного заповедника на основании изучения флуктуирующей асимметрии листовой пластинки березы повислой можно оценить как нормальное, а на прилегающей территории с. Пески зафиксированы отклонения от нормы, свидетельствующие об антропогенном воздействии.
4. Показатели флуктуирующей асимметрии коррелируют с содержанием некоторых химических элементов в листовой пластинке. Показано, что отдельные химические элементы могут оказывать более выраженные эффекты на одни признаки асимметрии и не оказывать воздействие на другие. Наибольшее количество корреляционных связей признака «угол между главной жилкой и второй от основания листа жилкой второго порядка» с содержанием цинка, марганца, алюминия, кремния в листьях связано с тем, что этот показатель является самым чувствительным к воздействию загрязнителей.

5. Методом факторного анализа выделены и интерпретированы факторы, оказывающие влияние на морфологические признаки листовой пластинки березы повислой.
6. Показано, что по совокупности показателей (морфологических признаков листовой пластинки, интегральному показателю флуктуирующей асимметрии и содержанию в листьях некоторых химических элементов) деревья березы повислой четко дифференцируются на произрастающие на территории Хоперского заповедника и с. Пески.
7. Полученные данные могут быть использованы в качестве фоновых для мониторинговых исследований в районе Хоперского государственного природного заповедника после начала промышленной разработки медно-никелевых месторождений в Новохоперском районе Воронежской области.

#### Список литературы

1. Поросенков Ю. В. Проблемы эколого-экономического анализа возможности разработки медно-никелевых руд в Новохоперском районе Воронежской области / Ю. В. Поросенков, Р. Е. Рогозина // Вестник ВГУ, серия: География. Геоэкология. – 2014. – № 4. – С. 12–17.
2. Олькова А. С. Биотестирование в научно-исследовательской и природоохранной практике России / А. С. Олькова // Успехи современной биологии. – 2014. – Т. 134, № 6. – С. 614–622.
3. Бачурина А. В. Оценка состояния окружающей среды по показателю флуктуирующей асимметрии / А. В. Бачурина, С. В. Бачурина // Актуальные проблемы лесного комплекса. – 2020. – № 56. – С. 98–103.
4. Использование показателя флуктуирующей асимметрии березы повислой для оценки ее состояния / С. В. Залесов, Б. О. Азбаев, Л. А. Белов [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5. – URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=14518> (дата обращения 14.12.2021).
5. Захаров В. Н. Здоровье среды: методика оценки / В. Н. Захаров, А. С. Баранов, В. И. Борисов [и др.]. – М.: Центр экологической политики России, 2000. – 68 с.
6. Бунькова Н. П. Оценка качества среды в городском лесопарке методом флуктуирующей асимметрии листьев берёзы повислой (*Betula pendula* Roth.) / Н. П. Бунькова, В. В. Абраменко // Леса России и хозяйство в них. – 2020. – № 1(72). – С. 54–64.
7. Оценка экологического состояния рекреационных зон г. Нижнего Новгорода по уровням загрязнения почв тяжелыми металлами и биоиндикационным показателям листьев *Betula pendula* Roth. / М. В. Сидоренко, В. П. Юнина, Е. А. Ерофеева [и др.] // Самарский научный вестник. – 2020. – Т. 9, № 1(30). – С. 88–92.
8. Стрельцов А. Б. Флуктуирующая асимметрия листовой пластинки березы повислой (*Betula pendula* Roth.) как индикатора определения загрязняющей среды / А. Б. Стрельцов, А. А. Наумова, Т. А. Наумова // Международный журнал прикладных наук и технологий Integral. – 2021. – № 2–1. – С. 93–98.
9. Зарицкая Е. В. Альтернативные методы исследования при токсиколого-гигиенической оценке объектов производственной и окружающей среды / Е. В. Зарицкая, В. В. Шилов, Е. В. Полозова // Медицина труда и промышленная экология. – 2016. – № 6. – С. 17–20.
10. ФР 1.39.2007.03221 Биологические методы контроля. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. – М.: Акварос, 2007. – 56 с.
11. Калаева Е. А. Теоретические основы и практическое применение математической статистики в биологических исследованиях и образовании / Е. А. Калаева, В. Г. Артюхов, В. Н. Калаев. – Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2016. – 282 с.
12. Водяницкий Ю. Н. Тяжелые металлы и металлоиды в почвах / Ю. Н. Водяницкий. – М.: ГНУ Почвенный институт им. В.В. Докучаева РАСХН, 2008. – 86 с.

13. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2021 г. № 2 «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания». – 2021. – 469 с.
14. Дьякова Н. А. Эколого-гигиеническая оценка состояния почв антропогенных экосистем Воронежской области / Н. А. Дьякова, С. П. Гапонов, А. И. Сливкин // Известия КГТУ. – 2020. – № 59. – С. 61–72.
15. Титов А. Ф. Физиологические основы устойчивости растений к тяжелым металлам / А. Ф. Титов, В. В. Таланова, Н. И. Казнина. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2011. – 77 с.
16. Алексеев В. А. Химические элементы в геохимических системах. Кларки почв селитренных ландшафтов / В. А. Алексеев, А. В. Алексеев. – Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета, 2013. – 380 с.
17. Титов А. Ф. Тяжелые металлы и растения / А. Ф. Титов, Н. И. Казнина, В. В. Таланова – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014. – 194 с.
18. Белых О. А. Элементный состав хвои лесобразующих пород семейства сосновых (Pinaceae) на территории с накопленным экологическим ущербом (Южное Прибайкалье) / О. А. Белых, Е. В. Чупарина // Известия Байкальского государственного университета. – 2021. – Т. 31, № 1. – С. 103–108.
19. Жуйкова Т. В. Сравнительная оценка флуктуирующей асимметрии листовой пластинки *Betula pendula* Roth при разных методах фиксации растительного материала / Т. В. Жуйкова, А. С. Попова, Э. В. Мелинг // Самарский научный вестник. – 2020. – Т. 9, № 4. – С. 58–65.
20. Марченко С. И. Изменчивость морфометрических признаков листовых пластинок березы повислой при определении величины флуктуирующей асимметрии / С. И. Марченко // Актуальные проблемы лесного комплекса. – 2020. – № 58. – С. 100–104.
21. Биоиндикация загрязнения районов г. Воронежа по величине флуктуирующей асимметрии листовой пластинки березы повислой / В. Н. Калаев, И. В. Игнатова, В. В. Третьякова [и др.] // Вестник ВГУ. Серия химия, биология, фармация. – 2011. – № 2. – С. 168–175.
22. Ерещенко О. В. Изменение морфометрических параметров листовой пластинки березы повислой *Betula pendula* Roth. в условиях Барнаула / О. В. Ерещенко, Л. П. Хлебцова // Известия Алтайского государственного университета. – 2013. – № 3–2 (79). – С. 26–30.

## **COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF THE STATE OF THE ENVIRONMENT IN THE KHOPER STATE NATURE RESERVE**

***Ignatova I. V.<sup>1</sup>, Kalaev V. N.<sup>1</sup>, Kaverina N. V.<sup>1</sup>, Kalaeva E. A.<sup>1</sup>, Kharchenko N. N.<sup>2</sup>***

<sup>1</sup>*Voronezh State University, Voronezh, Russia*

<sup>2</sup>*Voronezh State Forest Engineering University named after G. F. Morozov, Voronezh, Russia*  
*E-mail: irina777.84@list.ru*

Currently, in the Novokhopersky district of the Voronezh region, the issue of developing copper-nickel ore deposits in the immediate vicinity of a protected area of federal significance is being resolved, which may have an impact on the state of the environment, including pollution of the Khopersky state natural reserve. Therefore, it is of particular importance to carry out comprehensive studies of the state of the environment prior to the commencement of industrial nickel mining, which will subsequently make it possible to objectively assess possible environmental damage. To determine the degree of environmental pollution, not only quantitative chemical analysis is used, but also the

responses of living organisms. Quite often, woody plants are used for these purposes, which have been growing in the surveyed area for a long time. One of the methods for assessing the quality of the environment is to determine the level of fluctuating asymmetry of the leaf blade of silver birch (*Betula pendula* Roth). When conducting monitoring, it is not enough to establish the response of plant organisms to external influences; it is also necessary to conduct toxicological studies on animals. *Ceriodaphnia* (*Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg) is most often used for these purposes. The purpose of the work is background monitoring of the state of the environment in the area of the Kholer State Nature Reserve before the start of work on the development of copper-nickel deposits. The research was carried out in the Kholersky State Nature Reserve (near the village of Varvarino (51°10'56.9"N 41°44'17.2"E)) and the adjacent territory (village of Peski, Povorinsky District (51°14'24.30"N 42°25 '59.2"E)). The objects of study were soil, leaves of silver birch (*Betula pendula* Roth) and needles of Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.). In both studied territories, an excess of MPC for antimony (1.3 times) is noted, in addition, in the soils of the village Peski found exceeding the MPC for arsenic (1.3 times). In samples from the territory of village Peski compared with samples from the Kholersky State Nature Reserve have a higher content of zinc, copper, arsenic, and tin. In samples of birch leaves collected in the territory of the village Peski, in comparison with samples from the territory of the Kholersky State Nature Reserve, there is an increased content of all the studied elements (aluminum - 1.3, manganese - 2.1, iron - 1.9, zinc - 4.4, strontium - 1.1 times, sodium - 1.3 times, magnesium - 1.2 times). In the needles of Scotch pine trees growing in the village Peski, in comparison with the reserve, there is an increased content of such elements as magnesium (1.04 times), manganese (1.4 times), iron (1.1 times). All soil samples do not have an acute toxic effect on *ceriodaphnia*. In this regard, it can be argued that the soils in the surveyed areas are not toxic. Based on the study of the morphological features of the leaf blade of silver birch and in accordance with the point scale, the state of the environment in the Kholer State Nature Reserve can be assessed as normal (conditional norm), and in the village Peski show a significant deviation from the norm, which can be associated with soil contamination with heavy metals. The integral index of fluctuating asymmetry correlates with the content of zinc, manganese, and iron in leaves; sign "the angle between the main vein and the second vein from the base of the leaf" - with the content of zinc, manganese, aluminum, silicon; the trait "length of the vein of the second order" - with the content of manganese and iron; signs "distance between the bases of the first and second veins of the second order" and "distance between the ends of the same veins" - with zinc content. In this regard, it is possible to argue that individual pollutants can have more pronounced effects on some signs of asymmetry and not affect others. As a consequence, this leads to the fact that the contribution of various morphometric features in determining the asymmetry index of an individual leaf blade will not be equivalent and will depend on the nature of the pollutant. The largest number of correlations of the trait "the angle between the main vein and the second vein from the base of the leaf of the second order" with the content of some elements (zinc, manganese, aluminum, silicon) in the leaves confirms the previously stated assumption that this indicator is the most sensitive to the effects of pollutants. Negative values of the correlation coefficients indicate a decrease in the values of the indicator with an increase

in the level of pollution. According to the totality of morphological features of the leaf and the content of elements in the plant material of the drooping birch, the studied trees were distributed into two clusters. A clear division indicates a different level of pollution in the study areas. Factor analysis made it possible to identify a system of six factors, reflecting 98.56 % of the dispersion of signs. Within the framework of the analysis carried out, it is possible to give an interpretation of only 4 factors that affect the nature of the change in the indicators of the fluctuating asymmetry of the leaf blade of silver birch. The semantic meaning of the selected factors allows us to group the indicators according to the greatest loads of the main factors. The first factor includes heavy metals (zinc, manganese, iron), which have the maximum effect on the fluctuating asymmetry of the leaf blade. The second factor is the specificity of the action of chemical elements on the studied parameters of the fluctuating asymmetry of the leaf blade. The third factor is a group of elements (aluminum, silicon) that have little effect on the fluctuating asymmetry. The fourth factor is a group of elements (sodium, magnesium, strontium) that do not affect the indicators of fluctuating asymmetry. Thus, as a result of the studies of the degree of pollution of the study areas, it was found that in the Khopersky State Nature Reserve, pollution is minimal, in village Peski – above average (significant deviation from the norm).

**Keywords:** Khoper State Nature Reserve, fluctuating asymmetry, heavy metals.

#### References

1. Porosenkov Yu. V., Rogozin R. E. Problems of ecological and economic analysis of the possibility of developing copper-nickel ores in the Novokhopersk district of the Voronezh region, *Bulletin of VSU, series: Geography. Geoecology*, **4**, 12 (2014).
2. Olkova A. S. Biotesting in research and environmental practice in Russia, *Successes of modern biology*, **3** (134), 614 (2014).
3. Bachurina A. V., Bachurina S. V. Assessment of the state of the environment in terms of a fluctuating population, *Actual problems of the forest complex*, **56**, 98 (2020).
4. Zalesov S. V., Azbaev B. O., Belov L. A., Zalesova E. S., Opletaev A. S. Application of bird fluctuative asymmetry index for its condition estimation, *Modern problems of science and education*, 5 (2014), URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=14518> (accessed 14.12.2021)
5. Zakharov V. N., Baranov A. S., Borisov V. I., Valetsky A. V., Kryazheva N. G., Chistyakova E. K., Choubinishvili A. T. *Environmental health: assessment methodology*, 68 p. (Center for Environmental Policy of Russia, 2000).
6. Bun'kova N. P., Abramenko V. V. Assessment of the quality of the environment in the urban forest park using the method of fluctuating mass of leaves of drooping birch (*Betula pendula* Roth.), *Forests of Russia and the economy in them*, **1** (72), 54 (2020).
7. Sidorenko M. V., Yunina V. P., Erofeeva E. A., Savinov A. B., Kuznetsov M. D., Novozhilov D. A. Assessment of the ecological state of recreational areas in Nizhny Novgorod in terms of the level of soil loss by metal losses and bioindicative indicators of *Betula pendula* Roth leaves, *Samara Scientific Bulletin*, **1** (9), 88 (2020).
8. Streltsov A. B., Naumova A. A., Naumova T. A. Fluctuating aggregate of the leaf blade of the silver birch (*Betula pendula* Roth.) as an indicator of determining the polluting environment, *International Journal of Applied Sciences and Technologies Integral*, **2-1**, 93 (2021).
9. Zaritskaya E. V., Shilov V. V., Polozova E. V. Alternativnye metody issledovaniya pri toxico-hygienic assessment of industrial and environmental objects, *Occupational Medicine and Industrial Ecology*, **6**, 17 (2016).

10. FR 1.39.2007.03221 Biological methods of control. Methodology for determining the toxicity of water and water extracts from soils, sewage sludge, waste by mortality and changes in the fertility of ceriodaphnia, 56 p. (Akvaros, 2007).
11. Kalaeva E. A., Artyukhov V. G., Kalaev V. N. *Theoretical foundations and practical application of mathematical statistics in biological research and education: textbook*, 282 p. (Voronezh: Voronezh State University Publishing House, 2016).
12. Vodyanitsky Yu. N. *Heavy metals and metalloids in soils*, 86 p. (GNU Soil Institute. V. V. Dokuchaeva RAAS, 2008).
13. Decree of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation dated January 28, 2021 No. 2 "On the assessment of sanitary rules and norms SanPiN 1.2.3685-21 "Hygiene standards and requirements for high requirements for safety and (or) harmlessness for humans, the choice of habitat", 469 p. (2021).
14. Dyakova N. A., Gaponov S. P., Slivkin A. I. Ecological and hygienic assessment of the state of soils of anthropogenic ecosystems in the Voronezh region, *Izvestiya KSTU*, **59**, 61 (2020).
15. Titov A. F., Talanova V. V., Kaznina N. I. *Physiological bases of plant resistance to metal weight*, 77 p. (Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, 2011).
16. Alekseenko V. A., Alekseenko A. V. *Chemical elements in geochemical sources. Clarks of soils in residential landscapes*, 380 p. (Southern Federal University Publishing House, 2013)
17. Titov A. F., Kaznina N. I., Talanova V. V. *Heavy metals and plants*, 194 p. (Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, 2014).
18. Belykh O. A., Chuparin E. V. Elemental composition of needles of forest-forming species of the pine family (Pinaceae) in the territory with accumulated environmental damage (Southern Baikal region), *Proceedings of the Baikal State University*, **1** (31), 103 (2021).
19. Zhuikova T. V., Popova A. S., Meling E. V. Comparative evaluation of the fluctuating asymmetry of the leaf blade of *Betula pendula* Roth with different methods of plant material fixation, *Samara Scientific Bulletin*, **4** (9), 58 (2020).
20. Marchenko S. I. Variability of morphometric features of leaf blades of silver birch when determining the value of fluctuating asymmetry, *Actual problems of the forest complex*, **58**, 100 (2020).
21. Kalaev V. N., Ignatova I. V., Tretyakova V. V., Artyukhov V. G., Savko A. D. Bioindication of pollution in the regions of Voronezh by the value of fluctuating asymmetry of the leaf blade of silver birch, *Bulletin of VSU. Series chemistry, biology, pharmacy*, **2**, 168 (2011).
22. Ereshchenko O. V., Khlebova L. P. Changes in the morphometric parameters of the leaf blade of the silver birch *Betula pendula* Roth. in the conditions of Barnaul, *Proceedings of the Altai State University*, **3-2** (79), 26 (2013).

**УДК 598.112.23:591.16**

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ  
ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДВУХ ВИДОВ ПЕРЕДНЕАЗИАТСКИХ ЗЕЛЕННЫХ ЛЯГУШЕК  
(AMPHIBIA, ANURA, RANIDAE, PELOPHYLAX)**

**Кидов А. А., Иволга Р. А., Кондратова Т. Э., Иванов А. А., Кидова Е. А.**

*Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева, Москва, Россия*  
*E-mail: kidov\_a@mail.ru*

По современному представлению Переднюю Азию населяет несколько форм зеленых лягушек из рода *Pelophylax*. Несмотря на надежную идентификацию этих видов по молекулярно-генетическим и цитогенетическим признакам, до настоящего времени не разработана их диагностика при помощи стандартных морфометрических признаков. Работа посвящена сравнению морфометрической изменчивости двух видов зеленых лягушек – лягушки Терентьева (*Pelophylax terentievi*) и восточной (анатолийской) формы озерной лягушки (*P. cf. bedriagae*). Материал по морфометрической изменчивости лягушки Терентьева собирали в окрестностях поселка Шаартуз (Республика Таджикистан). Для сравнения привлекали данные, полученные при изучении *P. cf. bedriagae* в Юго-Западном Прикаспии (Ленкоранский и Астаринский районы, Азербайджанская Республика). По стандартным методикам измеряли 11 морфометрических признаков и рассчитывали 66 индексов. Авторы отмечают, что взрослые самки лягушки Терентьева по морфометрическим показателям не отличаются от самок восточной (анатолийской) формы озерной лягушки. Взрослые самцы *P. terentievi* мельче самцов *P. cf. bedriagae*. Половой диморфизм по морфометрическим признакам у лягушки Терентьева выражен только в большем расстоянии между ноздрями у самок. Предварительно можно утверждать, что для различения взрослых самок лягушки Терентьева и восточной (анатолийской) формы озерной лягушки можно использовать индексы *L. o./L.* и *D. p./C. int.*, а молоди – *F./T.*

**Ключевые слова:** Закавказье, Азербайджан, Талышские горы, Ленкоранская низменность, Таджикистан, озерная лягушка, лягушка Терентьева, *Pelophylax ridibundus*, *Pelophylax cf. bedriagae*, *Pelophylax terentievi*, земноводные, сравнительная морфология.

**ВВЕДЕНИЕ**

Длительное время считалось, что Переднюю и Центральную Азию населяет один вид зеленых лягушек – озерная, *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) [1, 2]. С этих территорий по морфологическим признакам и окраске было описано несколько таксонов зеленых лягушек [3], однако, из-за ненадежности диагностических признаков, эти формы не признавались большинством исследователей [4]. Ситуация начала меняться в связи с широким применением биохимических, цитогенетических и молекулярно-генетических методов в систематике амфибий. В 1992 г. из Рогунского (типовая территория – поселок Обигарм) и Шаартузского (поселок Шаартуз (сейчас – Шахритус) районов Республики Таджикистан был описан новый представитель рода – лягушка Терентьева, *P. terentievi* (Mezhzherin, 1992),

отличающийся от *P. ridibundus* аллельными вариантами семи белков, а также рядом морфометрических признаков [5]. Автор первоописания, С. В. Межжерин [5], считал, что, несмотря на высокую схожесть с озерной лягушкой, лягушка Терентьева обладает меньшей длиной тела, заостренным рылом, меньшими внутренним пяточным бугром и отношением длины глаза к длине туловища, относительно большими длиной бедра и первого пальца задней конечности.

В настоящее время видовая самостоятельность *P. terentievi* признается большинством специалистов [6, 7], а лягушки этого вида найдены за пределами типовой территории – в северном Афганистане и северо-западном Китае [8, 9]. Учитывая выявленный к настоящему времени ареал, можно с высокой степенью вероятности утверждать, что лягушка Терентьева обитает существенно шире, охватывая распространением все республики Средней Азии и север Ирана. Биология этого вида остается совершенно неисследованной, хотя, вероятно, большинство сведений о зеленых лягушках этого региона должно относиться к *P. terentievi*. Слабо изучена морфометрическая изменчивость лягушки Терентьева, особенно в соответствии с другими представителями рода.

Так, для сравнения с лягушкой Терентьева, С. В. Межжерин [5] привлекал сборы зеленых лягушек с Кавказа, Туркменистана и Ферганской долины. Учитывая, что, по современному представлению, Кавказ населяет восточная (анатолийская) форма *P. cf. bedriagae* [10, 11], которую большинство отечественных исследователей считают самостоятельным видом [12, 13], а Центральную Азию (включая Туркменистан и Ферганскую долину) – несколько видов зеленых лягушек (автохтонная *P. terentievi* и интродуцированные при рыбоводных работах *P. nigromaculatus* (Hallowell, 1861), *P. cf. bedriagae* и *P. ridibundus*), можно предполагать, что в анализ могли попасть сразу несколько из них.

При этом, поиск морфологических ключей для идентификации зеленых лягушек разных видов не утратил своей актуальности, т. к. границы распространения многих видов (особенно *P. cf. bedriagae* и *P. terentievi*) до настоящего времени не определены.

Целью настоящего исследования явилось определение морфологических особенностей у популяций двух видов зеленых лягушек с достоверно установленной видовой принадлежностью.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Собственный материал по морфометрической изменчивости лягушки Терентьева собирали в апреле 2019 г. в долине реки Кафирниган в окрестностях поселка Шахритус (ранее – Шаартуз) (Шахритусский район, Хатлонская область, Республика Таджикистан) (табл. 1). Для сравнения привлекали собственные данные, полученные при изучении восточной (анатолийской) формы озерной лягушки (*P. cf. bedriagae*) в Юго-Западном Прикаспии – в горнолесном поясе Тальшских гор (селение Сым, Астаринский район, Азербайджанская Республика), а также результаты изучения сборов этого вида из Ленкоранской низменности (Ленкоранский и Астаринский районы, Азербайджанская Республика) [14, 15],

хранящихся в фондах отделения Герпетологии Научно-исследовательского зоологического музея МГУ имени М. В. Ломоносова (далее – ZMMU).

Таблица 1

Объем исследованного материала

Локалитет	№ ZMMU	Период сбора	Количество исследованных экземпляров			
			взрослые самки	взрослые самцы	молодь	всего
<i>Pelophylax terentievi</i>						
Шахритус (Таджикистан)	–	апрель 2019 г.	18	9	9	36
<i>Pelophylax cf. bedriagae</i>						
Ленкоранская низменность (Азербайджан)	293	июль 1927 г.	1	1	1	3
	857		9	-	-	9
	879		33	1	5	39
	A-4301	март 2010 г.	2	1	-	3
	1840	февраль 1981 г.	-	1	7	8
	1841		8	2	8	18
	1029	июль 1961 г.	-	2	3	5
	A-2241	май 1986 г.	1	-	5	6
	A-2277		5	12	5	22
Тальшские горы (Азербайджан)	–	август 2019 г.	7	9	-	16

У зафиксированных в 70 %-м растворе этанола животных изучали степень зрелости гонад, относя их к одной из трех половозрастных групп (взрослые самки, взрослые самцы, молодь). При помощи электронного штангенциркуля марки Solar Digital Caliper (производитель – «Xueliee», КНР) с погрешностью 0,1 мм осуществляли измерения абсолютных величин тела по стандартным методикам для бесхвостых земноводных [2]. Перечень измеряемых показателей: *L.* – расстояние от кончика морды до центра клоакального отверстия, или длина тела; *Lt. c.* – максимальная ширина головы у основания нижних челюстей, или наибольшая ширина головы; *Sr. o.* – расстояние между передними краями глазных щелей, или расстояние между глазами; *D. r. o.* – расстояние от переднего края глаза до кончика морды; *D. n. o.* – расстояние от переднего края глаза до ноздри; *L. o.* – наибольшая длина глазной щели; *Sr. n.* – расстояние между ноздрями; *L. tum.* – наибольшая длина барабанной перепонки; *F.* – длина бедра от клоакального отверстия до наружного края сочленения (на согнутой конечности); *T.* – длина голени (на согнутой конечности); *D. p.* – длина первого внутреннего пальца задней ноги от дистального основания пяточного бугра до конца пальца; *C. int.* – наибольшая длина

внутреннего пяточного бугра в его основании. На основании этих линейных показателей рассчитывали 66 индексов пропорциональности тела [14].

Биометрическую обработку данных проводили в программах *Microsoft Excel 2013* и *Statistica 10.0*. Рассчитывали среднюю арифметическую ( $M$ ), стандартное отклонение ( $SD$ ) и размах признаков ( $min-max$ ). Статистическую значимость наблюдаемых различий между группами определяли при помощи  $H$ -критерия Краскела-Уоллиса ( $H$ ), а при попарном сравнении использовали непараметрический  $U$ -критерий Манна-Уитни ( $U_{эмп}$ ). Для разделения групп по комплексу морфометрических признаков и выявления значимых из них использовали дискриминатный анализ. За величину уровня статистической значимости принимали  $p \leq 0,05$ . Для построения дискриминатных функций использовали программу *Past 4.0*.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Применение теста Краскела-Уоллиса для сравнения морфометрических показателей у взрослых самок зеленых лягушек различных локалитетов продемонстрировало статистически значимое влияние фактора «группа» для всех изученных абсолютных признаков: *L.* ( $H=11,95$ ;  $p=0,003$ ), *Lt. c.* ( $H=8,98$ ;  $p=0,003$ ), *Sp. c. r.* ( $H=12,74$ ;  $p=0,002$ ), *D. r. o.* ( $H=9,40$ ;  $p=0,009$ ), *D. n. o.* ( $H=7,42$ ;  $p=0,023$ ), *L. o.* ( $H=12,45$ ;  $p=0,002$ ), *Sp. n.* ( $H=14,50$ ;  $p=0,001$ ), *L. tym.* ( $H=13,62$ ;  $p=0,001$ ), *F.* ( $H=12,29$ ;  $p=0,002$ ), *T.* ( $H=13,91$ ;  $p=0,001$ ), *D. p.* ( $H=11,75$ ;  $p=0,003$ ) и *C. int.* ( $H=11,85$ ;  $p=0,003$ ).

Несмотря на то, что самки лягушек Терентьева были в среднем мельче, чем *P. cf. bedriagae* из Ленкоранской низменности (табл. 2 и 3), между ними не было выявлено статистически значимых различий ни по одному изучаемому абсолютному морфометрическому признаку. В то же время, взрослые самки *P. terentivi* достоверно уступали по всем изучаемым показателям *P. cf. bedriagae* из горнолесного пояса Талышских гор: *L.* ( $U_{эмп}=12,0$ ;  $p=0,002$ ), *Lt. c.* ( $U_{эмп}=14,0$ ;  $p=0,003$ ), *Sp. c. r.* ( $U_{эмп}=8,0$ ;  $p=0,001$ ), *D. r. o.* ( $U_{эмп}=13,0$ ;  $p=0,002$ ), *D. n. o.* ( $U_{эмп}=9,5$ ;  $p=0,001$ ), *L. o.* ( $U_{эмп}=17,0$ ;  $p=0,005$ ), *Sp. n.* ( $U_{эмп}=14,0$ ;  $p=0,003$ ), *L. tym.* ( $U_{эмп}=8,0$ ;  $p=0,001$ ), *F.* ( $U_{эмп}=7,0$ ;  $p=0,001$ ), *T.* ( $U_{эмп}=6,0$ ;  $p=0,001$ ), *D. p.* ( $U_{эмп}=8,0$ ;  $p=0,001$ ), *C. int.* ( $U_{эмп}=11,0$ ;  $p=0,002$ ). Это можно было бы трактовать, как выявленные межвидовые различия, однако не менее существенно отличались между собой группы *P. cf. bedriagae* из Ленкоранской низменности и гор Талыша: *L.* ( $U_{эмп}=44,0$ ;  $p=0,001$ ), *Lt. c.* ( $U_{эмп}=77,0$ ;  $p=0,007$ ), *Sp. c. r.* ( $U_{эмп}=41,0$ ;  $p=0,001$ ), *D. r. o.* ( $U_{эмп}=69,0$ ;  $p=0,004$ ), *D. n. o.* ( $U_{эмп}=108,0$ ;  $p=0,040$ ), *L. o.* ( $U_{эмп}=42,0$ ;  $p=0,001$ ), *Sp. n.* ( $U_{эмп}=40,0$ ;  $p=0,001$ ), *L. tym.* ( $U_{эмп}=41,0$ ;  $p=0,001$ ), *F.* ( $U_{эмп}=56,0$ ;  $p=0,002$ ), *T.* ( $U_{эмп}=48,0$ ;  $p=0,001$ ), *D. p.* ( $U_{эмп}=50,0$ ;  $p=0,001$ ), *C. int.* ( $U_{эмп}=46,5$ ;  $p=0,001$ ).

При сравнении взрослых самцов разных групп при помощи теста Краскела-Уоллиса статистически значимые различия были выявлены по следующим признакам: *L.* ( $H=10,35$ ;  $p=0,006$ ), *Lt. c.* ( $H=10,38$ ;  $p=0,006$ ), *Sp. c. r.* ( $H=14,59$ ;  $p=0,001$ ), *D. r. o.* ( $H=13,44$ ;  $p=0,001$ ), *D. n. o.* ( $H=10,99$ ;  $p=0,004$ ), *L. o.* ( $H=10,13$ ;  $p=0,006$ ), *Sp. n.* ( $H=16,30$ ;  $p \leq 0,001$ ), *F.* ( $H=10,49$ ;  $p=0,005$ ), *T.* ( $H=12,01$ ;  $p=0,003$ ).

Таблица 2  
Морфометрическая характеристика лягушки Терентьева, *Pelophylax terentievi*

Показатель	$M \pm SD$ <i>min-max</i>		
	взрослые самки	взрослые самцы	молодь
<i>L.</i>	$\frac{64,03 \pm 10,204}{50,78-88,08}$	$\frac{61,90 \pm 5,650}{53,48-72,60}$	$\frac{44,67 \pm 3,462}{40,07-50,92}$
<i>Lt. c.</i>	$\frac{23,29 \pm 3,920}{16,49-31,43}$	$\frac{21,39 \pm 1,505}{18,67-23,32}$	$\frac{15,03 \pm 1,578}{13,02-17,83}$
<i>Sp. c. r.</i>	$\frac{9,39 \pm 1,477}{6,97-12,40}$	$\frac{8,43 \pm 1,099}{6,72-9,73}$	$\frac{6,44 \pm 0,888}{5,21-7,56}$
<i>D. r. o.</i>	$\frac{10,31 \pm 1,477}{7,16-13,01}$	$\frac{9,43 \pm 0,901}{8,38-11,34}$	$\frac{7,33 \pm 0,925}{6,17-8,69}$
<i>D. n. o.</i>	$\frac{4,52 \pm 0,785}{2,95-5,77}$	$\frac{4,00 \pm 0,294}{3,42-4,35}$	$\frac{3,01 \pm 0,639}{2,31-4,05}$
<i>L. o.</i>	$\frac{6,80 \pm 1,274}{5,30-9,62}$	$\frac{6,45 \pm 0,701}{5,34-7,34}$	$\frac{4,90 \pm 0,696}{3,74-5,81}$
<i>Sp. n.</i>	$\frac{4,41 \pm 0,723}{3,40-5,85}$	$\frac{3,83 \pm 0,324}{3,15-4,25}$	$\frac{2,86 \pm 0,323}{2,33-3,30}$
<i>L. tym.</i>	$\frac{4,87 \pm 0,764}{3,13-6,17}$	$\frac{4,56 \pm 0,549}{3,81-5,46}$	$\frac{3,31 \pm 0,428}{2,53-3,89}$
<i>F.</i>	$\frac{31,73 \pm 5,946}{22,79-42,86}$	$\frac{29,55 \pm 3,376}{24,81-34,32}$	$\frac{19,46 \pm 2,057}{17,30-22,54}$
<i>T.</i>	$\frac{31,95 \pm 5,188}{24,21-42,60}$	$\frac{30,54 \pm 3,072}{25,81-35,41}$	$\frac{21,45 \pm 2,335}{18,73-25,45}$
<i>D. p.</i>	$\frac{12,42 \pm 2,149}{8,68-16,63}$	$\frac{12,37 \pm 2,229}{9,36-16,98}$	$\frac{8,16 \pm 1,044}{7,12-10,17}$
<i>C. int.</i>	$\frac{2,96 \pm 0,731}{1,80-4,25}$	$\frac{3,08 \pm 0,399}{2,52-3,61}$	$\frac{1,97 \pm 0,314}{1,60-2,69}$

При попарном сравнении абсолютных морфометрических признаков, взрослые самцы лягушки Терентьева обладали меньшими значениями в сравнении с *P. cf. bedriagae* (табл. 2 и 3). Так, они статистически значимо уступали самцам восточной (анатолийской) формы озерной лягушки из Ленкоранской низменности по значениям *Lt. c.* ( $U_{\text{эпн}}=27,5$ ;  $p=0,006$ ), *D. r. o.* ( $U_{\text{эпн}}=41,0$ ;  $p=0,040$ ), *D. n. o.* ( $U_{\text{эпн}}=34,0$ ;  $p=0,016$ ), *F.* ( $U_{\text{эпн}}=36,0$ ;  $p=0,021$ ), *T.* ( $U_{\text{эпн}}=32,0$ ;  $p=0,012$ ), а самцам из

горнолесного Талыша – по *L.* ( $U_{эмт}=9,0$ ;  $p=0,005$ ), *Lt. c.* ( $U_{эмт}=7,0$ ;  $p=0,003$ ), *Sp. c. r.* ( $U_{эмт}=5,0$ ;  $p=0,002$ ), *D. r. o.* ( $U_{эмт}=5,0$ ;  $p=0,002$ ), *D. n. o.* ( $U_{эмт}=7,5$ ;  $p=0,004$ ), *L. o.* ( $U_{эмт}=10,5$ ;  $p=0,008$ ), *Sp. n.* ( $U_{эмт}=3,0$ ;  $p=0,001$ ), *L. tym.* ( $U_{эмт}=15,0$ ;  $p=0,024$ ), *F.* ( $U_{эмт}=6,0$ ;  $p=0,002$ ), *T.* ( $U_{эмт}=3,0$ ;  $p=0,001$ ).

В то же время, внутри *P. cf. bedriagae* ярко проявлялись межпопуляционные различия: самцы из горного Талыша превосходили конспецификов из Ленкоранской низменности по значениям *L.* ( $U_{эмт}=25,0$ ;  $p=0,004$ ), *Sp. c. r.* ( $U_{эмт}=13,0$ ;  $p\leq 0,001$ ), *D. r. o.* ( $U_{эмт}=29,0$ ;  $p=0,007$ ), *L. o.* ( $U_{эмт}=24,0$ ;  $p=0,003$ ), *Sp. n.* ( $U_{эмт}=8,0$ ;  $p\leq 0,001$ ), *C. int.* ( $U_{эмт}=42,0$ ;  $p=0,045$ ).

При сравнении средних значений морфометрических признаков у взрослых самок и самцов лягушек Терентьева статистически значимое различие было выявлено только в большем расстоянии между ноздрями для первых ( $U_{эмт}=38,0$ ;  $p=0,027$ ). В то же время у восточной (анатолийской) формы озерной лягушки из Ленкоранской низменности половой диморфизм по исследуемым признакам не выявлен, тогда как у их конспецификов из горнолесного Талыша отмечены статистически значимые различия по значениям большинства морфометрических показателей: *L.* ( $U_{эмт}=8,0$ ;  $p=0,013$ ), *Lt. c.* ( $U_{эмт}=8,0$ ;  $p=0,013$ ), *Sp. c. r.* ( $U_{эмт}=8,0$ ;  $p=0,013$ ), *D. r. o.* ( $U_{эмт}=9,0$ ;  $p=0,017$ ), *D. n. o.* ( $U_{эмт}=8,0$ ;  $p=0,013$ ), *Sp. n.* ( $U_{эмт}=6,0$ ;  $p=0,007$ ), *L. tym.* ( $U_{эмт}=10,0$ ;  $p=0,023$ ), *F.* ( $U_{эмт}=8,0$ ;  $p=0,013$ ), *T.* ( $U_{эмт}=8,0$ ;  $p=0,013$ ), *D. p.* ( $U_{эмт}=8,0$ ;  $p=0,013$ ), *C. int.* ( $U_{эмт}=11,0$ ;  $p=0,030$ ).

Абсолютные размерные показатели у молоди лягушек Терентьева и восточной (анатолийской) формы озерной лягушки из Ленкоранской низменности широко перекрывались, а статистически значимые различия проявлялись только в большей длине тела ( $U_{эмт}=76,0$ ;  $p=0,040$ ) и глазной щели ( $U_{эмт}=66,5$ ;  $p=0,018$ ) у первых.

С. В. Межжерин [5] указывал, что диагностическими признаками для лягушки Терентьева в сравнении с озерной лягушкой являются отношения расстояния глазной щели к длине тела (*L. o./L.*), длины бедра к длине голени (*F./T.*) и длины первого пальца задней конечности к длине внутреннего пяточного бугра (*D. p./C. int.*). Проведенное нами сравнение по этим индексам у взрослых самцов не выявило достоверных различий между *P. terentievi* и *P. cf. bedriagae*. У взрослых самок были выражены различия по индексу *L. o./L.* ( $U_{эмт}=301,0$ ;  $p=0,006$ ) при сравнении лягушек Терентьева и восточной (анатолийской) формы озерной лягушки из Ленкоранской низменности; по *L. o./L.* ( $U_{эмт}=26,0$ ;  $p=0,025$ ) и *D. p./C. int.* ( $U_{эмт}=30,0$ ;  $p=0,046$ ) – при сравнении лягушки Терентьева с лягушками из горнолесного Талыша. Молодь *P. terentievi* и *P. cf. bedriagae* из Ленкоранской низменности отличалась по значению индекса *F./T.* ( $U_{эмт}=66,0$ ;  $p=0,017$ ).

Результаты применения дискриминантного анализа показали (рис. 1), что комплекс абсолютных морфометрических признаков вносил более существенный вклад в различие групп зеленых лягушек и точнее соотносил особей с их фактическим местом отлова, чем индексы пропорциональности. Таким образом, несмотря на незначительное перекрывание кластеров, группы самцов, самок и молоди были статистически значимо отдалены друг от друга в евклидовом пространстве.

Таблица 3  
Морфометрическая характеристика восточной (анатолийской) формы озерной лягушки, *Pelophylax cf. bedriagae*

Показатель	$M \pm SD$ <i>min-max</i>				
	Ленкоранская низменность			горнолесной Талыш	
	взрослые самки	взрослые самцы	молодь	взрослые самки	взрослые самцы
<i>L.</i>	$\frac{66,83 \pm 15,765}{43,06-104,96}$	$\frac{62,68 \pm 8,693}{46,73-85,07}$	$\frac{40,37 \pm 5,331}{30,87-48,19}$	$\frac{93,97 \pm 15,980}{60,67-108,82}$	$\frac{74,55 \pm 7,498}{60,58-83,81}$
<i>Lt. c.</i>	$\frac{25,38 \pm 6,554}{17,03-39,96}$	$\frac{24,90 \pm 3,656}{17,81-31,61}$	$\frac{14,92 \pm 2,200}{11,52-18,46}$	$\frac{33,33 \pm 5,691}{20,98-37,17}$	$\frac{25,29 \pm 2,516}{20,26-27,96}$
<i>Sp. c. r.</i>	$\frac{9,69 \pm 2,114}{6,50-15,15}$	$\frac{8,65 \pm 0,937}{7,03-10,21}$	$\frac{6,20 \pm 0,968}{4,69-8,01}$	$\frac{13,46 \pm 1,826}{9,62-14,89}$	$\frac{10,80 \pm 1,200}{8,94-12,35}$
<i>D. r. o.</i>	$\frac{10,95 \pm 2,668}{7,29-17,53}$	$\frac{10,20 \pm 1,106}{7,94-12,07}$	$\frac{6,81 \pm 0,898}{5,25-8,64}$	$\frac{14,31 \pm 2,051}{9,82-16,14}$	$\frac{11,62 \pm 1,058}{10,29-13,92}$
<i>D. n. o.</i>	$\frac{4,99 \pm 1,235}{3,32-7,57}$	$\frac{4,47 \pm 0,644}{3,29-5,89}$	$\frac{3,028 \pm 0,601}{2,01-4,90}$	$\frac{6,00 \pm 0,692}{4,79-6,66}$	$\frac{5,02 \pm 0,665}{4,06-5,81}$
<i>L. o.</i>	$\frac{6,47 \pm 1,392}{3,55-9,66}$	$\frac{6,36 \pm 1,073}{4,30-8,81}$	$\frac{4,23 \pm 0,595}{3,13-5,33}$	$\frac{8,67 \pm 0,931}{6,93-10,03}$	$\frac{7,86 \pm 0,994}{6,37-9,22}$
<i>Sp. n.</i>	$\frac{4,12 \pm 0,851}{2,65-7,14}$	$\frac{3,80 \pm 0,381}{3,19-4,52}$	$\frac{2,69 \pm 0,357}{1,99-3,56}$	$\frac{5,48 \pm 0,401}{4,78-5,91}$	$\frac{4,73 \pm 0,402}{4,07-5,33}$
<i>L. tym.</i>	$\frac{4,64 \pm 1,097}{2,73-7,14}$	$\frac{4,82 \pm 0,768}{3,39-6,35}$	$\frac{3,02 \pm 0,503}{2,12-3,76}$	$\frac{6,34 \pm 0,616}{5,34-6,99}$	$\frac{5,38 \pm 0,762}{3,97-6,18}$
<i>F.</i>	$\frac{35,00 \pm 9,486}{20,79-58,19}$	$\frac{33,83 \pm 4,830}{24,96-44,90}$	$\frac{20,33 \pm 3,139}{13,96-25,10}$	$\frac{47,98 \pm 7,504}{31,53-54,2}$	$\frac{36,44 \pm 3,485}{29,77-41,23}$
<i>T.</i>	$\frac{35,60 \pm 8,564}{24,33-56,30}$	$\frac{34,98 \pm 4,865}{26,46-45,36}$	$\frac{21,24 \pm 2,992}{15,94-26,60}$	$\frac{48,83 \pm 7,194}{33,09-55,41}$	$\frac{37,50 \pm 3,481}{31,25-43,36}$
<i>D. p.</i>	$\frac{13,07 \pm 3,395}{8,39-20,56}$	$\frac{12,93 \pm 1,653}{9,51-16,01}$	$\frac{7,80 \pm 1,150}{6,23-9,78}$	$\frac{17,95 \pm 2,601}{12,2-19,74}$	$\frac{13,80 \pm 1,571}{10,67-15,85}$
<i>C. int.</i>	$\frac{3,15 \pm 0,983}{1,39-5,26}$	$\frac{3,12 \pm 0,683}{1,52-4,84}$	$\frac{1,77 \pm 0,399}{1,22-2,97}$	$\frac{5,00 \pm 1,178}{2,95-6,21}$	$\frac{3,61 \pm 0,654}{2,24-4,33}$

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ...

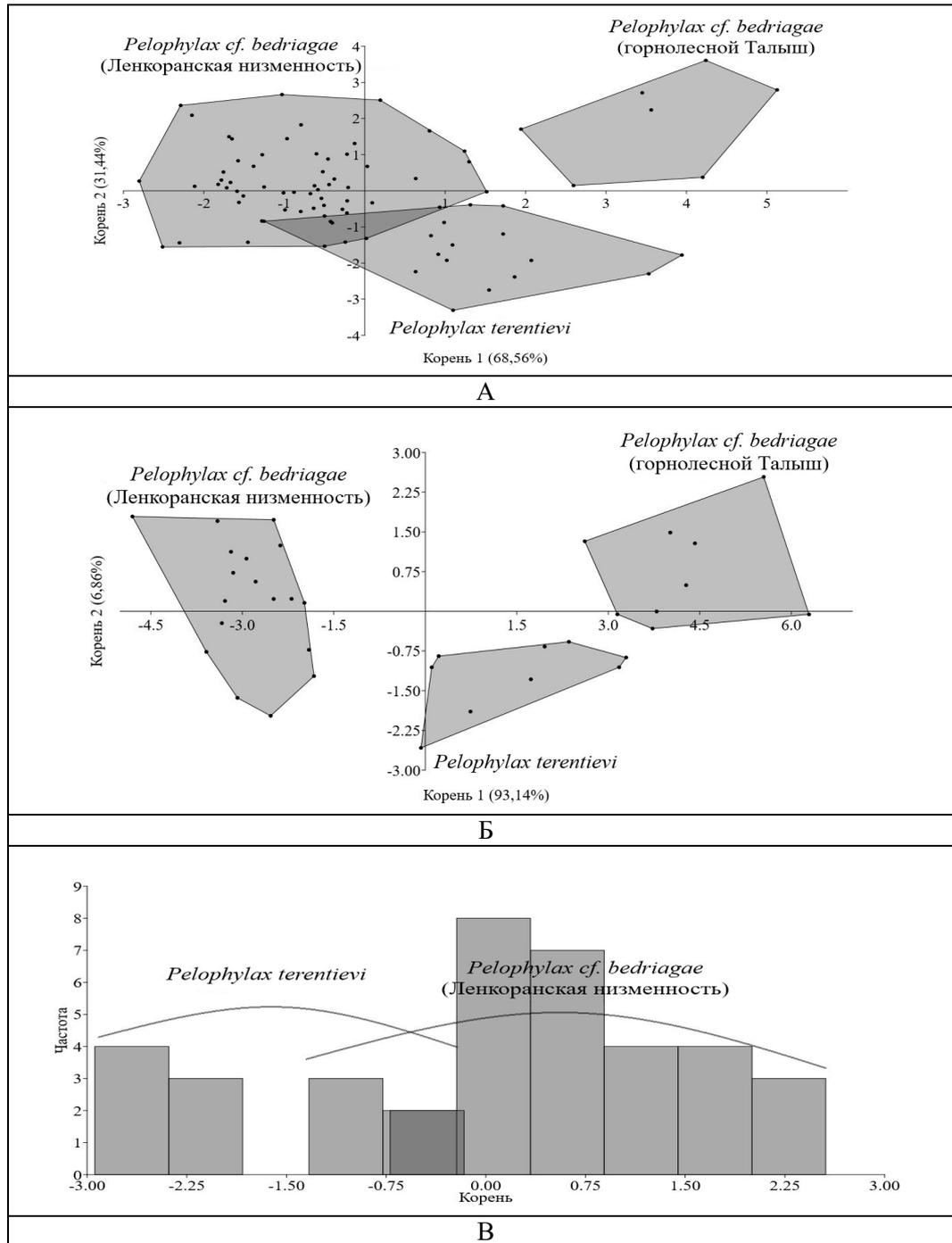


Рис. 1. Распределение изученных особей *Pelophylax terentievi* и *Pelophylax cf. bedriagae* на евклидовом пространстве по результатам анализа абсолютных морфометрических показателей: А – самки; Б – самцы; В – молодежь.

По всей видимости, первый корень дискриминантной функции в первую очередь объяснял межпопуляционные различия восточной (анатолийской) формы озерной лягушки и во вторую – расположение групп *P. terentievi* и *P. cf. bedriagae* в евклидовом пространстве, в то время как второй корень описывал только оставшуюся дисперсию межвидовых различий. Основными значимыми абсолютными морфометрическими признаками при разделении кластеров являлись: *L.* ( $F=8,13$ ;  $p=0,001$ ), *Lt. c.* ( $F=15,57$ ;  $p\leq 0,001$ ), *Sp. c. r.* ( $F=8,72$ ;  $p\leq 0,001$ ), *D. n. o.* ( $F=11,79$ ;  $p\leq 0,001$ ), *L. o.* ( $F=8,08$ ;  $p=0,001$ ), *Sp. n.* ( $F=10,97$ ;  $p\leq 0,001$ ), *T* ( $F=15,71$ ;  $p\leq 0,001$ ) – для взрослых самок; *L.* ( $F=10,04$ ;  $p=0,001$ ), *Lt. c.* ( $F=9,04$ ;  $p=0,001$ ), *L. o.* ( $F=10,62$ ;  $p\leq 0,001$ ), *Sp. n.* ( $F=26,14$ ;  $p\leq 0,001$ ), *L. tym.* ( $F=3,94$ ;  $p=0,031$ ), *T.* ( $F=5,12$ ;  $p=0,013$ ) – для взрослых самцов; *L.* ( $F=17,45$ ;  $p\leq 0,001$ ), *L. o.* ( $F=5,39$ ;  $p=0,026$ ), *F.* ( $F=31,99$ ;  $p\leq 0,001$ ) – для молодых лягушек. Основными значимыми индексами пропорциональности тела при разделении кластеров являлись: *L./D. n. o.* ( $F=6,93$ ;  $p=0,002$ ), *L./T.* ( $F=10,13$ ;  $p\leq 0,001$ ), *Lt. c./L. o.* ( $F=6,47$ ;  $p=0,003$ ), *Lt. c./D. p.* ( $F=5,69$ ;  $p=0,005$ ), *D. r. o./C. int.* ( $F=3,37$ ;  $p=0,040$ ), *L. o./T.* ( $F=11,10$ ;  $p\leq 0,001$ ) – для взрослых самок; *L./Lt.c.* ( $F=36,15$ ;  $p\leq 0,001$ ), *Sp. c. r./Sp. n.* ( $F=7,35$ ;  $p=0,003$ ), *D. r. o./Sp. n.* ( $F=4,35$ ;  $p=0,022$ ), *L. o./T.* ( $F=13,55$ ;  $p\leq 0,001$ ), *T./D. p.* ( $F=10,46$ ;  $p\leq 0,001$ ) – для взрослых самцов; *L./F.* ( $F=32,89$ ;  $p\leq 0,001$ ), *Sp. c. r./D. r. o.* ( $F=8,94$ ;  $p=0,005$ ), *F./T.* ( $F=4,73$ ;  $p=0,036$ ) – для молодежи.

Таким образом, несмотря на явное своеобразие морфометрических признаков лягушки Терентьева, ее различия от восточной (анатолийской) формы озерной лягушки выражены менее, чем между двумя находящимися рядом (21–33 км) популяциями второго вида с территории Юго-Западного Прикаспия. Вполне вероятно, что при изучении морфометрической изменчивости комплекса *Pelophylax (ridibundus)* на всем протяжении ареала, межвидовые различия будут выражены еще слабее.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Взрослые самки лягушки Терентьева по размерам не отличаются от самок восточной (анатолийской) формы озерной лягушки с территории Азербайджана.
2. Взрослые самцы лягушки Терентьева мельче самцов восточной (анатолийской) формы озерной лягушки.
3. Половой диморфизм по морфометрическим признакам у лягушки Терентьева выражен только в большем расстоянии между ноздрями у самок.
4. Предварительно можно утверждать, что для различения взрослых самок лягушки Терентьева и восточной (анатолийской) формы озерной лягушки можно использовать индексы *L. o./L.* и *D. p./C. int.*, а молодежи – *F./T.*

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают искреннюю благодарность кураторам коллекции земноводных Научно-исследовательского зоологического музея МГУ имени М. В. Ломоносова В. Ф. Орловой, Э. А. Галояну и Р. А. Назарову за любезно

предоставленную возможность изучения сборов восточной (анатолийской) формы озерной лягушки с территории Азербайджана.

Список литературы

1. Терентьев П. В. Определитель пресмыкающихся и земноводных / П. В. Терентьев, С. А. Чернов. – М.: Советская Наука, 1949. – 340 с.
2. Банников А. Г. Определитель земноводных и пресмыкающихся фауны СССР. Учеб. пособие для студентов биол. специальностей пед. ин-тов / А. Г. Банников, И. С. Даревский, В. Г. Ищенко, А. К. Рустамов, Н. Н. Щербак. – М.: Просвещение, 1977. – 415 с.
3. Safaei-Mahroo B. The complete guide to amphibians of Iran. Biology, ecology and conservation / B. Safaei-Mahroo, H. Ghaffari. – Sanandaj, Iran: University of Kurdistan Press, 2020. – 331 p.
4. Кузьмин С. Л. Земноводные бывшего СССР / С. Л. Кузьмин. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 1999. – 298 с.
5. Межжерин С. В. Новый вид зеленых лягушек *Rana terentievi* sp. nova (Amphibia, Ranidae) из южного Таджикистана / С. В. Межжерин // Доклады Академии наук Украины. Математические, естественные, технические науки. – 1992. – Т. 5. – С. 154–157.
6. Ананьева Н. Б. Земноводные и пресмыкающиеся. Энциклопедия природы России / Н. Б. Ананьева, Л. Я. Боркин, И. С. Даревский, Н. Л. Орлов. – М.: ABF, 1998. – 576 с.
7. Кузьмин С. Л. Земноводные бывшего СССР / С. Л. Кузьмин. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2012. – 370 с.
8. Fei L. Colored atlas of Chinese amphibians and their distributions / L. Fei, C.-y. Ye, J.-p. Jiang. – Sichuan, China: Sichuan Publishing House of Science & Technology, 2012. – 620 p.
9. Wagner P. A checklist of the amphibians and reptiles of Afghanistan. Exploring herpetodiversity using biodiversity archives / P. Wagner, A. M. Bauer, A. E. Leviton, T. M. Wilms, W. Böhme // Proceedings of the California Academy of Sciences. 4th Series. – 2016. – V. 63. – P. 457–565.
10. Ермаков О. А. Генетические формы озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus* complex) Западного Кавказа по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК / О. А. Ермаков, Е. П. Симонов, А. Ю. Иванов, Р. И. Замалетдинов, А. И. Файзулин // Труды Института биологии внутренних вод РАН. – 2016. – Вып. 73 (76). – С. 70–76.
11. Ермаков О. А. Молекулярно-генетическая характеристика озерных лягушек *Pelophylax ridibundus* республики Дагестан (по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК) / О. А. Ермаков, А. И. Файзулин, А. Д. Аскендеров, А. Ю. Иванов // Известия Самарского научного центра РАН. – 2016. – Т. 18, № 5. – С. 94–97.
12. Ermakov O. New multiplex PCR method for identification of east European green frog species and their hybrids / O. Ermakov, A. Ivanov, S. Titov, A. Svinin, S. N. Litvinchuk // Russian Journal of Herpetology. – 2019. – V. 26, № 6. – P. 367–370.
13. Ivanov A. Yu. The first record of natural transfer of mitochondrial DNA from *Pelophylax* cf. *bedriagae* into *P. lessonae* (Amphibia, Anura) / A. Yu. Ivanov, A. B. Ruchin, A. I. Fayzulin, I. V. Chikhlyayev, S. N. Litvinchuk, A. A. Kirillov, A. O. Svinin, O. A. Ermakov // Nature Conservation Research. – 2019. – V. 4, № 2. – P. 125–128.
14. Кидов А. А. Морфометрическая изменчивость озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus*, Amphibia, Anura, Ranidae) в Юго-Западном Прикаспии / А. А. Кидов, Р. А. Иволга, Т. Э. Кондратова, Е. А. Кидова // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2021. – № 58 (2). – С. 169–180.
15. Lyapkov S. M. Growth layers and its complex structure in a common species under uncommon conditions: *Pelophylax ridibundus* in the Talysh Mountains / S. M. Lyapkov, T. E. Kondratova, R. A. Ivolga, E. A. Kidova, A. A. Kidov // Russian Journal of Herpetology. – 2021. – V. 28, № 5. – P. 242–248.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF MORPHOMETRIC PARAMETERS  
IN TWO WEST ASIAN GREEN FROGS (AMPHIBIA, ANURA, RANIDAE,  
*PELOPHYLAX*)

Kidov A. A., Ivolga R. A., Kondratova T. E., Ivanov A. A., Kidova E. A.

Russian State Agrarian University – Timiryazev Moscow Agricultural Academy, Moscow, Russia  
E-mail: kidov\_a@mail.ru

**Background.** According to the modern view, several forms of green frogs from the genus *Pelophylax* inhabit West Asia. These taxa are reliably identified by molecular genetics and cytogenetic features. However, to date, their diagnosis has not been developed using standard morphometric features. The work is devoted to comparing the morphometric variability of two species of green frogs (the Terentiev frog (*Pelophylax terentievi*) and the eastern (Anatolian) form of the marsh frog (*P. cf. bedriagae*)).

**Materials and methods.** The material on the morphometric variability of Terentyev's frog was collected in the vicinity of Shaartuz settlement (Republic of Tajikistan). For comparison, the data obtained during the study of *P. cf. bedriagae* in the Southwest of Pre-Caspian Region (Lenkoran and Astara districts, Republic of Azerbaijan). According to standard methods, 11 morphometric parameters were measured and 66 indexes were calculated.

**Results.** Adult females of the Terentyev's frog do not differ in morphometric parameters from females of eastern (Anatolian) form of the marsh frog. Adult males of *P. terentievi* are smaller than males of *P. cf. bedriagae*. Sexual dimorphism according to morphometric parameters in the Terentyev's frog is expressed only in a greater distance between the nostrils in females. Previously, it can be argued that only two indexes can be used to distinguish adult females of the Terentyev's frog and the eastern (Anatolian) form of the marsh frog, and juveniles – one index.

**Keywords:** Transcaucasia, Azerbaijan, Talysh Mountains, Lenkoran Lowland, Tajikistan, the marsh frog, the Terentyev's frog, *Pelophylax ridibundus*, *Pelophylax cf. bedriagae*, *Pelophylax terentievi*, amphibians, comparative morphology.

#### References

1. Terentjev P. V., Chernov S. A. *A Guide of Reptiles and Amphibians*, p. 340 (Sovetskaya Nauka, Moscow, 1949).
2. Bannikov A. G., Darevsky I. S., Ishchenko V. G., Rustamov A. K., Szczerbak N. N. *A Guide of Amphibians and Reptiles of Fauna of USSR*, p. 415 (Prosveshchenie, Moscow, 1977).
3. Safaei-Mahroo B., Ghaffari H. *The complete guide to amphibians of Iran. Biology, ecology and conservation*, p. 331 (University of Kurdistan Press, Sanandaj, Iran, 2020).
4. Kuzmin S. L. *Amphibians of the Former USSR*, p. 298 (KMK Scientific Press, Moscow, 1999).
5. Mezhzherin S. V. A new species of green frogs *Rana terentievi* sp. nova (Amphibia, Ranidae) from South Tadjikistan, *Dopovidi Akademii nauk Ukrain'skoj RSR. Seriya B: Matematicheskie, Estestvennyye, Tekhnicheskie Nauki*, **5**, 150 (1992).
6. Ananjeva N. B., Borkin L. J., Darevsky I. S., Orlov N. L. *Amphibians and Reptiles. Encyclopedia of nature of Russia*, p. 576 (ABF, Moscow, 1998).
7. Kuzmin S. L. *Amphibians of the Former USSR*, p. 369 (KMK Scientific Press, Moscow, 2012).

8. Fei L., Ye C.-y., Jiang J.-p. *Colored Atlas of Chinese Amphibians and Their Distributions*, p. 620 (Sichuan Publishing House of Science & Technology, Sichuan, China, 2012).
9. Wagner P., Bauer A. M., Leviton A. E., Wilms T. M., Böhme W. A checklist of the amphibians and reptiles of Afghanistan. Exploring herpetodiversity using biodiversity archives, *Proceedings of the California Academy of Sciences*, **63**, 457 (2016).
10. Ermakov O. A., Simonov E. P., Ivanov A. Yu., Zamaletdinov R. I., Fayzulin A. I. Genetic characteristics of marsh frog (*Pelophylax ridibundus* complex) from the Western Caucasus based on mitochondrial and nuclear DNA data, *Proceedings of Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences*, **73** (76), 70 (2016).
11. Ermakov O. A., Fayzulin A. I., Askenderov A. D., Ivanov A. Yu. Molecular-genetic characteristics of marsh frog from the republic of Dagestan (based on mitochondrial and nuclear DNA data), *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, **18** (5), 94 (2016).
12. Ermakov O., Ivanov A., Titov S., Svinin A., Litvinchuk S. N. New multiplex PCR method for identification of east European green frog species and their hybrids, *Russian Journal of Herpetology*, **26** (6), 367 (2019).
13. Ivanov A. Yu., Ruchin A. B., Fayzulin A. I., Chikhlyayev I. V., Litvinchuk S. N., Kirillov A. A., Svinin A. O., Ermakov O. A. The first record of natural transfer of mitochondrial DNA from *Pelophylax* cf. *bedriagae* into *P. lessonae* (Amphibia, Anura), *Nature Conservation Research*, **4** (2), 125 (2019).
14. Kidov A. A., Ivolga R. A., Kondratova T. E., Kidova E. A. Morphometric variability of the marsh frog (*Pelophylax ridibundus*, Amphibia, Anura, Ranidae) in the southeast of Pre-Caspian Region, *Journal of Proceedings of the Gorsky GAU*, **58** (2), 169 (2021).
15. Lyapkov S. M., Kondratova T. E., Ivolga R. A., Kidova E. A., Kidov A. A. Growth layers and its complex structure in a common species under uncommon conditions: *Pelophylax ridibundus* in the Talysh Mountains, *Russian Journal of Herpetology*, **28** (5), 242 (2021).

УДК 581.5: 539.32

## МЕХАНИЧЕСКАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ СТАРОВОЗРАСТНЫХ ДЕРЕВЬЕВ *QUERCUS ROBUR* L. В УСЛОВИЯХ ГОРОДА ДОНЕЦКА

Корниенко В. О.<sup>1</sup>, Калаев В. Н.<sup>2</sup>, Харченко Н. Н.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», Донецк, ДНР

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж, Россия

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет  
имени Г.Ф. Морозова», Воронеж, Россия

E-mail: kornienkovo@mail.ru

Статья посвящена механической устойчивости старовозрастных деревьев дуба черешчатого, произрастающих на экологической границе распространения вида в степи. Деревья изученного вида, произрастающие в условиях юга Восточно-Европейской равнины (Донецкий кряж), могут достигать возраста 200 лет, сохраняя при этом жизнеспособность (6 баллов) и высокую механическую устойчивость ( $m_{cr}=10^5$  кг,  $EI=9,8*10^7$  Н·м<sup>2</sup>) даже при действии неблагоприятных метеорологических факторов. Установлена тесная связь между морфометрическим параметром отношения диаметра ствола дерева, к его высоте от параметров жесткости на изгиб ствола, критической массы и относительного сопротивления изгибу. Полученный результат статистического анализа можно использовать при мониторинге дубрав или одиночных насаждений *Quercus robur* L. с целью выявления растений с низкой механической устойчивостью по показателю отношения диаметра к длине ствола/скелетных ветвей, как морфометрического маркера устойчивости дерева.

**Ключевые слова:** *Quercus robur* L., механическая устойчивость, степная зона, критическая масса, морфометрический маркер устойчивости, относительное сопротивление изгибу, модуль упругости, биомеханика

### ВВЕДЕНИЕ

В границах города Донецка, крупного промышленного центра Восточной Европы, существует уникальный природный лесной массив, являющийся остатком древнего леса, входящего в сеть байрачных лесов бассейна реки Кальмиус. Согласно картографическому материалу (общие топографические планы (1700-е года), карты Теодора Фридриха фон Шуберта (1800-е года)), Путиловский лес (48°03'53"северной широты, 37°47' 34" восточной долготы) существовал и эксплуатировался для заготовки древесины задолго до основания города Донецка (1869 год). С началом индустриализации регион был в основном обезлесен из-за спроса на древесину для строительства и производства древесного угля (Рис. 1). Наличие лесников до революции 1917 года и частичное превращение леса в парк перед Второй мировой войной позволили сохранить Путиловский лес в советский период.

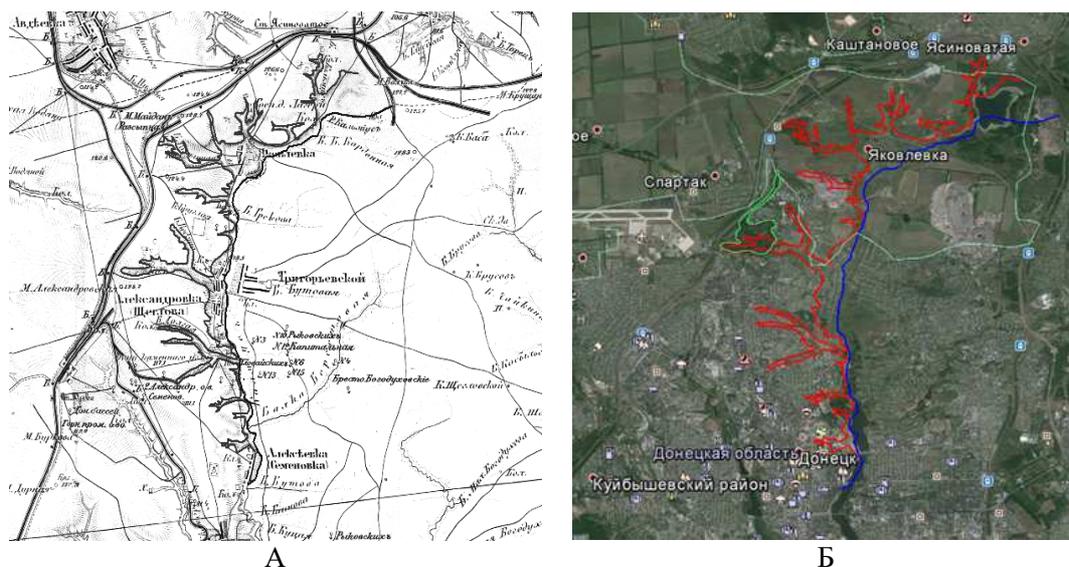


Рис. 1. Путиловский лес на картах Шуберта (А) и на современной карте города Донецка (Б): красной линией обозначены зеленые коридоры, которые существовали в 1878 году; для привязки современной карты и карты Шуберта, использовали программы OziExplorer V 3.95.6d и Google Earth V 7.1.5.

На момент сбора данных по морфологии и аллометрии дуба черешчатого (2013–2014 год) лес занимал около 80 га, включая овраги с ручьями, впадающими в реку Кальмиус [1]. Дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) – один из самых распространенных и долгоживущих видов деревьев в европейских умеренных лесах, в том числе и городе Донецке. Ареал естественного произрастания этого вида охватывает большую часть Европы [2]. Дуб черешчатый играет ключевую роль в структуре и функционировании лесных экосистем [3–5]. В Путиловском лесу он является одним из доминирующих видов и находится на экологической границе распространения вида в степи.

Дубам, отобраным из остатков старовозрастного леса в Донецке, как правило, от 150 до 250 лет [1]. Растут они, как на склонах оврагов, так и на их вершинах. Средний возраст деревьев произрастающих на склонах составляет  $143 \pm 31$  года, а на вершинах  $183 \pm 35$  года [1]. Средние значения отношения возраста к диаметру (лет/см) на склонах ( $1,828 \pm 0,336$  лет/см) и на вершинах ( $2,735 \pm 0,394$  лет/см) имели достоверные отличия ( $P < 0,05$ ).

По мере роста, взросления дерева, у него изменяются геометрические и морфологические параметры [6]. Механическая устойчивость, которая определяется коэффициентом жесткости, находится в связи с диаметром ( $d^4$ ) и с длиной ( $l^2$ ). Поэтому отношение  $d/l$  может быть использовано как морфологический маркер механической устойчивости дерева или его скелетных ветвей. Характер онтогенетических изменений  $d$  (диаметра) и  $l$  (длины), обуславливает увеличение механической устойчивости старовозрастных деревьев [6]. Однако существуют процессы, приводящие к снижению физико-механических свойств древесины – это

циклические температурные изменения [7, 8], ослабление прочности тканей, в результате произрастания деревьев на загрязненных территориях, разрушение тканей грибами и т. д. По нашим исследованиям жизнеспособность всех исследованных старовозрастных деревьев дуба черешчатого в среднем была оценена по шкале Л. С. Савельевой (1975) 6-ю баллами (хорошее состояние), поэтому вышеописанные процессы не будут вносить вклад при оценке механической устойчивости насаждений.

**Цель работы:** оценить механическую устойчивость старовозрастных деревьев дуба черешчатого в условиях города Донецка.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Механическую устойчивость древесных растений определяли по следующим параметрам:

а) Сопротивление древесного ствола растения или его скелетных ветвей изгибу, при действии динамических или статических нагрузок. Параметр отражает способность растений выдерживать нагрузки и определяется произведением модуля упругости ( $MOE = \frac{64 C l^3}{3 \pi d^4}$ ) и второго момента сечения ( $I = \frac{\pi r^4}{4}$ ,  $r$  – радиус) ствола [9, 10].

$$\text{Сопротивление изгибу} = EI \quad (1),$$

б) Относительное сопротивление изгибу [11]:

$$RRB = \frac{r^2 MOE}{4\rho} \quad (2),$$

где,  $r$  – радиус основания ствола,  $MOE$  – модуль упругости,  $\rho$  – плотность древесины.

в) Критическая масса ( $m_{cr}$ ) и предельно допустимая нагрузка ( $P_{cr}$ ). Параметры отражают конкретные значения массы (кг или Н), при действии которой ствол древесного растения или его скелетные ветви начинают деформироваться или обламываться при действии ветровых или гравитационных нагрузках [11].

$$P_{cr} = \frac{\pi^2 MOE I}{2l^2} \quad (3),$$

$$m_{cr} = \frac{P_{cr}}{g} \quad (4),$$

где  $I$  — момент инерции сечения,  $l$  — длина ствола,  $g$  — ускорение силы тяжести.

Для статистической обработки данных использовали программы «Statistica 8» (StatSoft Inc.) и «Excel 2010» (Microsoft Corporation). Достоверность отличий средних значений полученных данных определяли с использованием t-критерия Стьюдента. Для описания зависимостей использовали методы регрессионного анализа. Для выявления тесноты связи между параметрами механической устойчивости и  $d/l$  использовали коэффициент корреляции Пирсона ( $r$ ).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По данным полученным в ходе полевых исследований мы оценили механическую устойчивость старовозрастных деревьев *Quercus robur* L. Путиловской байрачной дубравы. Установлено, что значение отношения диаметра ствола к его высоте  $d/l$  для всех изученных экземпляров составляло в среднем  $0,05 \pm 0,01$ . С помощью регрессионного анализа установлена достоверная связь между  $d/l$  и критической нагрузкой, и массой ( $R^2 > 0,99$ ), которую способно выдержать дерево при действии сезонных изменений температуры окружающей среды (Рис. 2).

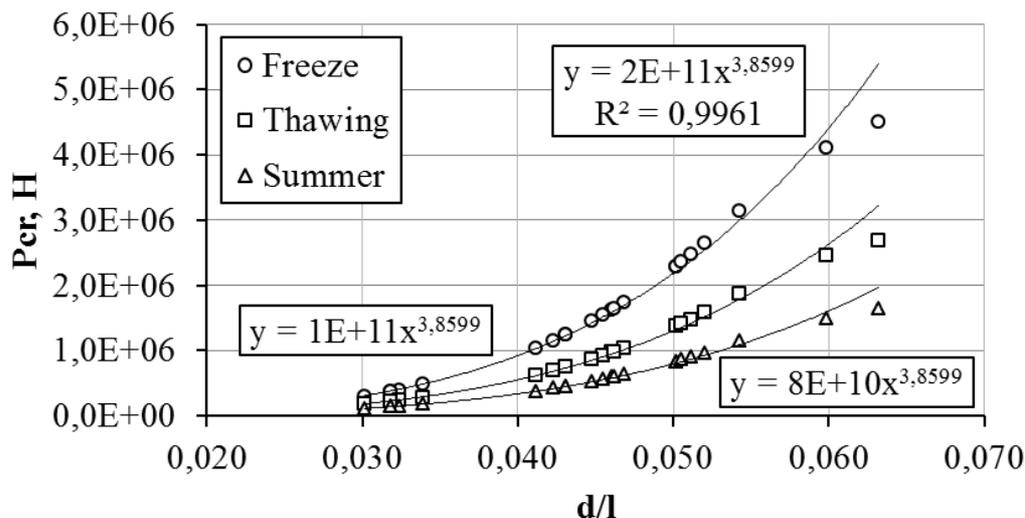


Рис. 2. Зависимость критической нагрузки от отношения  $d/l$  как морфометрического маркера механической устойчивости

Так в зимний сезон, при отрицательных температурах воздуха, значения  $P_{cr}$  и  $m_{cr}$  для растений возрастом свыше 100 лет, имеют высокие показатели ( $10^5$  кг), которые не достижимы даже при действии ветровых нагрузок характерных для региона (в среднем ожидается снижение  $m_{cr}$  на  $\sim 20\%$  [12]), а также снежных и ледяных бурь (Рис. 3).

Относительное сопротивление на изгиб RRB прямо зависит от модуля упругости (МОЕ). Установлено, что с увеличением толщины ствола RRB растет в степенной зависимости ( $R^2=0,98$ ), поэтому перепады температур не должны сказываться на устойчивости старовозрастных деревьев, которые характеризуются достаточным отношением диаметра ствола к высоте и запасом прочности ствола (Рис. 4).

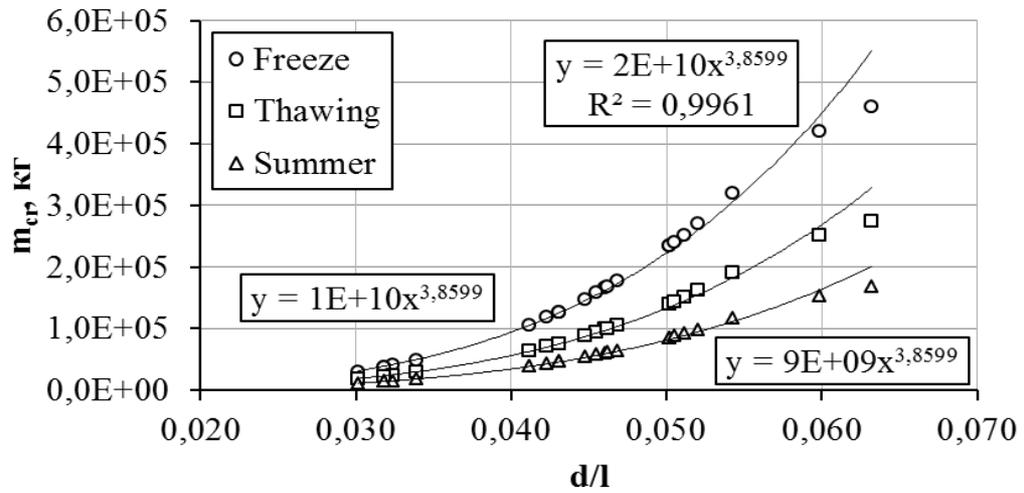


Рис. 3. Зависимость критической массы от отношения  $d/l$  как морфометрического маркера механической устойчивости.

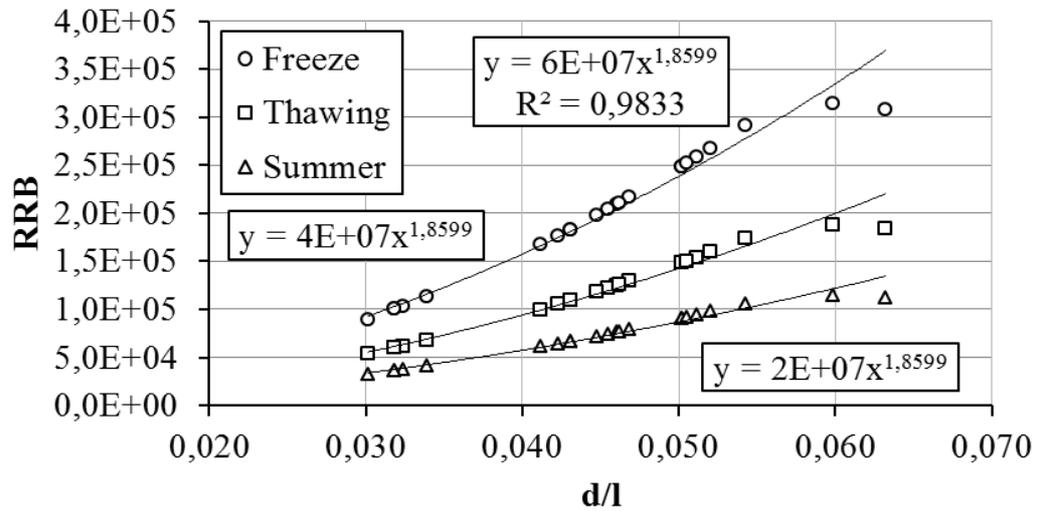


Рис. 4. Зависимость относительного сопротивления на изгиб от отношения  $d/l$  как морфометрического маркера механической устойчивости.

Регрессионный анализ показал достоверную связь между жесткостью на изгиб и  $d/l$  ( $R^2=0.98$ ). Тангенс угла наклона при изменении температуры составлял 3,7, а показатель степенной зависимости изменялся в зависимости от температуры воздуха (Рис. 5). В среднем при заморозке, жесткость на изгиб стволов старовозрастных деревьев имеет значение  $9,8 \cdot 10^7 \text{ Н} \cdot \text{м}^2$ , а при оттаивании  $5,9 \cdot 10^7 \text{ Н} \cdot \text{м}^2$ . Такая потеря жесткости ( $EI$ ) не критична для дуба черешчатого в

возрасте более 100 лет и при сезонных изменениях температуры воздуха не приводит к потере механической устойчивости растения в целом.

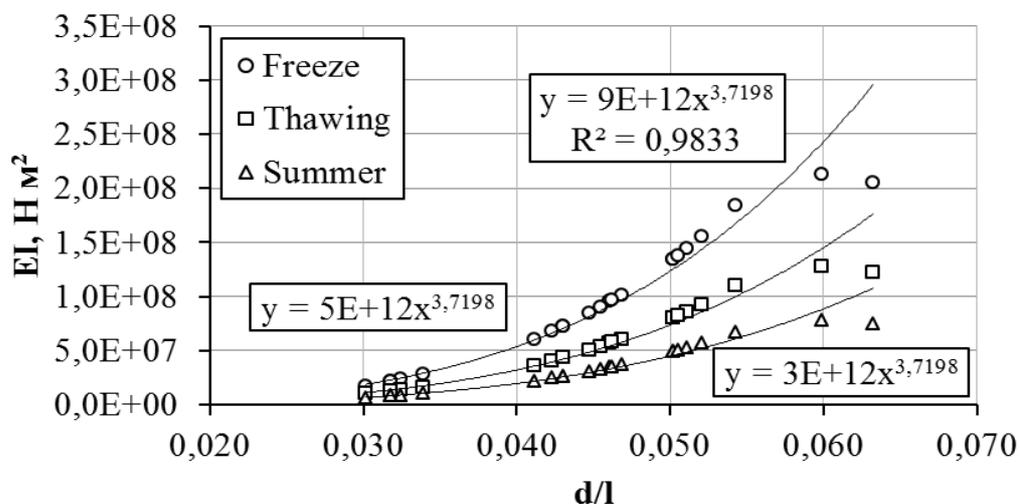


Рис. 5. Зависимость жесткости на изгиб от отношения  $d/l$  как морфометрического маркера механической устойчивости.

При анализе тесноты связи ( $r_{xy}$ ) между параметрами механической устойчивости ( $P_{cr}$ ,  $m_{cr}$ ,  $RRB$ ,  $EI$ ) и отношением диаметра ствола растения к его высоте ( $d/l$ ) с учетом возраста растений, выявлена весьма высокая связь для старовозрастных деревьев *Quercus robur* L. произрастающих в Путиловской байрачной дубраве (Табл. 1). Полученный результат статистического анализа можно использовать при мониторинге дубрав с целью выявления растений с низкой механической устойчивостью по показателю  $d/l$  как морфометрического маркера устойчивости дерева.

Таблица 1.

Теснота связи ( $r_{xy}$ ) параметров механической устойчивости от  $d/l$ , с учетом возраста деревьев дуба черешчатого

Возраст	Параметры механической устойчивости			
	$P_{cr}$	$m_{cr}$	$RRB$	$EI$
105-150	0,97	0,97	0,97	0,96
151-200	0,96	0,96	1,00	0,96
201-254	1,00	1,00	1,00	1,00
Общее (105-254)	0,95	0,95	0,98	0,96

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На восточных границах ареала произрастания этого вида самые старые дубравы произрастают в редких естественных насаждениях и в насаждениях, созданных Скряжинским в 1819 году, фон Граффом в 1843 году и Леманом в 1875 году. Таким образом, возраст самых старых деревьев в этих древостоях составляет 140-200 лет. Вполне возможно, что в степной зоне есть более старые экземпляры дуба, растущие в соответствующих местных условиях. Эти факты и возраст *Quercus robur* L. в Путиловском лесу позволяют предположить, что деревья дуба черешчатого произрастающие в условиях юга Восточно-Европейской равнины (Донецкий кряж), могут достигать возраста около 200 лет и при этом сохранять высокую механическую устойчивость ( $m_{cr}=10^5$  кг,  $EI=9,8*10^7$  Н·м<sup>2</sup>), даже при действии неблагоприятных метеорологических факторов. Это открывает перспективу планирования и посадки многолетних насаждений в смешанных городских и степных условиях.

## Список литературы

1. Netsvetov M. The climate to growth relationships of pedunculate oak in steppe / M. Netsvetov, M. Sergeyev, V. Nikulina [et al.] // Dendrochronologia. – 2017. – Vol. 44. – P. 31–38.
2. EUFORGEN Distribution map of Pedunculate oak (*Quercus robur*). – 2009. <http://www.euforgen.org>
3. Nilsson S. G. Densities of large living and dead trees in old-growth temperate and boreal forests. / S. G. Nilsson, M. Niklasson, J. Hedin [et al.] // For. Ecol. Manage. – 2002. – Vol. 161. – P. 189–204.
4. Belova N. A. Forest and steppe soils (ecology, micromorphology, genesis / N. A. Belova, A. P. Travleev – Dnepropetrovsk: Dnepropetrovsk University Press, 1999. – 348 p.
5. Le Roux D. S. The future of large old trees in urban landscapes / Le Roux D. S., Ikin K., Lindenmayer D. B. [et al.] // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9(6). – e99403.
6. Корниенко В. О. Биомеханика ствола *Robinia pseudoacacia* L. в онтогенезе / В. О. Корниенко // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2017. – №4. – С. 48–50.
7. Корниенко В. О. Влияние отрицательных температур на механическую устойчивость дуба красного (*Quercus rubra* L.) / В. О. Корниенко, М. В. Нецветов // Промышленная ботаника. – 2013. – №13. – С. 180–186.
8. Корниенко В. О. Влияние температуры на биомеханические свойства древесных растений в условиях закрытого и открытого грунта / В. О. Корниенко, В. Н. Калаев, А. О. Елизаров // Сибирский лесной журнал. – 2018. – №6. – С. 91–102.
9. Goldstein G. Tropical tree physiology. Adaptations and responses in a changing environment / G. Goldstein, L. S. Santiago (Eds.). – Springer Int. Publ. Switzerland, 2016. – 467 p.
10. Niklas K. J. Worldwide correlations of mechanical properties and green wood density / K. J. Niklas, H.-C. Spatz // American Journal of Botany. – 2010. – Vol. 97(10). – P. 1587–1594.
11. Niklas K. J. Plant biomechanics: an engineering approach to plant form and function / K. J. Niklas. – Chicago: Univ. Chicago Press, 1992. – 622 p.
12. Sellier D. Crown structure and wood properties: influence on tree sway and response to high winds / D. Sellier, T. Fourcaud // American Journal of Botany. – 2009. – Vol. 96. – P. 885–896.

MECHANICAL STABILITY OF OLD-AGE *QUERCUS ROBUR* L. TREES IN THE CONDITIONS OF THE CITY OF DONETSKKornienko V. O.<sup>1</sup>, Kalaev V. N.<sup>2</sup>, Kharchenko N. N.<sup>3</sup><sup>1</sup>Donetsk National University, Donetsk, DPR<sup>2</sup>Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation<sup>3</sup>Voronezh State Forest Engineering University named by G. F. Morozov, Voronezh, Russian Federation

E-mail: kornienkovo@mail.ru

The field data were used to evaluate the mechanical resistance of the old-age trees of *Quercus robur* L. in the Putylivsky ravine oak forest. It was established that the value of the ratio between the trunk diameter and its height ( $d/l$ ) was on average  $0.05 \pm 0.01$  for all the studied specimens. The regression analysis was used to reveal a reliable correlation between  $d/l$  and the critical load and the mass which a tree can withstand under seasonal temperature variations. For example, in winter, when the temperature is below zero the values of  $P_{cr}$  and  $m_{cr}$  for trees over 100 years old were high ( $10^5$  kg), which are beyond what is achievable even under the wind forces characteristic of the region, and under conditions of snow and ice storms. The relative resistance to bending directly depends on the physical and mechanical characteristics of the wood. As a result, the research showed that with a growing diameter of the tree trunk the RRB of the pedunculate oak grows in the power-law relation ( $R^2=0.98$ ;  $x^{1.86}$ ), that is why the temperature factor should not influence the resistance of old-age trees with a sufficient ratio between  $d/l$  and the trunk strength margin. The regression analysis showed a reliable correlation between the bending stiffness and  $d/l$  ( $R^2=0.98$ ). The slope of the logarithmic dependence under temperature variations was 3.7 and the value of the power-law relation changed depending on the air temperature. On average, when freezing, the bending stiffness of the trunks of old-age trees was  $9.8 \cdot 10^7$  N·m<sup>2</sup>, and when thawing it was  $5.9 \cdot 10^7$  N·m<sup>2</sup>. Such a reduction in stiffness (EI) is insignificant for pedunculate oaks older than 100 years old and the seasonal temperature changes do not lead to a reduction in the mechanical resistance of the plant as a whole. The analysis of the strength of relationship between the parameters of the mechanical resistance ( $P_{cr}$ ,  $m_{cr}$ , RRB, EI) and the ratio between the diameter of the tree trunk and its height ( $d/l$ ) with due consideration of the age of the plants revealed a strong relationship for the old-age trees of *Quercus robur* L. growing in the Putylivsky ravine oak forest. The obtained results of statistical analysis can be used to monitor oak forests in order to single out plants with low mechanical resistance with the help of the  $d/l$  parameter, which serves as a morphometric marker of tree resistance.

On the eastern boundaries of the habitat of the species, the oldest pedunculated oak forests grow as a part of rare natural forests and forests planted by Skryazhinsky in 1819, von Graff in 1843, and Leman in 1875. Thus, the oldest of the trees are 140–200 years old. There might be older oak specimens in the steppe region which grow under adequate local conditions. These facts and the age of *Quercus robur* L. trees in Putylivsky forest allow us to suppose that the pedunculate oak trees growing in the south of the East European Plain (Donetsk Ridge) can be about 200 years old and still be viable (6 points) and have a high mechanical resistance ( $m_{cr}=10^5$  kg,  $EI=9.8 \cdot 10^7$  N·m<sup>2</sup>) even under

unfavourable environmental conditions. This shows the benefit of planning and planting perennial tree plantations in mixed urban and steppe landscapes.

**Keywords:** *Quercus robur* L., mechanical stability, steppe zone, critical mass, morphometric stability marker, relative bending resistance, modulus of elasticity, biomechanics

### References

1. Netsvetov M., Sergeyev M., Nikulina V., Korniyenko V., and Prokopuk Yu. The climate to growth relationships of pedunculate oak in steppe, *Dendrochronologia*, **44**, 31 (2017) DOI: 10.1016/j.dendro.2017.03.004
2. EUFORGEN Distribution map of Pedunculate oak (*Quercus robur*) (2009). <http://www.euforgen.org>
3. Nilsson S. G., Niklasson M., Hedin J., Aronsson G., Gutowski J. M., Linder P., Ljungberg H., Mikusinski G., and Ranius T. Densities of large living and dead trees in old-growth temperate and boreal forests, *For. Ecol. Manage.*, **161**, 189 (2002)
4. Belova N. A., and Travleev A. P. Forest and steppe soils (ecology, micromorphology, genesis) (Dnepropetrovsk: Dnepropetrovsk University Press, 1999), 348 p.
5. Le Roux D. S., Ikin K., Lindenmayer D. B., Manning A. D., and Gibbons P. The future of large old trees in urban landscapes, *PLoS ONE*, **9(6)**, e99403 (2014) doi:10.1371/journal.pone.0099403
6. Kornienko V. O. Biomechanics of the stem of *Robinia pseudoacacia* L. in ontogenesis, *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy.* **4**, 48 (2017).
7. Kornienko V. O., Netsvetov M. V. The influence of negative temperatures on the mechanical resistance of red oak (*Quercus rubra* L.), *Industrial botany*, **13**, 180 (2013)
8. Kornienko V. O., Kalaev V. N., Elizarov A. O. The influence of temperature on biomechanical properties of woody plants in the conditions of protected and open grounds, *Sib. J. For. Sci.*, **6**, 91 (2018)
9. Tropical tree physiology. Adaptations and responses in a changing environment (Springer Int. Publ.: Switzerland, 2016), 467 p.
10. Niklas K. J., and Spatz H.-C. Worldwide correlations of mechanical properties and green wood density, *American Journal of Botany*, **97(10)**, 1587 (2010) DOI: 10.3732/ajb.1000150
11. Niklas K. J. Plant biomechanics: an engineering approach to plant form and function. (Chicago: Univ. Chicago Press, 1992), 622 p.
12. Sellier D., and Fourcaud T. Crown structure and wood properties: influence on tree sway and response to high winds, *American Journal of Botany*, **96**, 885 (2009)

**UDK 575.21**

**VIRTUAL SCREENING SNP OF GENES ASSOCIATED WITH THE RISK  
OF USING PSYCHOACTIVE SUBSTANCES TAKING INTO ACCOUNT  
DIFFERENT PHENOTYPE SIGNS**

*Krylov P. A.<sup>1</sup>, Gerasimova E. O.<sup>1</sup>, Shatyr Y. A.<sup>1</sup>, Mulik A. B.<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Volgograd State University, Volgograd, Russian Federation*

*<sup>2</sup>Federal State-Financed Institution Golikov Research Clinical Center of Toxicology under the  
Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russian Federation*

*E-mail: krylov.pavel@volsu.ru*

The virtual screening of SNP was performed using an automated program that automatically searched for articles and generated a list that included polymorphisms associated with the risk of substance use and various phenotypic traits. The screening found over 800 publications describing the relationship of addictions to psychoactive substances associated with various phenotypic traits of a person. To assess these relationships, 19 most common polymorphisms were selected. As a result of the analysis, it was revealed that in a number of cases the effect of one or another polymorphism on the phenotypic traits of a person has no proven clinical significance, is localized in possible regulatory sites and does not lead to structural and functional changes in proteins. Out of 19 polymorphisms, 7 were selected: rs6579845, rs1360780, rs16965628, rs1800497, rs1789891, rs6277, and rs4680 as the most likely candidates for the role of key SNPs associated with phenotype parameters characteristic of a psychoactive substance user.

**Keywords:** PMC, SNP, psychoactive substances, human phenotype, virtual screening SNP, data bases SNP.

**INTRODUCTION**

The biological predisposition to drug addiction, alcoholism and tobacco smoking is due to a number of specific manifestations of the neurochemical functions of the brain, provoking the development of mental and physical dependence on psychoactive substances (PAS). These manifestations, in turn, are a consequence of the implementation of the individual genetic program of human ontogenesis. Currently, a set of genes is known for which a convincing confirmation of their connection with the emergence of a narcotic drug has been obtained and published [1], alcoholic [2, 3] and tobacco [4, 5] dependencies.

At the same time, the role of phenotypic factors in the formation of the risk of the demand for PAS is known. A number of studies confirm the presence of links between the somatotype and psychological qualities of a person with the consumption of, first of all, "legal" PAS [6, 7]. Previously performed own studies substantiated the influence of psychophysiological status on the development of alcohol and tobacco dependence in humans. It was determined that an increased propensity to consume alcohol and smoke tobacco is associated with a high level of general nonspecific reactivity of the body [8, 9]. Further study of the mechanisms of the formation of a person's tendency to the demand for

PAS requires the specification of the most probable genes and their polymorphisms, which determine the phenotypic signs of the manifestation of deviant forms of behavior that form the risk of the studied addictions.

The search and analysis of polymorphisms can be divided into two approaches. The first approach involves the experimental production of mDNA or mRNA, their sequencing and assembly of the genome (genes), followed by decoding and entering the results into the dbSNP [10, 11]. The second approach is bioinformatic, which is an automated virtual screening of SNP databases and the identification of those polymorphisms that have not been studied or could be of interest for study for solving problems in various fields of science. In this regard, we chose the second approach, since there is a lot of data on polymorphisms and their number is constantly increasing, and manual analysis requires a lot of time.

#### **MATERIALS AND METHODS**

The algorithm used was developed in the form of a script written in the Python programming language. 3.6.5 (Python Software Foundation, USA) in PyCharm environment (USA) [12]. The following plug-in libraries and modules were used to develop the algorithm: the Requests v.2.24.0 library was used to implement the request; for searching and selecting information from database sites – library BeautifulSoup4 v.4.9.1. [13]. The script was executed on the command line, and saved to a Microsoft Excel (Microsoft, USA). The databases Pub Med Central (National Institutes of Health's National Library of Medicine, USA) and dbSNP (National Center for Biotechnology Information, USA).

The search and work on the study of SNPs took place in two main stages. The first stage included a search for publications in Pub Med Central (National Institutes of Health's National Library of Medicine, USA) that mention SNP and its relationship with phenotypic traits, as well as the use of surfactants using an algorithm [12]. The following synonymous construct was used for the search: [Psychoactive substances or alcohol or tobacco or smoking or drugs] and [Pain sensitivity or reactivity of the body or body mass index or height or weight or excitability or anxiety or cyclothymic or aggressive or depressive or extraverted or adventurous or masculine or activity or hyperthyness or shyness or emotiveness or empathy or exaltation] and [human or man or woman] and SNP. After that, in the publications found, 2 experts in this field analyzed and identified SNP associated with the human phenotype and the use of surfactants.

At the second stage, the analysis of the found SNP was carried out, which in the future can be verified experimentally. The analysis was carried out according to the 2nd stage of the algorithm [12]: SNP ID, gene: position in the chromosome (-s), allele, clinical significance, consequence, global frequency of minor alleles (MAF), phenotypic variation and/or psychoactive drug.

#### **RESULTS AND DISCUSSION**

As a result of the work at the first stage, as a result of a search using synonymous constructs, 834 articles were found. As a result of the operation of the algorithm, a table

was generated that includes: the title of the article, a link to PubMedCentralID and the phenotypic traits and / or PAS (an example is in Table 1).

**Table 1**

**Article title, link in PubMedCentral ID and phenotypic traits and / or PAS**

Name	PubMedCentral ID	Phenotypic variation and/or Psychoactive drug
GWAS and network analysis of co-occurring nicotine and alcohol dependence identifies significantly associated alleles and network	30488612	<b>alcohol dependence co-occurring nicotine dependence</b> , genome-wide association studies, network analysis, pleiotropy

Some publications were excluded from the analysis if they did not contain any data on the relationship of phenotypic traits and surfactants with SNP.

As a result, after analyzing all publications, experts selected 19 SNP for further work (Table 2).

During the analysis, three SNP of the GM2A gene (ganglioside activator) were found. Polymorphism rs6579845 was found in people addicted to alcohol and nicotine [11]. This polymorphism leads to a nucleotide change in the intron and has no proven clinical manifestations at the moment. The other two polymorphisms, rs12516391 and rs3806953, do not lead to negative consequences and are mainly involved only in the regulation of translation of the GM2A protein. In connection with the above, only rs6579845 can be used as a genetic marker to detect the presence of alcohol or nicotine addiction and phenotypic traits associated with them.

As a result of the expression of the FKBP5 gene, a part of the complex with the glucocorticoid receptor is formed, which is involved in modulating the expression of glucocorticoid hormones.

The selected SNP of this gene are associated with phenotypic traits formed by various factors. For example, the relationship of rs1360780 with the use of antidepressants [14, 15], mental illness [16], changes in body mass index in people of different sex and age [17] and other factors (about 166 publications). Polymorphisms rs1360780 and rs9470080 are localized in the intron, and rs3800373 is involved in the regulation of translation; therefore, most likely, these polymorphisms do not directly change the protein, but regulate its expression and possibly participate in alternative splicing. However, clinical manifestations are either absent or not proven according to the ClinVar database.

The rs16965628 polymorphism is associated with the serotonin transporter gene SLC6A4, which ensures the availability of serotonin in the synaptic cleft, which is inhibited by the use of drugs such as cocaine. In recent studies, it was found that the above polymorphism is associated with cocaine and opiate addiction [18, 19]. Also, rs16965628 is associated with the development of mental diseases, such as obsessive-compulsive disorder [20]. All conducted studies of rs16965628 had a small sample and therefore cannot be considered reliable.

**Table 2**  
**SNP associated with the risk of substance use and human phenotypic traits**

SNP id	Gene: position	Allele	Clinical significance	Consequence	MAF	Phenotypic variation and/or Psychoactive drug
1	2	3	4	5	6	7
rs6579845	GM2A:chr5:151262704	A>G	-	Intron variant	G=0.28 A=0.39	alcohol and nicotine addiction [11]
rs12516391	GM2A:chr5:151269445	A>G	benign	3 Prime UTR variant	G=0.22 A=0.38	
rs3806953	GM2A:chr5:151269317	C>G /C>T	benign	3 Prime UTR variant	T=0.22 C=0.38	
rs1360780	FKBP5:chr6:35639794	T>A /T>C	drug response	Intron variant	T=0.34	depression [14, 15] body mass index [17] psychic disease [16]
rs3800373	FKBP5:chr6:35574699	C>A /C>G	-	3 Prime UTR variant	C=0.33	
rs9470080	FKBP:chr6:35678658	T>A /T>C	-	Intron variant	T=0.37	
rs16965628	SLC6A4:chr17:30228407	G>C	-	Intron variant	C=0.14 G=0.39	drug addiction [19] psychic disease [20]
rs1800497	ANKK1:chr11:113400106	G>A	drug response	Missense variant	A=0.27	alcohol [21] and antidepressants [22, 23] addiction, body mass index [24]
rs1229984	ADH1B:chr4:99318162	T>C /T>G	drug response, not proved	Missense variant	T=0.06 C=0.31	alcohol [25, 28, 29] and drug [27] addiction
rs1789891	ADH1B/1C:chr4:99329262	C>A /C>G	-	Missense variant	A=0.15 C=0.43	
rs2835859	KCNJ6:chr21:37645860	T>C /T>G	-	Intron variant	C=0.15 T=0.42	nicotine addiction [30]
rs6277	DRD2:chr11:113412737	G>A	benign	Synonymous variant	A=0.41	depression [31, 32]
rs17818902	FTO:chr16:53837894	T>G	-	Intron variant	G=0.27 T=0.39	obesity [33]

Table continuation 2

1	2	3	4	5	6	7
rs1611115	DBH:chr9:133635393	T>A /T>C /T>G	Benign, not proved	Upstream variant	T=0.21	nervous system diseases [35, 36], drug addiction [37]
rs2399496	DRD3:chr3:114127166	T>A /T>G	-	Downstre am variant	A=0.45 T=0.40	depression and nicotine addiction [39]
rs4680	COMT:chr22:19963748	G>A	drug response	Missense variant	A=0.48 G=0.45	psychic disease, depression, schizophrenia [40], alcohol addiction and aggression [21]
rs4532	DRD1:chr5:175443147	C>G /C>T	Benign, not proved	5 Prime UTR variant	C=0.32	impulsivity [21], psychic disease [42], psychoactive drug addiction [41]
rs6280	DRD3:chr3:114171968	C>T	Benign/ Likely benign	Missense variant	C=0.47 T=0.45	psychic disease [44], alcohol [21] and nicotine [45] addiction
rs6923492	GRM1:chr6:146434188	T>A /T>C	Benign	Missense variant	T=0.47 C=0.47	psychic disease [46]

The ANKK1 gene is involved in the regulation of dopamine synthesis, which means it is one of the links involved in the modulation of the dopaminergic system. The rs1800497 polymorphism results in an amino acid substitution that affects the activity of the Ser / Thr family protein kinase. Currently, it is known that there are a large number of genetic disorders in the dopaminergic system (over 300 publications), which have a strong influence on the formation of phenotypic traits associated with deviant behaviors in both men and women in response to, for example, alcohol consumption [21], psychoactive substances in mental illness [22, 23] and overweight [24].

Alcohol dehydrogenase IB (ADH1B) beta polypeptide gene polymorphisms are well studied and are directly related to the risk of alcohol consumption and its metabolism in the body. Currently, most studies are aimed at identifying or confirming the relationship of the rs1229984 and rs1789891 polymorphisms not only with the risk of developing alcoholic [25, 26] and narcotic [27] dependences, but also other human diseases, for example, collateral cancer [28], as well as with the influence of the environment on the realization of phenotypic manifestations formed in individuals with the presence of this polymorphism [29].

The rs2835859 polymorphism was found in the KCNJ6 gene, which is responsible for the translation of GIRK2, a subunit of the G-protein-coupled internal rectifying potassium channel (the so-called GIRK). The results of the study indicate that rs2835859 can serve as an indicator predicting sensitivity to anesthesia and nicotine addiction [30].

The DRD2 gene, which is responsible for the dopamine D2 receptor, has the rs6277 polymorphism. By its type, polymorphism is benign / conditionally benign. Polymorphism can lead to an increase in the propensity for psychosis. Allele C rs6277 DRD2 was associated with higher levels of psychotic-like experiences [31] It was assumed that polymorphism is associated with behavior in solving simple / complex problems. However, no effect of DRD2 genotypes was found [32].

The FTO gene encodes the FTO protein involved in energy metabolism and affecting metabolism in general. Currently, there are studies aimed at finding links between rs17818902 and obesity [33], but also with smoking, although no such dependence was found [34]. The polymorphism rs17818902 is in the intron and has no clinical manifestations according to the ClinVar database. It is unlikely that this polymorphism will determine smoking status, like the FTO gene itself.

The rs1611115 polymorphism is associated with the DBH gene, which encodes the dopamine beta-hydroxylase enzyme. This enzyme catalyzes the conversion of dopamine to norepinephrine. Numerous studies of the dependence of various diseases have been associated with this polymorphism. So it is more likely that this polymorphism can be considered a genetic marker of Alzheimer's disease [35, 36]. It was also found that the presence of rs1611115 reduced the total use of cocaine with the use of disulfiram [37]. No association with Parkinson's disease was found [38]. The reliability has not been confirmed by the "ClinVar" database.

In a study [39], the rs2399496 polymorphism, located 1.5 kb downstream of the DRD3 dopamine receptor gene, showed a suggestive association with major depressive disorder and a significant association with concomitant incidence of nicotine addiction. This polymorphism is poorly understood and has no clinical manifestations according to the ClinVar database.

COMT (catechol-O-methyltransferase) is a gene responsible for the translation of an enzyme that deactivates dopamine. The rs4680 (A; A) polymorphism results in decreased enzymatic activity and increased dopamine levels. Polymorphism of the type (G; G) is associated with a tendency to use cannabinoids in adolescence and schizotypal manifestations in adulthood. The severity is lost with polymorphism (G; A), weakly expressed with (A; A). Moreover, this polymorphism affects the development of schizophrenia [40], depression and dependence on the use of psychoactive substances. Also, when alcoholic beverages are abused, it affects aggressiveness and impulsivity [21].

In the rs4532 polymorphism of the DRD1 gene, which encodes the dopamine receptor D1, a receptor for dopamine coupled with G-proteins, stimulating adenylate cyclase and activating AMP-dependent kinases, a significant association with impulsivity was revealed [21]. In several studies, the rs4532 polymorphism in DRD1 is considered as a potential pharmacogenomic marker of response to antipsychotic drug treatment [41], for example, schizophrenia [42]. It has also been established that the presence of the rs4532 polymorphism when taking antipsychotics does not lead to weight gain [43]. Clinical manifestations are benign according to the "ClinVar" database.

The rs6280 polymorphism is associated with the DRD3 gene, which encodes the D3 dopamine receptor. This receptor inhibits adenylate cyclase. The type of polymorphism is a missense mutation that leads to the formation of another amino acid. Numerous studies of the dependence of various diseases have been associated with this polymorphism. A significant

association was found between the DRD3 SNP rs6280 and scores on the obsessive-compulsive alcohol use scale [21]. Found a relationship in this polymorphism with schizophrenia in women [44]. Ser9/Gly single nucleotide polymorphism (SNP; rs6280) leads to D3R variants that have been identified and associated with smoking in humans [45]. SNP Ser9/Gly D3R corresponds to the substitution of serine for glycine at position 9 of the N-terminal extracellular domain. Clinical manifestations are benign in the "ClinVar" database.

The rs6923492 polymorphism belongs to the GRM1 gene (glutamate metabotropic receptor 1). This gene encodes the metabotropic glutamate receptor, which functions by activating phospholipase C. This gene can be associated with many disease conditions, including schizophrenia, bipolar disorder, depression, and breast cancer. The polymorphism itself changes the amino acid from Ser to Thr or Pro. It can also affect the development of autosomal recessive spinocerebellar ataxia-13 (SCAR13) according to ClinVar, attention deficit / hyperactivity disorder (ADHD) [46].

It should be noted that all the above polymorphisms are described for different populations of people, different sex, age and place of residence. In most cases, the effect of one or another polymorphism on the phenotypic traits of a person has no proven clinical significance. It is also not unimportant that some of the polymorphisms are localized in introns or regulatory regions; therefore, it is difficult to assert about their direct influence on the change in the functional activity of proteins encoded by these genes.

## CONCLUSIONS

Virtual screening of SNP of genes associated with the risk of substance use showed that a variety of polymorphisms leads to the development of various phenotypic traits, caused in most cases by alcohol and nicotine addiction. The studied polymorphisms lead to the development of various mental illnesses and metabolic disorders of the body.

For further experimental verification of the effect of polymorphisms on human phenotypic traits and population characteristics of humans, the following SNPs were selected: rs6579845, rs1360780, rs16965628, rs1800497, rs1789891, rs6277, and rs4680. These polymorphisms are associated with all types of addiction to psychoactive substances, and at the moment they have partially or completely proven phenotypic traits in humans.

*Acknowledgments: The reported study was funded by RFBR according to the research project № 20-013-00145 "Mechanisms for the complex influence of environmental factors on the consumption of psychoactive substances by the population of local territories of the Russian Federation".*

## References

1. Donaldson K., Demers L., Taylor K., Lopez J. and Chang S. Multi-variant genetic panel for genetic risk of opioid addiction. *Ann Clin Lab Sci.*, **47(4)**, 452 (2017).
2. van der Zwaluw C. S., Engels R. C., Buitelaar J., Verkes R. J., Franke B. and Scholte R. H. Polymorphisms in the dopamine transporter gene (SLC6A3/DAT1) and alcohol dependence in humans: a systematic review. *Pharmacogenomics*, **10(5)**, 853 (2009).
3. Lai D., Wetherill L., Bertelsen S., Carey C. E., Kamarajan C., Kapoor M., Meyers J. L., Anokhin A. P., Bennett D. A., Bucholz K. K., Chang K. K., De Jager P. L., Dick D. M., Hesselbrock V., Kramer J., Kuperman S., Nurnberger J. I., Jr Raj T., Schuckit M., Scott D. M., Taylor R. E., Tischfield J.,

- Hariri A. R., Edenberg H. J., Agrawal A., Bogdan R., Porjesz B., Goate A. M. and Foroud T. Genome-wide association studies of alcohol dependence, DSM-IV criterion count and individual criteria. *Genes, brain, and behavior*, **18(6)**, e12579 (2019).
4. Sullivan P. F. and Kendler K. S. The genetic epidemiology of smoking, *Nicotine Tob Res.*, **1**, Suppl 2, S51 discussion, S69 (1999).
  5. Uhl G. R., Drgon T., Li C. Y., Johnson C. and Liu Q. R. Smoking and smoking cessation in disadvantaged women: assessing genetic contributions. *Drug Alcohol Depend.* **104**, Suppl 1, S58 (2009).
  6. Murphy C. M., Janssen T., Colby S. M. and Jackson K. M. Low self-esteem for physical appearance mediates the effect of body mass index on smoking Initiation among adolescents. *J. Pediatr Psychol.*, **44(2)**, 197 (2019).
  7. Lastovetsky A. G., Timoshilov V. I. and Bobrik Yu. V. Risk factors of drug abuse among young people: analytical review and expert evaluation. *Tavrisheskiy mediko-biologicheskiy vestnik*, **22(1)**, 129 (2019).
  8. Mulik A. B., Bulatetsky S. V., Ulesikova I. V., Mulik I. G., Nazarova E. V. and Shatyr Y. A. Optimization of evaluation human tendency for alcohol consumption. *I P Pavlov Russian Medical Biological Herald*, **24(4)**, 6 (2016).
  9. Mulik A. B., Postnova M. V., Mulik I. G., Ulesikova I. V. and Shatyr Y. A. Development of a system for the comprehensive assessment of a person's propensity to tobacco smoking. *Narcology*, **16(7)**, 85 (2017).
  10. Mori Y., Saito T., Chang S. H., Kobayashi H., Ladel C. H., Guehring H., Chung U. I. and Kawaguchi H. Identification of fibroblast growth factor-18 as a molecule to protect adult articular cartilage by gene expression profiling. *J Biol Chem.*, **289(14)**, 10192 (2014).
  11. Xiang B., Yang B. Z., Zhou H., Kranzler H. and Gelernter J. GWAS and network analysis of co-occurring nicotine and alcohol dependence identifies significantly associated alleles and network. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.*, **180(1)**, 3 (2019).
  12. Krylov P. A., Gerasimova E. O., Shatyr Yu. A., Mulik A. B. and Novochadov V. V., Development the algorithm for virtual screening of protein polymorphisms affecting their structural and functional properties. *European Journal of Molecular Biotechnology*, **8(1)**, 35 (2020).
  13. Plotnikov A., Shcheludyakov A., Cherdantsev V., Bochkarev A. and Zagoruiko I. Data on post bank customer reviews from web. *Data Brief.*, **32**, 106152 (2020).
  14. Binder E. B., Salyakina D., Lichtner P., Wochnik G. M., Ising M., Pütz B., Papiol S., Seaman S., Lucae S., Kohli M. A., Nickel T., Künzel H. E., Fuchs B., Majer M., Pfennig A., Kern N., Brunner J., Modell S., Baghai T., Deiml T., Zill P., Bondy B., Rupprecht R., Messer T., Köhnlén O., Dabitz H., Brückl T., Müller N., Pfister H., Lieb R., Mueller J. C., Löhmussaar E., Strom T. M., Bettecken T., Meitinger T., Uhr M., Rein T., Holsboer F. and Muller-Myhsok B. Polymorphisms in FKBP5 are associated with increased recurrence of depressive episodes and rapid response to antidepressant treatment. *Nat Genet.*, **36(12)**, 1319 (2004).
  15. Lekman M., Laje G., Charney D., Rush A.J., Wilson A.F., Sorant A.J., Lipsky R., Wisniewski S.R., Manji H., McMahon F.J. and Paddock S. The FKBP5-gene in depression and treatment response-an association study in the sequenced treatment alternatives to relieve depression (STAR\*D) cohort. *Biological psychiatry*, **63(12)**, 1103 (2008).
  16. Willour V. L., Chen H., Toolan J., Belmonte P., Cutler D. J., Goes F. S., Zandi P. P., Lee R. S., MacKinnon D. F., Mondimore F. M., Schweizer B., Bipolar Disorder Phenome Group; NIMH Genetics Initiative Bipolar Disorder Consortium, DePaulo J. R. Jr, Gershon E. S., McMahon F. J. and Potash J. B. Family-based association of FKBP5 in bipolar disorder. *Mol Psychiatry*. **14(3)**, 261 (2009).
  17. Peña E., Caixàs A., Arenas C., Rigla M., Crivillés S., Cardoner N. and Rosa A. Role of the FKBP5 polymorphism rs1360780, age, sex, and type of surgery in weight loss after bariatric surgery: a follow-up study. *Surgery for obesity and related diseases*, **16(4)**, 581 (2020).
  18. Enoch M. A., Gorodetsky E., Hodgkinson C., Roy A. and Goldman D. Functional genetic variants that increase synaptic serotonin and 5-HT<sub>3</sub> receptor sensitivity predict alcohol and drug dependence. *Molecular psychiatry*, **16(11)**, 1139 (2011).
  19. Levran O., Peles E., Randesi M., Correa da Rosa J., Ott J., Rotrosen J., Adelson M. and Kreek M. J. Susceptibility loci for heroin and cocaine addiction in the serotonergic and adrenergic pathways in populations of different ancestry. *Pharmacogenomics*, **16(12)**, 1329 (2015).

20. Grünblatt E., Marinova Z., Roth A., Gardini E., Ball J., Geissler J., Wojdacz T. K., Romanos M. and Walitza S. Combining genetic and epigenetic parameters of the serotonin transporter gene in obsessive-compulsive disorder. *Journal of psychiatric research*, **96**, 209 (2018).
21. Park C. I., Kim H. W., Hwang S. S., Kang J. I. and Kim S. J. Influence of dopamine-related genes on craving, impulsivity, and aggressiveness in Korean males with alcohol use disorder. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, **271(5)**, 865 (2021).
22. López-Rodríguez R., Cabaleiro T., Ochoa D., Román M., Borobia A. M., Carcas A. J., Ayuso C., Novalbos J. and Abad-Santos F. Pharmacodynamic genetic variants related to antipsychotic adverse reactions in healthy volunteers. *Pharmacogenomics*, **14(10)**, 1203 (2013).
23. Sukasem C., Hongkaew Y., Ngamsamut N., Puangpetch A., Vanwong N., Chamnanphon M., Chamkrachchangpada B., Sinrachatanant A. and Limsila P. Impact of pharmacogenetic markers of CYP2D6 and DRD2 on prolactin response in risperidone-treated Thai children and adolescents with autism spectrum disorders. *Journal of clinical psychopharmacology*, **36(2)**, 141 (2016).
24. Aliasghari F., Nazm S. A., Yasari S., Mahdavi R. and Bonyadi M. Associations of the ANKK1 and DRD2 gene polymorphisms with overweight, obesity and hedonic hunger among women from the Northwest of Iran. *Eating and weight disorders: EWD*, **26(1)**, 305 (2021).
25. Yokoyama A., Omori T. and Yokoyama T. Risk factors for esophageal iodine-unstained lesions and changing trends among Japanese alcohol-dependent men (2003-2018). *Cancer science*, **112(2)**, 734 (2021).
26. Oniszczenko W., Rybakowski J. K., Dragan W. Ł., Grzywacz A. and Samochowiec J. The ADH gene cluster SNP rs1789891 and temperamental dimensions in patients with alcohol dependence and affective disorders. *Scandinavian journal of psychology*, **56(4)**, 420 (2015).
27. Demers C. H., Bogdan R. and Agrawal A. The Genetics, Neurogenetics and Pharmacogenetics of Addiction. *Current behavioral neuroscience reports*, **1(1)**, 33 (2014).
28. Yokoyama A., Taniki N., Nakamoto N., Tomita K., Hara S., Mizukami T., Maruyama K., and Yokoyama T. Associations among liver disease, serum lipid profile, body mass index, ketonuria, meal skipping, and the alcohol dehydrogenase-1B and aldehyde dehydrogenase-2 genotypes in Japanese men with alcohol dependence. *Hepatology research*, **50(5)**, 565 (2020).
29. Clarke T. K., Adams M. J., Howard D. M., Xia C., Davies G., Hayward C., Campbell A., Padmanabhan S., Smith B. H., Murray A., Porteous D., Deary I. J. and McIntosh A. M. Genetic and shared couple environmental contributions to smoking and alcohol use in the UK population. *Molecular psychiatry*, **26(8)**, 4344 (2021).
30. Nishizawa D., Fukuda K., Kasai S., Ogai Y., Hasegawa J., Sato N., Yamada H., Tanioka F., Sugimura H., Hayashida M. and Ikeda K. Association between KCNJ6 (GIRK2) gene polymorphism rs2835859 and post-operative analgesia, pain sensitivity, and nicotine dependence. *Journal of pharmacological sciences*, **126(3)**, 253 (2014).
31. Kotowicz K., Frydecka D., Gawęda Ł., Prochwicz K., Kłosowska J., Rymaszewska J., Samochowiec A., Samochowiec J., Szczygieł K., Pawlak-Adamska E., Szmida E., Cechnicki A. and Misiak B. Effects of traumatic life events, cognitive biases and variation in dopaminergic genes on psychosis proneness. *Early intervention in psychiatry*, **15(2)**, 248 (2021).
32. Zink N., Bensmann W., Arning L., Colzato L.S., Stock A. K. and Beste C. The role of DRD1 and DRD2 receptors for response selection under varying complexity levels: implications for metacontrol processes. *The international journal of neuropsychopharmacology*, **22(12)**, 747 (2019).
33. Srivastava A, Mittal B, Prakash J, Srivastava P, Srivastava N. and Srivastava N. A multianalytical approach to evaluate the association of 55 SNPs in 28 genes with obesity risk in North Indian adults. *Am J Hum Biol.*, **29(2)**, (2017).
34. Hubacek J. A., Dlouha D., Lanska V. and Adamkova V. Lack of an association between three tagging SNPs within the FTO gene and smoking behavior. *Nicotine Tob Res.*, **14(8)**, 998 (2012).
35. Babić Leko M., Nikolac Perković M., Klepac N., Švob Štrac D., Borovečki F., Pivac N., Hof P. R. and Šimić G. Relationships of cerebrospinal fluid Alzheimer's disease biomarkers and COMT, DBH, and MAOB single nucleotide polymorphisms. *J. Alzheimers Dis.*, **73(1)**, 135 (2020).
36. Belbin O., Morgan K., Medway C., Warden D., Cortina-Borja M., van Duijn C. M., Adams H. H. H., Frank-Garcia A., Brookes K., Sánchez-Juan P., Alvarez V., Heun R., Kölsch H., Coto E., Kehoe P. G., Rodriguez-Rodriguez E., Bullido M. J., Ikram M. A., Smith A. D. and Lehmann D. J. The epistasis

- project: A multi-cohort study of the effects of BDNF, DBH, and SORT1 epistasis on Alzheimer's disease risk. *J Alzheimers Dis.*, **68(4)**, 1535 (2019).
37. Zhang X., Nielsen D. A., Domingo C. B., Shorter D. I., Nielsen E. M. and Kosten T. R. Pharmacogenetics of dopamine  $\beta$ -Hydroxylase in cocaine dependence therapy with doxazosin. *Addict Biol.*, **24(3)**, 531 (2019).
  38. Chen Y., Ou R., Zhang L., Gu X., Yuan X., Wei Q. Q., Cao B., Zhao B., Wu Y. and Shang H. Contribution of five functional loci of dopamine metabolism-related genes to Parkinson's disease and multiple system atrophy in a Chinese population. *Front Neurosci.*, **14**, 889 (2020).
  39. Korhonen T., Loukola A., Wedenoja J., Nyman E., Latvala A., Broms U., Häppölä A., Paunio T., Schrage A. J., Vink J. M., Mbarek H., Boomsma D. I., Penninx B. W., Pergadia M. L., Madden P. A. and Kaprio J. Role of nicotine dependence in the association between the dopamine receptor gene DRD3 and major depressive disorder. *PLoS One.*, **9(6)**, e98199 (2014).
  40. Kogure M., Kanahara N., Miyazawa A., Oishi K., Nakata Y., Oda Y. and Iyo M. Interacting roles of COMT and GAD1 genes in patients with treatment-resistant schizophrenia: a genetic association study of schizophrenia patients and healthy controls. *J Mol Neurosci.*, **71(12)**, 2575 (2021).
  41. De Matos L. P., Santana C. V. and Souza R. P. Meta-analysis of dopamine receptor D1 rs4532 polymorphism and susceptibility to antipsychotic treatment response. *Psychiatry Res.*, **229(1-2)**, 586 (2015).
  42. Ota V. K., Spindola L. N., Gadelha A., dos Santos Filho A. F., Santoro M. L., Christofolini D. M., Bellucco F. T., Ribeiro-dos-Santos A. K., Santos S., Mari Jde J., Melaragno M. I., Bressan R. A., Smith Mde A. and Belangero S. I. DRD1 rs4532 polymorphism: a potential pharmacogenomic marker for treatment response to antipsychotic drugs. *Schizophr Res.*, **142(1-3)**, 206 (2012).
  43. Luo C., Liu J., Wang X., Mao X., Zhou H. and Liu Z. Pharmacogenetic correlates of antipsychotic-induced weight gain in the Chinese population. *Neurosci Bull.*, **35(3)**, 561 (2019).
  44. Morozova A., Zorkina Y., Pavlov K., Pavlova O., Storozheva Z., Zubkov E., Zakharova N., Karpenko O., Reznik A., Chekhonin V. and Kostyuk G. Association of rs4680 COMT, rs6280 DRD3, and rs7322347 5HT2A with clinical features of Youth-Onset schizophrenia. *Front Psychiatry*, **12**, 830 (2019).
  45. Chukwueke C. C., Kowalczyk W. J., Di Ciano P., Gendy M., Taylor R., Heishman S. J. and Le Foll B. Exploring the role of the Ser9Gly (rs6280) Dopamine D3 receptor polymorphism in nicotine reinforcement and cue-elicited craving. *Scientific reports*, **10(1)**, 4085 (2020).
  46. Waltes R., Freitag C. M., Herlt T., Lempp T., Seitz C., Palmason H., Meyer J. and Chiacchetti A. G. Impact of autism-associated genetic variants in interaction with environmental factors on ADHD comorbidities: an exploratory pilot study. *Journal of neural transmission*, **126(12)**, 1679 (2019).

**Крылов П. А. Виртуальный скрининг SNP генов, ассоциированных с фенотипическими признаками, связанными с риском употребления психоактивных веществ / П. А. Крылов, Е. О. Герасимова, Ю. А. Шатыр, А. Б. Мулик // Ученые записки Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского. Биология, химия. – 2021. – Т. 7 (73), №4. – С. 69–78.**

Виртуальный скрининг SNP проводился с использованием программы, которая выполняла поиск статей, включающий SNP, связанные с риском употребления психоактивных веществ и различными фенотипическими признаками. В ходе скрининга было обнаружено свыше 800 публикаций, описывающих взаимосвязь зависимости от психоактивных веществ и различными фенотипическими чертами человека. В результате анализа было выявлено, что в ряде случаев влияние того или иного SNP на фенотипические признаки человека не имеет доказанного клинического значения, локализуется в возможных регуляторных участках и не приводит к структурным и функциональным изменениям белков. Из 19 SNP было выбрано 7: rs6579845, rs1360780, rs16965628, rs1800497, rs1789891, rs6277 и rs4680 в качестве наиболее вероятных кандидатов на роль ключевых SNP, связанных с параметрами фенотипа, характерными для потребителя психоактивных веществ.

**Ключевые слова:** PMC, SNP, психоактивные вещества, фенотип человек, виртуальный скрининг SNP, база данных SNP.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) в рамках реализации проекта № 20-013-00145 “Механизмы комплексного влияния факторов окружающей среды на потребление психоактивных веществ населением локальных территорий Российской Федерации”.*

**УДК 594.3-15(262.5.04)**

## **ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ PYRAMIDELLIDAE (GASTROPODA, MOLLUSCA) У ПОБЕРЕЖИЙ КРЫМА И КАВКАЗА**

*Макаров М. В.*

*ФГБУН ФИЦ Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского РАН, Севастополь,  
Россия*

*E-mail: mihaliksevast@inbox.ru*

Проанализировано горизонтальное (вдоль берегов Крыма и частично Кавказа) и вертикальное распределение Pyramidellidae, их приуроченность к определенным типам субстратов, сезонная динамика численности, размеры (высота раковины) моллюсков, соотношение численности ряда видов Pyramidellidae с численностью возможных хозяев. У некоторых видов уточнен диапазон распределения по глубинам.

**Ключевые слова:** распределение, субстрат, численность, биомасса, глубина, размер, динамика.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Семейство Pyramidellidae Gray, 1840 относится к отряду Pyramidelliformes Golikov et Starobogatov, 1975 (=Heterostropha Fischer, 1884) и классу Gastropoda. В Азовском море известно 6, а в Черном море – 15 видов этого семейства [1, 2]. Несмотря на достаточно большое количество видов, они являются малочисленными, а особи – мелкими по размеру. Поэтому представители Pyramidellidae являются относительно малоизученными. В частности, в Азово-Черноморском бассейне недостаточно данных по их распределению, динамике, размерной структуре, питании, размножении и др. Это в том числе связано с тем, что Pyramidellidae больше приурочены к твердым субстратам естественного и искусственного происхождения, а их население исследовано в целом меньше, чем на рыхлых грунтах, на которых эти моллюски в основном малочисленны. Отдельных работ по этому семейству у берегов Крыма и Кавказа практически не было, за исключением некоторых авторских тезисов [3, 4]. Нами накоплен достаточно большой массив данных по экологии Pyramidellidae, в основном у черноморских берегов Крыма, но также частично в Азовском море (Казантип) и на Кавказе (район Утриша).

Цель данной работы – обобщить данные по экологии малоизученного семейства Pyramidellidae у берегов Крыма и Кавказа.

Задачи: уточнить ареалы и диапазоны глубин обитания некоторых видов Pyramidellidae; оценить взаимосвязь гастропод-эктопаразитов с их потенциальными хозяевами; изучить сезонную динамику численности одного из видов Pyramidellidae (*Parthenina indistincta*), у которого неизвестны сроки размножения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отбор проб проводили с 2000 по 2020 гг. у побережий в районах: Каркинитский залив (ил: 2018 г.), Тарханкутский полуостров (скалы: 2013 г.), лиман Донузлав (песок: 2020 г.), Севастопольская бухта (мол, набережная, песок, а также низовье и устье реки Черная на иле: 2010–2020 гг.), Карантинная бухта (мидийная ферма, мол, тетраподы: 2000–2015 гг.), Стрелецкая бухта (песок: 2003 г.), бухта Круглая (песок: 2005, 2013 гг.), Казачья бухта (песок: 2011–2012, 2018–2019 гг.), бухта Ласпи (пирс, 2002–2004 гг.; песок, 2016 г.), Алупка (пирс: 2015 г.), заповедник «Мыс Мартьян» (валуны: 2014 г.), Карадагский природный заповедник (пирс, 2002–2004 гг.; скалы, 2004, 2008, 2009, 2011, 2012 гг.), акватория вблизи заповедника Утриш (валуны: 2017 г.), Казантипский природный заповедник (скалы: 2013 г.) (рис 1, 2).

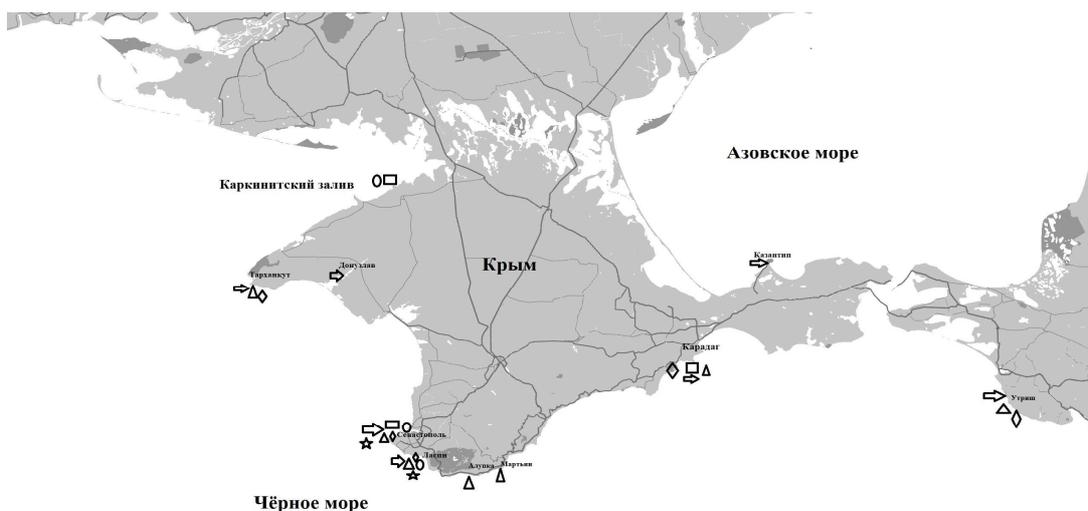


Рис. 1. Распределение разных видов Pyramidellidae у побережья Крыма и Кавказа (Утриш) по собственным данным (2000–2020 гг.).

Условные обозначения:

- – *Ebala pointelli*, □ – *Spiralinella incerta*; △ – *Odostomia eulimoides*,  
◇ – *Parthenina indistincta*, ⇨ – *P. interstincta*, ☆ – *Turbonilla acuta*.

Материал собирали в разные сезоны, в некоторых районах – круглогодично во все сезоны, на глубинах от 0 до 35 м. На твердых субстратах пробы брали с помощью скребка или рамки, обшитой мельничным газом, площадью 0,06 и 0,04 м<sup>2</sup>, на рыхлых грунтах – ручным дночерпателем площадью 0,04 м<sup>2</sup>. Моллюсков или фиксировали 4 % раствором нейтрализованного формалина (в основном), а затем промывали в лабораторных условиях через сито размером ячеей 0,5 мм или сразу смотрели живые особи под биноклем. Взвешивали на торсионных весах с

точностью до 0,001 г. Затем рассчитывали численность (N) и биомассу (B) на м<sup>2</sup>. Измеряли размер (высоту) раковины моллюсков с помощью окуляр-микрометра или штангенциркуля в мм. Идентификацию видов проводили по [5, 6]. Современные названия сверяли с Мировым реестром морских видов World Register of Marine Species – WoRMS ([www.marinespecies.org](http://www.marinespecies.org)) [7].

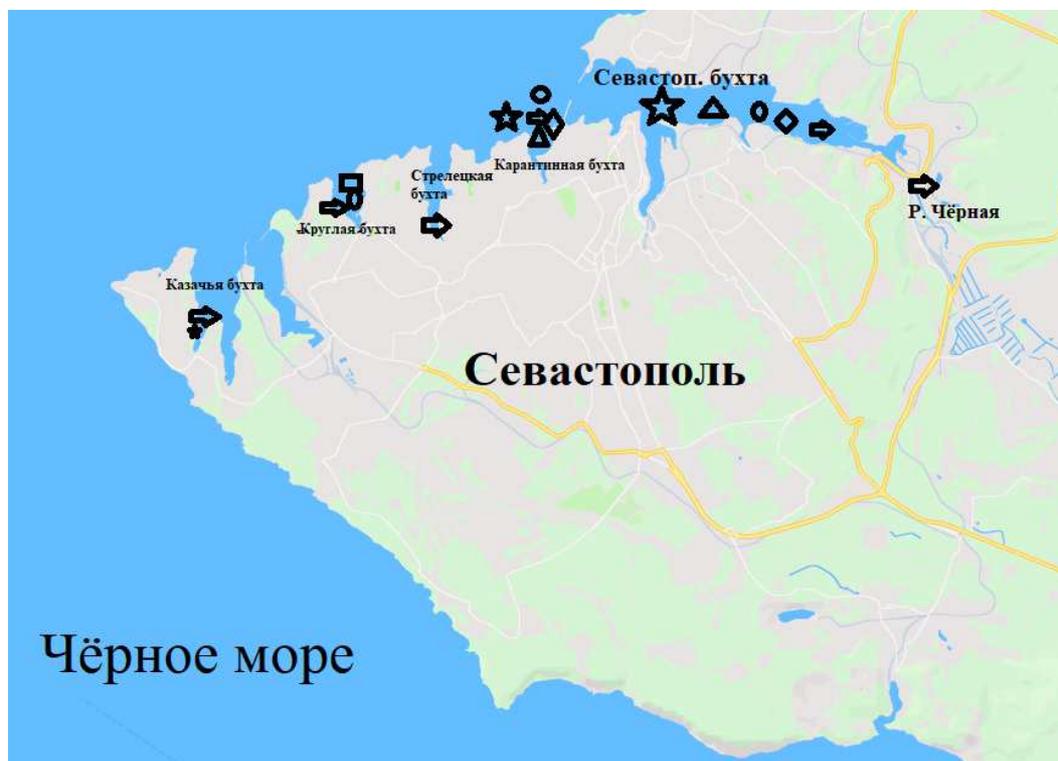


Рис. 2. Распределение разных видов Pyramidellidae у побережья Севастополя по собственным данным (2000–2020 гг.).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В наших пробах встречено 6 видов, относящихся к 5 родам семейства Pyramidellidae (табл. 1).

Различные виды представлены и распространены неравномерно. Некоторые виды Pyramidellidae мы в ряде районов отметили первый раз. Так, вид *P. interstincta* впервые отмечен в низовье и устье реки Черная (Юго-Западный Крым) в 2019–2020 гг., в заливе Донузлав (Западный Крым) в песчаном биотопе в августе 2020 г. и на валунах в районе Утриша (побережье Кавказа) в сентябре 2017 г. Другой вид этого рода, *P. indistincta*, был обнаружен на моле в вершине Севастопольской бухты (район Инкермана) в январе 2007 г. Ранее он не отмечался в данной крупнейшей бухте Юго-Западного Крыма.

Таблица 1

**Распределение и количественное развитие некоторых видов Ruggidellidae у побережья Крыма и Кавказа в зависимости от экологических факторов (N-численность; В-биомасса)**

Вид	Район	Субстрат	Сезон	Глубина, м	N, экз. м <sup>-2</sup>	В, г м <sup>-2</sup>	Размер, мм
<i>Ebala pointelli</i> De Follin, 1868	Кар. зал.	Ил	лето	0,4-0,5	25	0,025	-
	Сев. б.	Песок	зима	1-2	23-34	0,025-0,1	-
	Кар. б.	ил	лето	35	кач	-	-
	Круглая	песок	зима	5	10	-	-
	Ласпи	песок	лето	6,5	25	0,025	-
<i>Odostomia eulimoides</i> , Hanley, 1844	Тархан.	скалы	лето	1-2	25	0,03	-
	Сев. б.	мол	лето	2	25	-	-
	Сев. б.	набер.	осень	0,1	33	0,015	-
	Кар. б.	ферма	осень	0	22	-	-
	Кар. б.	ферма	лето	5	11	-	-
	Кар. б.	тетрапод	лето	0,5	25	0,05	-
	Ласпи	пирс	осень	0-2	7-40	0,008-0,04	1,3-1,5
	Ласпи	пирс	зима	0-2	20-60	0,02-0,16	1,3-2,2
	Ласпи	пирс	лето	0-2	3-12	0,1	1,5
	Алупка	пирс	лето	0-2	25-125	0,05-0,125	-
	Мартъян	валуны	лето	0-2,5	50-575	0,05-0,575	-
	Карадаг	пирс	осень	0-3	21-390	0,23-0,39	-
	Карадаг	пирс	лето	0-3	10-120	0,1-0,2	-
	Карадаг	скалы	лето	0-15	13-475	0,02-0,05	-
	Утриш	валуны	осень	0-2	25	0,025	-
<i>Parthenina indistincta</i> (Montagu, 1838)	Тархан.	скалы	лето	0-2	25-50	0,03-0,05	-
	Сев. б.	песок	лето	1-2	25	0,025	1,5
	Сев. б.	песок	зима	1-2	25	0,025	-
	Сев. б.	мол	зима	0	50	0,1	-
	Кар. б.	тетрапод	лето	1	кач.	-	1,0
	Кар. б.	ферма	зима	0-5	1-8	-	-
	Кар. б.	ферма	весна	0	21	-	-
	Кар. б.	ферма	лето	0-3	5-8	-	-
	Кар. б.	песок	лето	30	кач	-	2,2
	Ласпи	пирс	зима	0	3-20	0,02-0,1	-
	Ласпи	пирс	лето	0	2	0,1	1,5
	Ласпи	пирс	осень	0-3	7-40	0,01-0,7	-
	Карадаг	пирс	весна	0	2	0,1	1,3
	Карадаг	пирс	лето	0-3	10-20	0,1	-
	Карадаг	скалы	лето	1-15	25-250	0,025-0,25	1,5-4,0
Утриш	валуны	осень	1	25	0,025	1,0	

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7	8
<i>P. interstincta</i> (J. Adams, 1797)	Тархан.	скалы	лето	0-2	25-100	0,03-0,1	-
	Донузлав	песок	лето	1,5-2	50	0,025	1,0
	Сев. б.	песок	осень	1-2	25-75	0,025-0,08	-
	Сев. б.	песок	зима	1-2	50-100	0,025-0,05	-
	Устье и	ил	весна	0,1	25-50	0,025-0,05	1,0-1,5
	низовье	ил	лето	0,1	25	0,025	-
	р. Черная	ил	зима	0,1	25	0,025	2,0
	Кар. б.	ферма	зима	5	7	-	-
	Кар. б.	ферма	лето	3	5	-	3,0
	Стрел.	песок	осень	0-1	22	0,02	-
	Круглая	песок	осень	-	25	0,025	-
	Каз. б.	песок	зима	0,1	13	-	3,9
	Ласпи	пирс	осень	0-0,5	10	0,01	-
	Ласпи	песок	лето	1,5-9	25	0,025	-
	Карадаг	пирс	осень	0-3	10	0,1	1,0
	Карадаг	пирс	лето	0-3	280	-	1,0
Утриш	валуны	осень	1	25	0,025	-	
Казантип	скалы	лето	1	25	0,01	-	
<i>Spiralinella incerta</i> Milaschewitsch, 1916	Кар. зал.	ил	лето	1	кач.	-	-
	Карадаг	пирс	лето	0-3	10	0,1	-
	Карадаг	скалы	лето	15	100	0,1	1,6-2,1
<i>Turbonilla acuta</i> Donovan, 1804	Круглая	песок	зима	3	10	-	-
	Кар. б.	ферма	весна	0	8	-	-
	Сев. б.	песок	зима	10	25	0,05	-
	Каз. б.	песок	весна	0,1	25	-	-
	Ласпи	песок	лето	1,5	25	0,025	-

Уточнены границы вертикального распределения некоторых видов, относящихся к семейству Pyramidellidae. Так, расширен вертикальный диапазон обитания *P. interstincta*. По [5], данный вид встречался только на глубине 6–80 м. По нашим многочисленным данным [8–13] *P. interstincta* отмечена с глубины 0,1 м в различных районах и биотопах в разные сезоны и годы. Вид *P. indistincta* указывали только для глубин до 10 м [5, 6], нами он обнаружен на отметке 15 м на скале Маяк в акватории Карадага летом 2004 г. [14] и на 30 м на рыхлых грунтах в районе Карантинной бухты летом 2002 г. Моллюск *T. acuta* был указан для глубин от 15 до 35 м [5, 6], нами он отмечен также на 0 м на мидийной ферме в бухте Карантинная весной 2004 г. [15]. Таким образом, вертикальный диапазон обитания *T. acuta* шире, чем считалось ранее, и составляет от 0 до 35 м.

В Мировом океане представители семейства Pyramidellidae являются эктопаразитами различных групп донных беспозвоночных: трубчатых Polychaeta, Bivalvia, Gastropoda, Coelenterata [16–22]. В Черном море известно только, что один из видов Pyramidellidae, *O. eulimoides*, был найден у мидии *Mytilus galloprovincialis*

Lamarck, 1819 [23, 24]. Хозяева других видов Pyramidellidae, в частности *P. indistincta*, в Черном море неизвестны. Так как на твердых субстратах, обильно заселенных митидами, пирамиделлиды (партенина и одостомия) обнаружены в достаточно больших количествах, мы сопоставили численность двух относительно многочисленных видов Pyramidellidae – *P. indistincta* и *O. eulimoides* с численностью их потенциальных хозяев – митирид (*M. galloprovincialis* и *Mytilaster lineatus* (Gmelin, 1791)). Данные по численности Pyramidellidae и Mytilidae на искусственных рифах в акватории Карадагского природного заповедника в 2002–2003 гг. показали некоторое сходство в сезонном изменении обилия сравниваемых видов моллюсков: *P. indistincta* с *M. galloprovincialis* (рис. 3), а *O. eulimoides* – с *M. lineatus* (рис. 4).

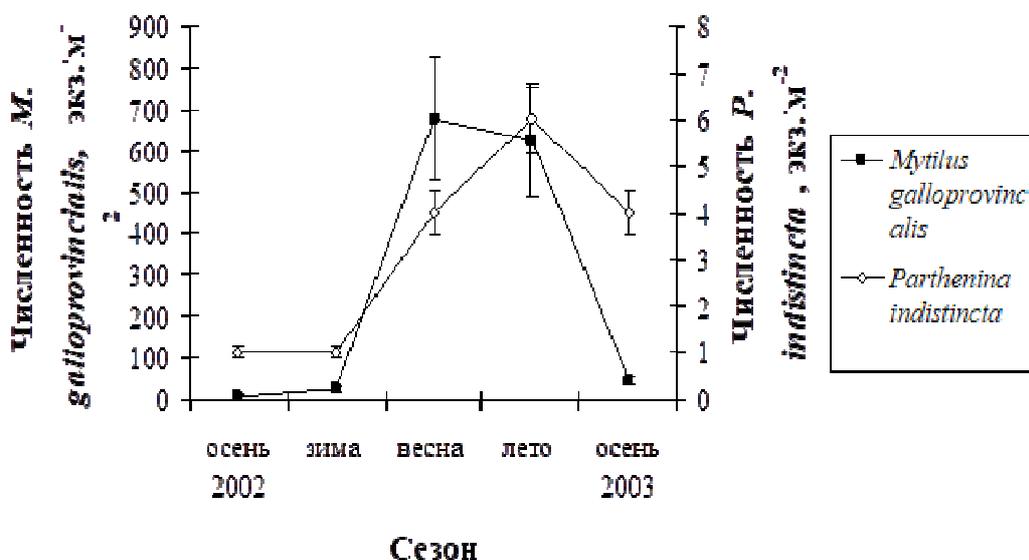


Рис. 3. Численность *Parthenina indistincta* и *Mytilus galloprovincialis* в разные сезоны в районе Карадага (искусственные рифы).

Между сезонными изменениями обилия партенины и мидии наблюдается определенное сходство (с повышением численности *M. galloprovincialis* увеличивается данный показатель *P. indistincta* и наоборот). Это подтверждает высокий коэффициент корреляции между обилием *P. indistincta* и *M. galloprovincialis*, который, в целом по сезонам, составил 0,76. Таким образом, можно предположить наличие функциональной зависимости между величинами численности сравниваемых видов. Эта связь наблюдалась во все сезоны, но особенно осенью 2002 г., зимой и весной 2003 г.; несколько меньше она летом и осенью 2003 г.

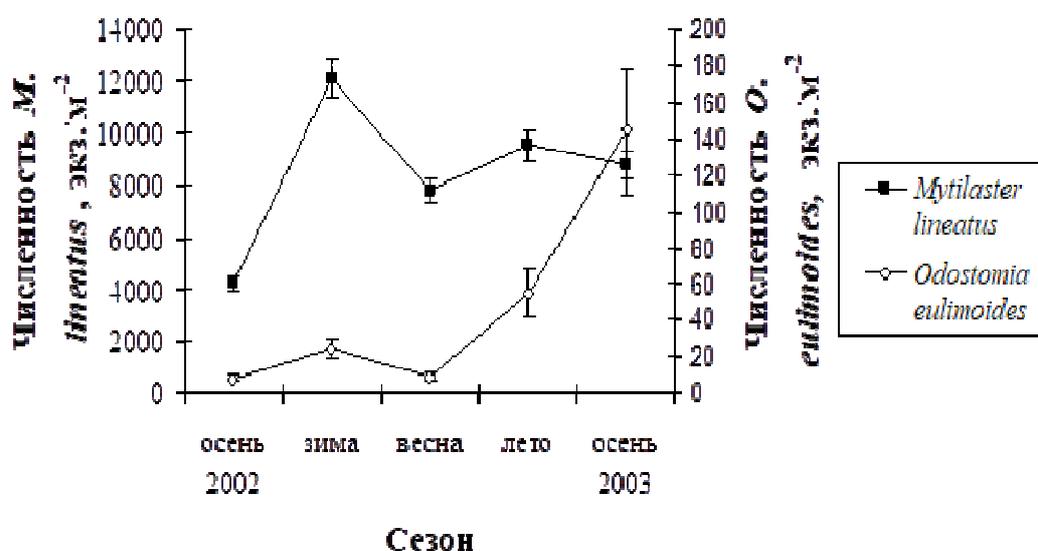


Рис. 4. Численность *Odostomia eulimoides* и *Mytilaster lineatus* в разные сезоны у побережья Карадага на искусственных рифах.

Сезонные изменения обилия одостомии и митилястера также являются в некоторой мере схожими – с увеличением обилия *M. lineatus* несколько увеличивался данный показатель *O. eulimoides* и наоборот (кроме осени 2003 г.). Более того, в июле 2004 г. на скале Маяк в этом же районе на глубине 15 м коэффициент корреляции между двумя сравниваемыми видами составил 0,8. Можно предположить, что у вида-эктопаразита *O. eulimoides* в Черном море по меньшей мере, два хозяина – двустворчатые моллюски *M. galloprovincialis* [23, 24] и *M. lineatus*.

Таким образом, в акватории Карадагского природного заповедника на твердых поверхностях отмечена определенная связь между численностью партенины и мидии с одной стороны, и одостомии и митилястера – с другой, причем у первой пары «эктопаразит-хозяин» она является более явной.

В бухте Карантинная на мидийных коллекторах в 2000–2001 гг. также отмечена некоторая зависимость между обилием партенины и мидии. Коэффициент корреляции между ними составил 0,54. В 2003–2004 гг. здесь же было проведено сравнение обилия *P. indistincta* и *M. galloprovincialis*. Обнаружена некоторая зависимость между численностью партенины и численностью мидии. Коэффициент корреляции составил 0,6, что подтверждает эту зависимость. Более всего она выражена в ноябре, апреле и июне.

В целом, можно сделать вывод, что *P. indistincta* в Черном море, вероятнее всего, в качестве хозяев предпочитает *M. galloprovincialis*, а одостомия – как *M. galloprovincialis*, так и *M. lineatus*. Это подтверждают наши наблюдения в лабораторных условиях – пирамиделлиды, после их помещения в один аквариум с

митилидами, сразу начинали двигаться в их сторону, располагаясь затем на створках митилястеров и мидий, – месте их обычной локализации у этих моллюсков.

У некоторых видов Pygamidellidae, в частности, *P. indistincta*, неизвестны сроки размножения. В связи с этим, проанализированы сезонные изменения обилия *P. indistincta* в разные годы на различных субстратах в двух районах (на коллекторах мидийной фермы в бухте Карантинная и на пирсе в районе Карадага), а также рассчитаны средние значения численности этого вида у побережья Крыма (рис. 5).

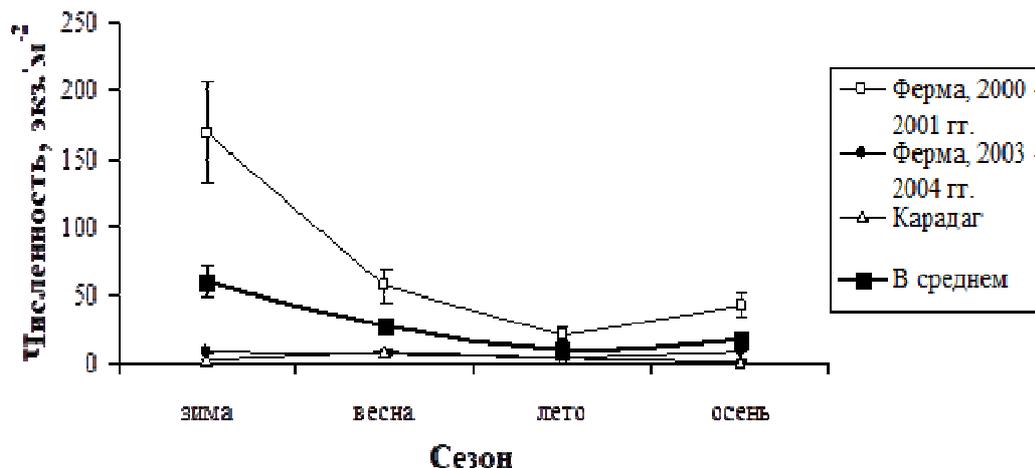


Рис. 5. Сезонная динамика численности *P. indistincta* у побережья Крыма.

Приведенные на данном рисунке графики иллюстрируют наличие летнего минимума численности вида как на мидийных коллекторах, так и на пирсе. В остальные сезоны наблюдаются явные или небольшие максимумы обилия партенины. Наиболее четкие сезонные изменения численности исследуемого вида отмечены на мидийных коллекторах в бухте Карантинная в 2000–2001 гг., когда явно выделяется зимний максимум (в феврале). В данном биотопе в 2003–2004 гг. *P. indistincta* достигла наибольшей численности также зимой (в декабре), хотя зависимость обилия вида от сезонов здесь менее заметная. Возможно, это связано с меньшим вертикальным диапазоном: в 2000–2001 гг. пробы отобраны на глубинах 0–11 м, в 2003–2004 гг. только на 0–5 м. На Карадаге, на пирсе в 2002–2003 гг. наибольшая численность партенины отмечена весной. Но по средним значениям этого показателя видно, что, в целом у побережья Крыма *P. indistincta* достигла максимума своего обилия в зимний сезон. Это показывает важность сезонных исследований, тогда как большинство работ проводится в летний период. С осторожностью можно предположить, что *P. indistincta* размножается в осенний сезон и зимой у нее завершается оседание личинок, однако, для более точного утверждения об этом нужны дальнейшие исследования сезонных изменений

численности, размеров, нахождения в планктоне, а еще лучше – гонад моллюсков данного вида.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Уточнены (расширены) ареалы и вертикальные диапазоны обитания некоторых видов Pyramidellidae у берегов Крыма и Кавказа: *Parthenina indistincta* впервые отмечена нами в Севастопольской бухте, а *P. interstincta* – в низовье и устье реки Черная, в заливе Донузлав, а также в районе Утриша. Моллюск *P. indistincta* обитает на глубинах от 0 до 30 м, *P. interstincta* – от 0,1 до 80 м, *Turbonilla acuta* от 0 до 35 м.
2. Предположено, что эктопаразиты *Odostomia eulimoides* и *P. indistincta* в Черном море, вероятнее всего, в качестве хозяев предпочитают Mutilidae: *P. indistincta* – *Mytilus galloprovincialis*, а *O. eulimoides* – как *M. galloprovincialis*, так и *Mytilaster lineatus*.
3. В сезонной динамике численности *P. indistincta* в акваториях Карантинной бухты и у Карадага отмечен зимний максимум и летний минимум.

Статья подготовлена в рамках Государственного задания ФГБУН ФИЦ ИнБЮМ «Закономерности формирования и антропогенная трансформация биоразнообразия и биоресурсов Азово-Черноморского бассейна и других районов Мирового океана», тема № 0556-2021-0002, номер гос. регистрации 121030100028-0.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает Благодарность к. б. н., с. н. с. отдела аквакультуры и морской фармакологии ФГБУН ФИЦ ИнБЮМ В. А. Гринцову за помощь в отборе проб.

#### Список литературы

1. Анистратенко В. В. Моллюски Азовского моря / В. В. Анистратенко, И. А. Халиман, О. Ю. Анистратенко. – Киев: Наукова думка, 2011. – 172 с.
2. Wilke T. The family Pyramidellidae (Heterostropha, Gastropoda) in the Black Sea / T. Wilke, J. J. Van Aartsen // Basteria. – 1998. – Vol. 62 (1–2). – P. 7–24.
3. Макаров М. В. Некоторые данные о распределении Pyramidellidae (Gastropoda, Mollusca) в акватории Крымского побережья Черного моря / М. В. Макаров // Биоразнообразие. Экология. Эволюция. Адаптация (Одесса, 28 марта-1 апреля 2003 г.): материалы юбилейной научной конфер. студентов, аспирантов и мол. ученых, посвященных 180-летию со дня рождения Л. С. Ценковского. – С. 89.
4. Makarov M. V. The correlation of the Pyramidellidae (Gastropoda, Mollusca) with their potential hosts / M. V. Makarov // Biodiversity. Ecology. Adaptation. Evolution (Odessa, 15–18.05.2007), Proceedings of the III International Young scientists conference dedicated to 100th anniversary of birth of famous ukrainian lichenologist Maria Makarevich. – P. 255.
5. Голиков А. Н. Определитель фауны Черного и Азовского морей. / А. Н. Голиков, Я. И. Старобогатов // Т. 3: Брюхоногие моллюски – К., Наукова думка. – 1972. – С. 65–166.
6. Чухчин В. Д. Экология брюхоногих моллюсков Черного моря / В. Д. Чухчин. – Киев: Наукова думка, 1984. – 176 с.
7. World register of marine species. URL: <http://www.marinespecies.org>. [Accessed on 10.11.2021].

8. Макаров М. В. Таксоцен Gastropoda на рыхлых грунтах и в эпифитоне макрофитов залива Донузлав (Чёрное море, Крым) / М. В. Макаров // Изучение водных и наземных экосистем: история и современность (Севастополь, 13–18 сентября 2021 г.): тезисы докладов международной научной конференции, посвящённой 150-летию Севастопольской биологической станции — Института биологии южных морей имени А. О. Ковалевского и 45-летию НИС «Профессор Водяницкий». – С. 133–134.
9. Макаров М. В. Структура таксоцены Mollusca на естественных твёрдых субстратах в акваториях охраняемых районов Крыма / М. В. Макаров, М. А. Ковалева // Экосистемы. – 2017. – Вып. 9. – С. 20–24.
10. Макаров М. В. Mollusca на искусственных твердых субстратах вдоль побережья Крыма (Черное море) / М. В. Макаров // Ученые записки Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2018. – Т. 4 (70), № 1. – С. 55–62.
11. Макаров М. В. Таксоцен Mollusca обрастаний естественных твердых субстратов в акватории Государственного Природного заповедника Утриш (Черное море) / М. В. Макаров, М. А. Ковалева // Биологическое разнообразие Кавказа и юга России (Махачкала, 6–8 ноября 2018 г.): материалы XX Юбилейной Международной научной конференции посвященной памяти выдающегося ученого, доктора биологических наук, Заслуженного деятеля науки РД и РФ, академика Российской экологической академии Гайирберга Магомедовича Абдурахманова. – С. 594–596.
12. Макаров М. В. Современное состояние малакофауны рыхлых грунтов в вершинной части бухты Казачьей (Черное море) / М. В. Макаров // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон моря. – 2020. – Вып. 1. – С. 119–130.
13. Макаров М. В. Сезонная изменчивость таксоцены Mollusca рыхлых грунтов контактной зоны реки Черной и Севастопольской бухты (Юго-Западный Крым) / М. В. Макаров // Экосистемы. – Вып. 21. – 2020. – С. 109–118. DOI 10.37279/2414-4738-2020-21-109-118.
14. Макаров М. В. Gastropoda на каменистых россыпях и скалах в акватории Крыма (Черное море) / М. В. Макаров // Современные проблемы гидробиологии: перспективы, пути и методы исследований (Херсон, 24–27 июля 2006 г.): сборник трудов междунар. науч. конф. – С. 117–125.
15. Макаров М. В. Сезонная динамика Gastropoda на мидийной ферме в бухте Карантинная (Чёрное море) / М. В. Макаров // Экология моря. – 2005. – Вып. 68. – С. 53–56.
16. Cheng T. C. Marine mollusks as hosts for symbioses. With a review of known parasites of commercially important species / T. C. Cheng // Adv. Mar. Biol. – 1967. – Vol. 5. – P. 1–424.
17. Cumming R. L. Population dynamics of *Turbonilla* sp. (Pyramidellidae, Opisthobranchia), an ectoparasite of giant clams in mariculture / R. L. Cumming, R. A. Alford // J. Mar. Biol. Ass. UK. – 1994. – No. 183 – PP. 91–111.
18. Fretter V. The structure and mode of life of the pyramidellidae, parasitic opisthobranches / V. Fretter // J. Mar. Biol. Ass. UK. – 1949. – Vol. XXVIII, No. 2 – P. 493–532.
19. Fretter V. *Turbonilla elegantissima* (Montagu), a parasitic opisthobranch / V. Fretter // J. Mar. Biol. Ass. UK. – 1951. – Vol. XXX, No. 1 – PP. 37–47.
20. Ghiselin M. T. Reproductive function and the phylogeny of opisthobranch gastropods / M. T. Ghiselin // Malacologia, 1966. – Vol. 3. – PP. 327–378.
21. Thompson T. E. Biology of opisthobranch mollusks / T. E. Thompson – London: Brit Soc. Brit. Mus. Nat. Hist. – 1976. – Vol. 1. – 207 p.
22. White M. Aspects of reproduction, larval development and morphometrics in the pyramidellid *Boonea impressa* (= *Odostomia impressa*) (Gastropoda, Opisthobranchia) / M. White, C. Kitting, E. Powell // Veliger – 1985. – Vol. 28. – PP. 37–51.
23. Гаевская А. В. Симбионты, обрастатели и вредители черноморских мидий: (Справочник) / А. В. Гаевская, А. И. Солонченко, Т. М. Лобанова – Симферополь: Редотдел Крымского облполиграфиздата, 1990. – 20 с.
24. Гаевская А. В. Паразиты, болезни и вредители мидий (*Mytilus*, *Mytilidae*). Т. II: Моллюски (*Mollusca*) // А. В. Гаевская – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2006. – 100 с.

**ECOLOGICAL FEATURES OF PYRAMIDELLIDAE (GASTROPODA, MOLLUSCA) NEAR THE COASTS OF THE CRIMEA AND THE CAUCASUS**

*Makarov M. V.*

*Institute of biology of the southern seas, Sevastopol, Russia  
E-mail: mihaliksevast@inbox.ru*

The horizontal (along the coast of the Crimea and partly the Caucasus) and vertical distributions of pyramidellids, their association with certain types of substrates, seasonal dynamics of abundance, size (shell height) of mollusks, and the ratio of the abundance of some Pyramidellidae species to the abundance of their possible hosts were analyzed. Pyramidellidae in the whole are relatively poorly understood in Azov-Black Seas basins.

Different species were represented and distributed unevenly. We have noted some species of Pyramidellidae for the first time in a some of places. Thus, the species *Parthenina interstincta* was first recorded in the lower reaches and the mouth of the Chernaya River (South-West Crimea) in 2019–2020, as well as in the Donuzlav gulf (West Crimea) in the sandy biotope in the summer of 2020 and so in boulders near Utrish (coast of Caucasus) in 2017. Another species of this genus, *P. indistincta*, was found on hard artificial substrate in head of the Sevastopol Bay (near Inkerman) in January 2007. It was not previously recorded in this largest bay of Southwestern Crimea.

The boundaries of the vertical distribution of some species belonging to the Pyramidellidae family have been clarified. The vertical range of *P. interstincta* has been expanded. Earlier, this species was found only at a depth of 6–80 m. According to our numerous data *P. interstincta* was recorded from a depth of 0,1 m in different places, biotopes, seasons and years. Another species of this genus *P. indistincta* was indicated only for depths up to 10 m, but we found it so at depth of 15 m on the rock Mayak in the water area of Karadag (South-East Crimea) in the summer of 2004 and at 30 m on silt bottom near Karantinnaya Bay (Sevastopol region) in the summer of 2002. The mollusk *Turbonilla acuta* was indicated for depths from 15 to 35 m, we also noted it at 0 m on a mussel farm in Karantinnaya Bay in the spring of 2004. So, mollusk *P. indistincta* lives at depths from 0 to 30 m, *P. interstincta* – from 0,1 to 80 m and *T. acuta* from 0 to 35 m.

In the World Ocean, species of Pyramidellidae family are ectoparasites of various groups of benthic invertebrates so as tubular Polychaeta, Bivalvia, Gastropoda, Coelenterata. However, in the Black Sea hosts of pyramidellids almost was unknown. It was only known that one of the Pyramidellidae species, *Odostomia eulimoides*, was found in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. The hosts of other Pyramidellidae species, in particular *P. indistincta*, were unknown. Data on the abundance of some species Pyramidellidae and Mytilidae on artificial reefs in the water area of the Karadag in 2002–2003 showed some similarity in the seasonal variation of abundance of the compared species of mollusks: *P. indistincta* with *M. galloprovincialis*, and *O. eulimoides* with *Mytilaster lineatus*. In the Karantinnaya Bay on mussel collectors in 2000–2001 and 2003–2004 also noted some relationship between the abundance of parthenina and mussel. So, perhaps, ectoparasites *O. eulimoides* in the Black Sea prefer bivalvies

*M. galloprovincialis* and *M. lineatus* as hosts, and *P. indistincta* prefer *M. galloprovincialis*.

In the seasonal dynamics of *P. indistincta* abundance on mussel farms in the Karantinnaya Bay and on pier near Karadag, a winter maximum and a summer minimum were noted. This shows the importance of seasonal research, while most of the investigations was done in summer periods. It can be assumed with caution that *P. indistincta* reproduces in autumn. However, for confirm of it, further research is needed on the seasonal changes of abundance, size, presence in plankton and gonads of this species of mollusks.

**Keywords:** distribution, substrate, abundance, biomass, depth, size, dynamics.

### References

1. Anistratenko V. V., Haliman I. A., Anistratenko O. Yu. *Mollusks of Sea of Azov*, 172 p. (Kiev: Naukova dumka, 2011). (In Russ.).
2. Wilke T., Van Aartsen J. J. The family Pyramidellidae (Heterostropha, Gastropoda) in the Black Sea. *Basteria*. **62 (1-2)**, 7 (1998).
3. Makarov M. V. Some data on the distribution of Pyramidellidae (Gastropoda, Mollusca) in the Crimean Black Sea coas, *Abstracts of the jubilee scientific conference students, postgraduates and young scientists "Biodiversity. Ecology. Evolution. Adaptation"*, dedicated to the 180th anniversary of the birth of L.S. Tsenkovsky (Odessa, 2003), p. 89.
4. Makarov M. V. The correlation of the Pyramidellidae (Gastropoda, Mollusca) with their potential hosts, *Abstracts of the III International young scientists conference "Biodiversity. Ecology. Evolution. Adaptation"*, dedicated to the 100th anniversary of birth of famous ukrainian lichenologist Maria Makarevich (Odessa, 2007), p. 255.
5. Golikov A. N., Starobogatov Ya. I. Gastropod Mollusks. *The definition of fauna of the Black and Azov Seas*. **3**, 65 (1972).
6. Chukhchin V. D. *Ecology of Gastropod Mollusks of the Black Sea*, 176 (Kiev: Naukova Dumka, 1984). (In Russ.).
7. World register of marine species. URL: <http://www.marinespecies.org>. [Accessed on 10.11.2021].
8. Makarov M. V. The taxon of Gastropoda on soft sediments and in epiphyton of macrophytes in Donuzlav Gulf (the Black Sea, Crimea), *Abstracts of the international scientific conference, dedicated 150th Sevastopol biological station-Institute of Biology of the Sothern Seas and 45th V/S "Professor Vodyanickiy"* (Sevastopol, 2021), p. 133.
9. Makarov M. V., Kovaleva M. A. The structure of taxon Mollusca on natural hard substrates in water areas of in protected areas of Crimea. *Ecosystems*. **9**, 20 (2017).
10. Makarov M. V. The Mollusca on artificial hard substrates along the Crimean coast (the Black Sea). *Scientific Notes of V. I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*. **4 (70)**, **1**, 55 (2018).
11. Makarov M. V., Kovaleva M. A. The taxon of Mollusca fouling of natural hard substrates in the water area of the Utrish State Nature Reserve (the Black Sea), *Abstracts XXth international scientific conference, dedicated memory famous scientist, doctor of science, Honored Scientist of the Republic of Dagestan and the Russian Federation, Academician of the Russian Ecological Academy Gayirberg Magomedovich Abdurakhmanov* (Mahachkala, 2018), p. 594.
12. Makarov M. V. The current state of malacofauna at soft bottoms in the Kazachya Bay head (the Black Sea). *Ecological safety of coastal and shelf zones*. **1**, 119 (2020).
13. Makarov M. V. Seasonal changes of mollusks taxocene on soft sediments in the river-sea contact zone at the mouth of the Chernaya river and corner part of the Sevastopol Bay (South-Western Crimea). *Ecosystems*. **21**, 109 (2020). DOI 10.37279/2414-4738-2020-21-109-118.
14. Makarov M. V. Gastropoda on stony placers and rocks in the Crimea (the Black Sea), *Proceedings of international scientific conference: Modern problems of hydrobiology: perspective, ways and methods of investigations* (Kherson, 2006), p. 117.

15. Makarov M. V. The seasonal dynamics of Gastropoda on mussel farm in Karantinnaya Bay (the Black Sea). *Ecology of the sea*. **68**, 53 (2005).
16. Cheng T. C. Marine mollusks as hosts for symbioses. With a review of known parasites of commercially important species. *Adv. Mar. Biol.* **5**, 1 (1967).
17. Cumming R. L. Population dynamics of *Turbonilla* sp. (Pyramidellidae, Opisthobranchia), an ectoparasite of giant clams in mariculture. *J. Mar. Biol. Ass. UK*. **183**, 91 (1994).
18. Fretter V. The structure and mode of life of the pyramidellidae, parasitic opisthobranchs. *J. Mar. Biol. Ass. UK*. **XXVIII** (2), 493 (1949).
19. Fretter V. *Turbonilla elegantissima* (Montagu), a parasitic opisthobranch. *J. Mar. Biol. Ass. UK*. **XXX** (1), 37 (1951).
20. Ghiselin M. T. Reproductive function and the phylogeny of opisthobranch gastropods. *Malacologia*, **3**, 327 (1966).
21. Thompson T. E. Biology of opisthobranch mollusks. *Brit Soc. Brit. Mus. Nat. Hist.* **1**, 207 (1976).
22. White M., Kitting C., Powell E. Aspects of reproduction, larval development and morphometrics in the pyramidellids *Boonea impressa* (= *Odostomia impressa*) (Gastropoda, Opisthobranchia). *Veliger*. **28**, 37 (1985).
23. Gayevskaya A. V., Solonchenko A. I., Lobanova T. M. *Symbionts, fouling and pests of the Black Sea mussels*: (Reference), 20 p. (Simferopol, 1990). (In Russ.).
24. Gayevskaya A. V. *Parasites, diseases and pests of mussels (Mytilus, Mytilidae)*. II: Mollusca, 110 p. (Sevastopol: ECOSY-Hydrofizika, 2006). (In Russ.).

**УДК [574.587:59]-044.7/.8(282.247.345.05)**

**ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МАКРОЗООБЕНТОСЕ  
УСТЬЯ РЕКИ ЧЕРНОЙ И ВЕРШИНЫ СЕВАСТОПОЛЬСКОЙ БУХТЫ  
(ЮГО-ЗАПАДНЫЙ КРЫМ)**

***Макаров М. В., Витер Т. В.***

***ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН»,  
Севастополь, Россия  
E-mail: mihaliksevast@inbox.ru***

Впервые представлены данные о пространственном распределении макрозообентоса одновременно в устье реки Черной и вершине Севастопольской бухты в зависимости от солёности и во временном (сезонном) аспекте. Всего обнаружено 38 видов донной макрофауны, средняя численность составила 1376 экз. м<sup>-2</sup>, средняя биомасса 55 г м<sup>-2</sup>. По численности и встречаемости преобладает брюхоногий моллюск *Hydrobia acuta*, по биомассе двустворчатый моллюск *Cerastoderma glaucum*. С увеличением солёности количество видов и их численность увеличиваются, но биомасса уменьшается. Максимальные численность и биомасса приходятся на июнь и сентябрь соответственно, минимальные – наоборот (численность на сентябрь, а биомасса на июнь). Выделены сообщества моллюсков *Cerastoderma glaucum*–*Abra segmentum*, *Cerastoderma glaucum*, *Mytilaster lineatus*. Трофическая структура сообществ разнообразна и включает в себя 8 групп.

**Ключевые слова:** распределение, численность, биомасса, встречаемость, солёность, донная макрофауна, сообщества, трофическая структура, сезонная динамика,

**ВВЕДЕНИЕ**

Устье реки интересно тем, что в нем происходит смешение речных (пресных) и морских (солёных) вод. Если река в море впадает плавно, то создаются специфические эстуарные условия, где перемешивание речных и морских вод, а значит, и изменения солёности, происходят постепенно. Соответственно меняется и фауна, в частности, макрозообентос. В Юго-Западном Крыму (район Севастополя) в месте впадения реки Черная в вершинную часть Севастопольской бухты сформировался единственный на Крымском побережье Черного моря естественный эстуарий со специфическими условиями, прежде всего, гидрохимическими и своеобразным экотонном – переходом между биотами реки и моря. Эстуарий – полужамкнутый водный объект, являющийся частью устьевой области реки и характеризующийся активными процессами смешения речных и морских вод [1]. Севастопольская бухта является крупнейшей в Юго-Западном Крыму. Ее длина составляет 7,5 км, максимальная ширина 1 км. Бухта занимает площадь 7,96 км<sup>2</sup>, максимальная глубина составляет 20 м. Река Черная – единственный постоянный водоток для бухты, основной океанографический фактор, влияющий на ее экологическое состояние [2]. Данная река является одной из наиболее многоводных

рек Крыма и в отличие от многих других рек полуострова практически никогда не пересыхает. Среднемесячный расход воды составляет в ней 1,82–1,94 м<sup>3</sup>/с [3, 4]. Протяженность реки 41 км, площадь водосбора 436 км<sup>2</sup>. Она относится к типу рек с паводковым режимом. Основная часть стока (до 80 %) приходится на зиму и весну. Севастопольская бухта открыта только западным ветрам, которые могут образовывать сильные нагонные течения. Таким образом, степень ее водообмена определяется сгонно-нагонными явлениями и речным стоком, опресняющим вершину бухты [5]. Фактически морское устье реки Черной является Инкерманским лиманом – затопленной частью Инкерманской долины длиной 600 м. Его происхождение можно считать лиманно-бухтовым или бухтовым, антропогенно-измененным [6]. Исследования всего макрозообентоса в устье реки Черная ранее не проводили, тем более, в сезонном аспекте. Были изучения только одной группы бентоса – Mollusca [7]. В вершине Севастопольской бухты макрозообентос прежде (в июле 2001 г. и мае 2010 г.) исследовали, но на больших глубинах и в основном единоразово [8, 9]. В сезонном отношении донную макрофауну в кутовой части бухты немного изучали лишь в 2015–2016 гг., но на глубинах 2,5–8 м [10], а также отдельно моллюсков в 2006–2007 гг. и 2018–2019 гг. [7, 11]. Одновременных исследований макрозообентоса в устье реки Черная и вершине Севастопольской бухты до настоящего времени в сезонном аспекте и в целом не проводили.

Цель работы – исследование пространственных (от реки к бухте) и временных (по сезонам) изменений в макрозообентосе устья реки Черная и вершины Севастопольской бухты.

Задачи: определить видовой состав, рассчитать численность, биомассу и встречаемость макрозообентоса в данном районе; проанализировать распределение донной макрофауны от устья реки к вершине бухты по мере увеличения солености воды; изучить сезонную динамику численности и биомассы макрозообентоса; выделить сообщества, показать их выравненность и трофическую структуру.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Район отбора проб располагался в Юго-Западном Крыму в окрестностях города Севастополя, где река Черная впадает в Севастопольскую бухту (рис. 1).

Материал собирали ручным дночерпателем площадью 0,04 м<sup>2</sup> с ноября 2019 г. по сентябрь 2020 г. в районе устья реки Черной и вершины Севастопольской бухты с глубины 0,1 м на рыхлых грунтах с примесью камней на трех станциях в двух повторностях. Всего отобрано 24 количественные пробы (по 8 на каждой станции в разные месяцы). Станция 1 расположена в низовье реки Черной (44°35'59,9"N; 33°36'23,5"E). Грунт на ней илистый. Выражены сгонно-нагонные явления (примерно каждые 15 минут уровень воды в реке менялся – вода то наступала на берег, то отступала от него на несколько м). Станция 2 находится в морском устье данной реки, примерно в 400–500 м западнее станции 1, возле Инкерманского автомобильного моста (44°36'17,2"N; 33°36'12,1"E). Этот мост официально считается границей Инкерманского ковша Севастопольской бухты и реки Черной [12]. Субстрат на этой станции мелкопесчаный с небольшой примесью маленьких камней. Станция 3 локализована в вершине Севастопольской бухты (44°36'28,4"N;

33°35'53,5"E). Дно здесь песчано-каменистое. В лабораторных условиях грунт промывали через сито размером ячеей 0,5 мм и отбирали макрозообентос. Представителей Mollusca идентифицировали, считали и взвешивали сразу, Annelida и Arthropoda фиксировали 4 % раствором нейтрализованного формалина и 75 % спиртом соответственно. Их определение, подсчет и взвешивание происходило позднее. Макрозообентос взвешивали на торсионных весах с точностью до 0,001 г, потом рассчитывали численность и биомассу на м<sup>-2</sup>, а также встречаемость (%). Классификацию макрофауны приводили в соответствии с мировым реестром морских видов World Register of Marine Species (www.marinespecies.org) [13]. Представителей Oligochaeta, Platyhelminthes и Chironomidae до вида не определяли, в подсчетах они фигурируют как один вид. Некоторые ювенильные моллюски рода *Tritia*, не определенные нами до вида, относятся или к *Tritia neritea* или к *T. pellucida*, также встреченные в пробах, поэтому в общее количество видов они не входят. Температуру воды измеряли термометром, а соленость – соленомером. Сообщества выделяли по индексу функционального обилия в выражении:

$$\text{ИФО} = N^{0,25} \times B^{0,75}, \quad (1)$$

где N – численность вида, экз. м<sup>-2</sup>, B – биомасса вида, г м<sup>-2</sup> [14].

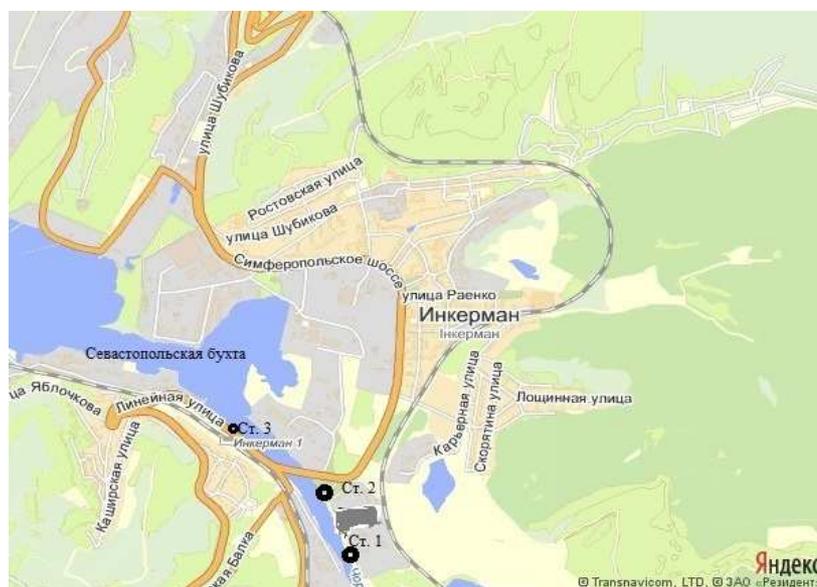


Рис. 1. Схема расположения станций отбора проб.

Для оценки выравненности видов в сообществах построены кривые доминирования-разнообразия, где ось абсцисс – ранжированный ряд от наиболее многочисленного вида к наименее многочисленному, а ось ординат – численность видов [15]. Оценку видового разнообразия проводили с помощью индекса Шеннона [16]. Расчет выполняли в приложении Diverse пакета PRIMER-5 (использован логарифм по основанию 2). Трофическую структуру макробентоса определяли по

**ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МАКРОЗООБЕНТОСЕ...**

[17–21]. Для оценки сложности трофической структуры сообществ рассчитан индекс однообразия пищевой структуры [18].

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Всего в период с ноября 2019 г. по сентябрь 2020 г. нами в исследованном районе обнаружено 38 видов макрозообентоса, относящихся к 5 типам: Cnidaria (1 вид), Platyhelminthes, Annelida (11 видов, из которых 10 видов Polychaeta, а также Oligochaeta), Mollusca (16 видов, из них 6 видов Bivalvia и 10 видов Gastropoda), Arthropoda (9 видов, среди них 8 видов Crustacea и 1 вид Insecta). По станциям они распределены неравномерно (табл. 1).

**Таблица 1**  
**Видовой состав, средняя численность (N, экз.·м<sup>-2</sup>), средняя биомасса (B, г·м<sup>-2</sup>) и встречаемость (P, %) донной макрофауны в устье реки Черной и вершине Севастопольской бухты**

Вид	Ст. 1			Ст. 2			Ст. 3		
	N	B	P	N	B	P	N	B	P
<b>CNIDARIA</b>									
<i>Actinia equina</i> (Linnaeus, 1758)	0	0	0	3	0,001	13	0	0	0
<b>PLATYHELMINTHES</b>									
<b>S</b>									
<b>ANNELIDA</b>									
<b>Polychaeta</b>									
<i>Alitta succinea</i> (Leuckart, 1847)	103	0,249	63	59	0,057	75	44	0,008	63
<i>Capitella capitata</i> (Fabricius, 1780)	131	0,002	63	72	0,002	63	13	0,001	63
<i>Exogone naidina</i> Örsted, 1845	0	0	0	0	0	0	6	0,001	13
<i>Heteromastus filiformis</i> (Claparède, 1864)	50	0,001	38	13	0,001	25	0	0	0
<i>Microspio mecznikowiana</i> (Claparède, 1869)	0	0	0	3	0,001	13	0	0	0
Nereidae Johnston, 1865	0	0	0	0	0	0	3	0,003	13
<i>Notomastus lineatus</i> Claparède, 1869	0	0	0	6	0,001	25	0	0	0
<i>Phyllodoce lineata</i> (Claparède, 1870)	0	0	0	0	0	0	3	0,001	13

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Spirorbis</i> sp.	0	0	0	9	0,001	25	3	0,001	13
<i>Syllis gracilis</i> Grube, 1840	0	0	0	41	0,001	13	6	0,001	13
Oligochaeta	16	0,001	25	0	0	0	0	0	0
MOLLUSCA									
Bivalvia									
<i>Abra segmentum</i> (Recluz, 1843)	138	13,134	75	259	13,081	63	41	1,278	38
<i>Anadara kagoshimensis</i> (Tokunaga, 1906)	0	0	0	9	0,609	25	0	0	0
<i>Cerastoderma glaucum</i> (Bruguere, 1789)	81	72,563	25	41	44,256	50	16	1,2	25
<i>Mytilaster lineatus</i> (Gmelin, 1791)	0	0	0	197	1,216	38	513	3,156	75
<i>Mytilus galloprovincialis</i> Lamarck, 1819	0	0	0	16	0,544	13	31	2,931	75
<i>Parvicardium exiguum</i> (Gmelin, 1791)	0	0	0	0	0	0	3	0,078	13
Gastropoda									
<i>Bela nebula</i> (Montagu, 1803)	0	0	0	0	0	0	3	0,005	13
<i>Bittium reticulatum</i> (da Costa, 1778)	0	0	0	0	0	0	84	0,981	75
<i>Limapontia capitata</i> (O. F. Muller, 1774)	0	0	0	6	0,006	25	0	0	0
<i>Hydrobia acuta</i> (Draparnaud, 1805)	169	0,363	75	534	1,375	88	734	1,67	88
<i>Parthenina interstincta</i> (J. Adams, 1797)	0	0	0	3	0,003	13	9	0,009	25
<i>Rapana venosa</i> (Valenciennes, 1846)	0	0	0	3	0,003	13	0	0	0
<i>Rissoa parva</i> (da Costa, 1778)	0	0	0	6	0,022	25	0	0	0
<i>Tritia neritea</i> (Linnaeus, 1758)	0	0	0	6	0,869	25	34	3,988	38
<i>T. pellucida</i> (Risso, 1826)	0	0	0	0	0	0	6	0,644	25
<i>Tritia</i> sp.	0	0	0	0	0	0	9	0,444	38
<i>Setia turriculata</i> Monterosato, 1884	0	0	0	19	0,019	13	19	0,019	25

ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МАКРОЗООБЕНТОСЕ...

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ARTHROPODA									
Crustacea									
<i>Ampelisca diadema</i> (Costa, 1853)	0	0	0	3	0,001	13	0	0	0
<i>Gammarus aequicauda</i> (Martynov, 1931)	3	0,001	13	81	0,015	50	22	0,001	25
<i>Gammarus insensibilis</i> Stock, 1966	0	0	0	13	0,005	25	56	0,004	13
Gammaridae Leach, 1813-1814	3	0,001	13	0	0	0	3	0,001	25
<i>Lekanesphaera hookeri</i> (Leach, 1814)	0	0	0	6	0,003	25	13	0,004	38
<i>Idotea balthica</i> (Pallas, 1772)	0	0	0	3	0,001	13	3	0,001	13
<i>Microdeutopus</i> <i>gryllotalpa</i> Costa, 1853	0	0	0	69	0,001	75	44	0,001	63
<i>Tanais dulongii</i> (Audouin, 1826)	0	0	0	22	0,001	25	38	0,001	50
Insecta									
Chironomidae lar.	0	0	0	163	0,036	75	9	0,001	25

Минимальное количество видов (9) отмечено на станции 1. Это вероятно связано с пониженной соленостью на ней (в среднем 11,6‰). Большинство встреченных здесь видов эвригалитные и (или) легко выдерживают пониженную соленость. Так, *C. capitata* переносит колебания солености от 1 до 41,5‰, *H. filiformis* может выносить соленость 3‰, *A. segmentum* – от 3 до 30‰, *C. glaucum* – от 5 до 43‰, *H. acuta* – от 0,3 до 58‰, *G. aequicauda* – от 0,05 до 50‰ [21–23]. Полихета *C. capitata*, моллюски *A. segmentum*, *C. glaucum* и *H. acuta* к тому же предпочитают рыхлые грунты [20, 21, 24]. Ранее (в августе 2019 г.) нами здесь была встречена *P. interstincta* – редкий и малочисленный вид на рыхлых грунтах, больше предпочитающий твердые субстраты. На станции 2 несмотря на то, что соленость на ней в среднем лишь немного выше (12,2‰), чем на предыдущей станции и расстояние между ними небольшое, количество обнаруженных видов значительно больше – 28. Коэффициент общности видов Чекановского-Серенсена составил всего 0,38. По всей видимости, кроме солености здесь влияют и другие экологические факторы, в частности, более плотный субстрат – мелкий песок с примесью небольших камней. Также на станции 1 четче выражены сгонно-нагонные (приливно-отливные) явления, что может негативно сказываться на макрозообентосе. На станции 2 эти процессы заметно слабее. В данном месте отмечен двустворчатый моллюск *A. kagoshimensis* – относительно недавний вселенец в Черное море, впервые встретившийся в Севастопольской бухте в начале 2000-х гг. [25]. Также обнаружена гастропода *R. venosa*, тоже являющаяся

вселенцем. На станции 3 при средней солености 15,8 ‰ отмечено столько же видов (28), но состав немного другой. Коэффициент общности Чекановского-Серенсена составил 0,64. Только здесь отмечен достаточно редкий вид брюхоногих моллюсков *V. nebula*, а также некоторые другие.

Средняя численность макрозообентоса 1376 экз. м<sup>-2</sup>. Она увеличивается по мере продвижения от реки к бухте. Минимум отмечен на станции 1 (694±13 экз. м<sup>-2</sup>). Здесь преобладает брюхоногий моллюск *H. acuta* (24 % от общей численности). Относительно много отмечено также двустворчатых моллюсков *A. segmentum* и полихет *C. capitata*. На станции 2 в устье реки средняя численность макробентоса гораздо выше – 1666±31 экз. м<sup>-2</sup>. Здесь еще более доминирует *H. acuta* (32 %), но достаточно много обнаружено и других моллюсков – *A. segmentum* и *M. lineatus*. Митилястер – один из самых массовых видов двустворок в Черном море. Это эвригалинный вид. Он часто образует одноименные сообщества, особенно в обрастаниях твердых субстратов [21]. На станции 3 в вершине бухты средняя численность макрозообентоса немного выше – 1772±42 экз. м<sup>-2</sup>. Еще больше преобладает *H. acuta* (41 %). Гидробия доминировала в вершине и другой бухты Севастополя – Казачьей [26].

Средняя биомасса донной макрофауны составила 54,905 г м<sup>-2</sup>. Тенденции изменений средней биомассы отличаются от таковых для количества видов и численности. Так, минимальная биомасса отмечена на станции 3 – всего 16,47±0,3 г м<sup>-2</sup>. Несколько преобладает брюхоногий моллюск *T. neritea* (24 % от общей биомассы). Немного меньше биомасса Mytilidae – *M. lineatus* и *M. galloprovincialis*. Биомасса крупного моллюска *C. glaucum* здесь небольшая, так как его было относительно мало. Максимальная биомасса донной макрофауны отмечена на станции 1 – 86,12±3,5 г м<sup>-2</sup>. Здесь явно доминирует *C. glaucum* (84 %). Это эврибионтный вид [24]. На станции 2 средняя биомасса составила 62,12±2,2 г м<sup>-2</sup>. Тут также значительно преобладает церастодерма, хотя и в несколько меньшей степени (71 %).

Таким образом, как по численности, так и по биомассе на всех станциях доминируют Mollusca. Доля остальных таксономических групп меньше, особенно в биомассе (что объясняется их мелкими размерами).

По частоте встречаемости преобладает *H. acuta* – 83 %. Ни один вид не был встречен во всех пробах, что, вероятно, связано с нестабильными условиями обитания.

По индексу функционального обилия на каждой станции выделены разные сообщества. Так, на станции 1 это сообщество двустворчатых моллюсков *C. glaucum* – *A. segmentum*, на станции 2 – только *C. glaucum*, на станции 3 также сообщество двустворчатого моллюска, но *M. lineatus*. Кривую доминирования-разнообразия применяли для оценки состояния сообществ: чем она более крутая, тем меньше общее разнообразие и сильнее доминирование одного или нескольких видов в сообществе (рис. 2).

Наиболее выровнены виды на станции 1, поскольку разница в их численности относительно небольшая. Поэтому и доминирование невысокое. Однако, и длина кривой маленькая, так как мало видов. На 2 и 3 станциях доминирование отдельных видов больше, но и сами кривые более длинные.

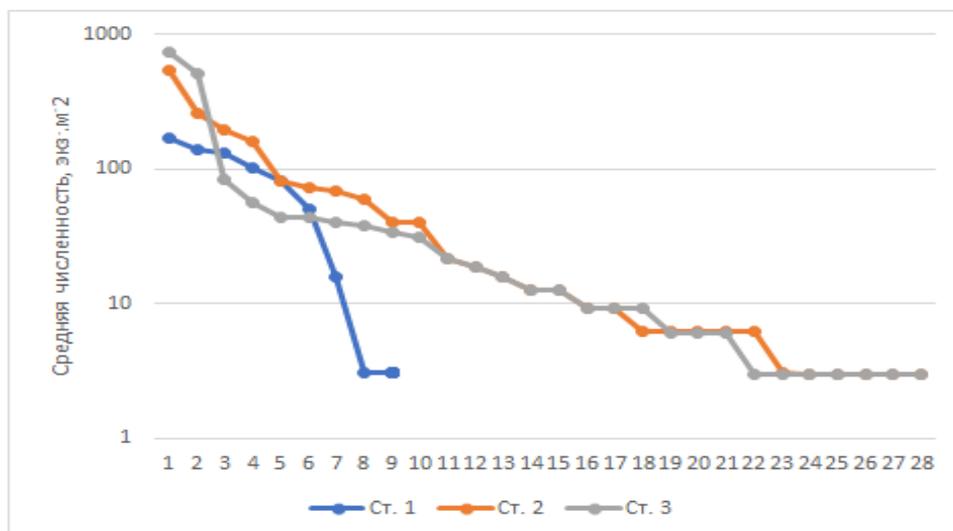


Рис. 2. Доминирование-разнообразие видов макрозообентоса.

Максимальный индекс Шеннона отмечен на станции 2 (2,798). На станции 1 и 3 эти показатели были немного ниже – 2,12 и 2,113 соответственно.

Таким образом, с некоторой осторожностью можно предположить, что на станциях 1 и 2 сообщества находятся в несколько более благоприятных условиях обитания, чем на станции 3.

В трофической структуре данных сообществ выделили 8 групп: детритофаги, сестонофаги, хищники, падальщики, эктопаразиты, фитофаги, полифаги и прочие (с неизвестным типом питания). По количеству видов в целом во всех 3 биоценозах преобладают полифаги – 11 видов, что составляет 29 % (рис. 3).

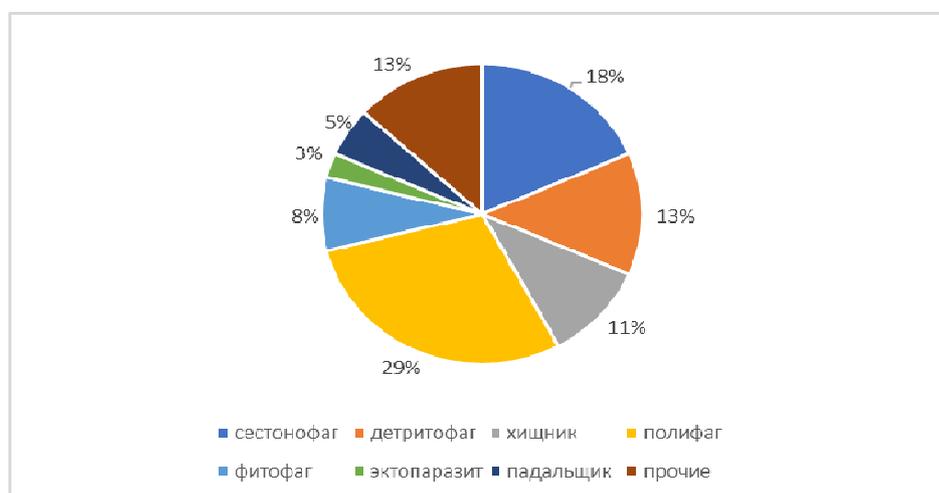


Рис. 3. Трофическая структура сообществ по количеству видов.

Основной вклад в группу полифагов вносят представители Annelida и Arthropoda. Также относительно высокая доля сестонофагов за счет *Bivalvia*.

По численности в целом доминируют детритофаги (699 экз.м<sup>-2</sup>), поскольку на рыхлых грунтах много детрита (рис. 4).

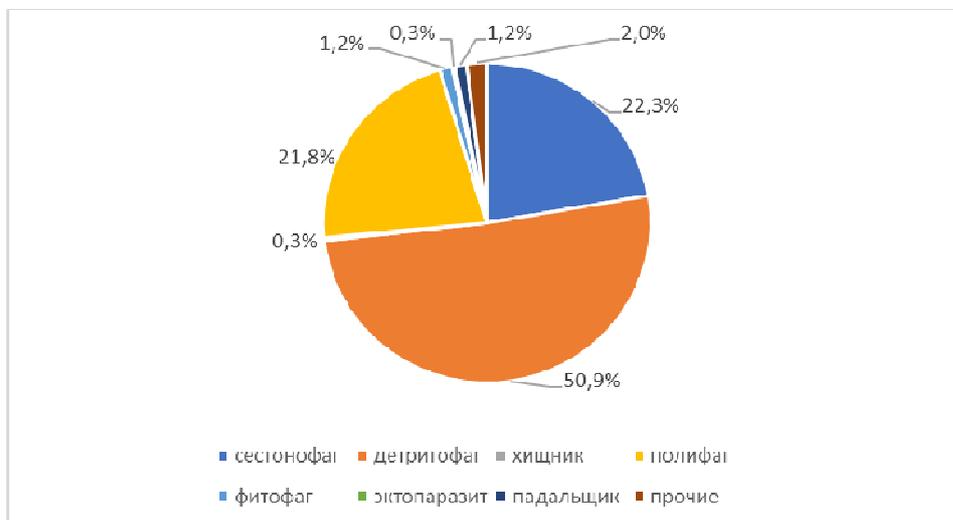


Рис. 4. Трофическая структура сообществ по численности.

Выделяется брюхоногий моллюск *H. acuta*. Он вносит наибольший вклад в численность детритофагов (69 %).

По биомассе в целом явно преобладают сестонофаги или фильтраторы – 42 гм<sup>-2</sup> (рис. 5).

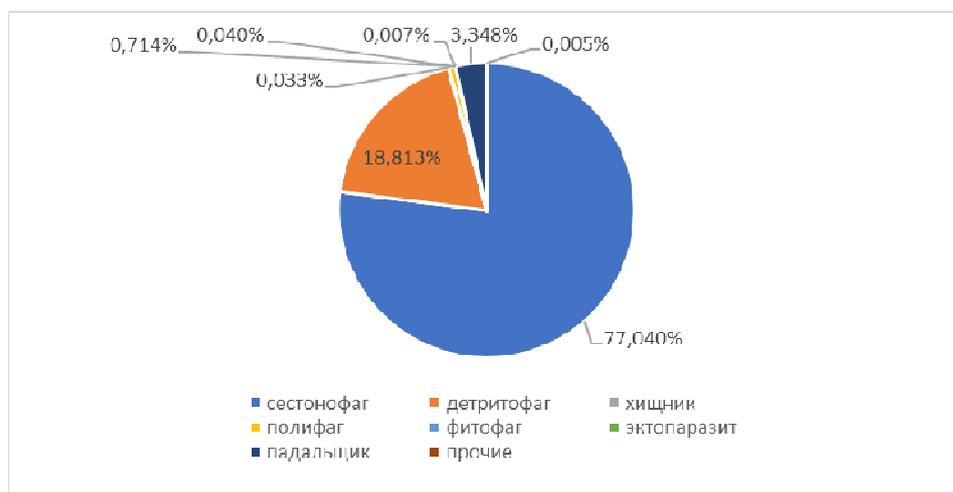


Рис. 5. Трофическая структура сообществ по биомассе.

Такое значительное преобладание сестонофагов обусловлено высокой биомассой крупных по размерам двустворчатых моллюсков-фильтраторов, особенно *S. glaucum*. Доля некоторых групп менее 1%. Индекс однообразия пищевой структуры составил 0,51, что говорит о разнообразной представленности трофических групп.

Таким образом, в трофической структуре всех исследованных здесь сообществ по количеству видов доминируют полифаги, по численности детритофаги, а по биомассе – сестонофаги.

В целом сезонный максимум численности макрозообентоса приурочен к началу лета (2029 экз.·м<sup>-2</sup>), а минимум к самому началу осени – 921 экз.·м<sup>-2</sup>, однако на различных станциях есть отличия (рис. 6).

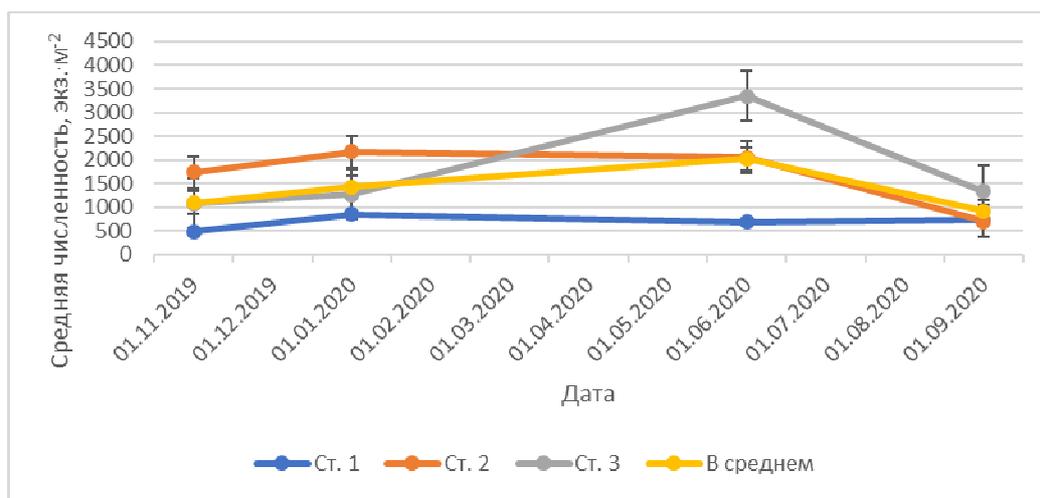


Рис. 6. Сезонная динамика численности макрозообентоса.

Так, на станциях 1 и 2 максимумы численности отмечены в январе 2020 г. за счет полихеты *S. capitata* и двустворчатого моллюска *A. segmentum*. Однако, на станции 1 сезонная динамика выражена слабо. Возможно, сезонные изменения температуры воды здесь играют несколько меньшую роль, чем на других станциях, а больше влияют другие экологические факторы, такие как соленость и сгонно-нагонные явления. На станции 3 пик численности макрозообентоса приходится на начало календарного лета (9 июня 2020 г.), однако, можно считать это еще гидрологической весной, так как температура воды составляла всего +20 °С. Максимум численности в данный период обусловлен высокими показателями брюхоногого моллюска *H. acuta*. Этот вид размножается весной [19]. Поэтому в начале лета гидробиология достигает большой численности. На станциях 1 и 2 *H. acuta* тоже встречена в максимальном количестве в июне, но более низкие показатели других видов не позволяют макрозообентосу быть на пике численности в данное время на этих станциях. В начале сентября, когда брали пробы (3.09.2020 г.),

температура воды была максимальной (+27–29 °С), т. е. это еще гидрологическое лето.

В сезонной динамике биомассы макрозообентоса, наоборот, в среднем минимум приходится на июнь (15,9 г·м<sup>-2</sup>), максимум – на начало сентября – 132,4 г·м<sup>-2</sup> (рис. 7).

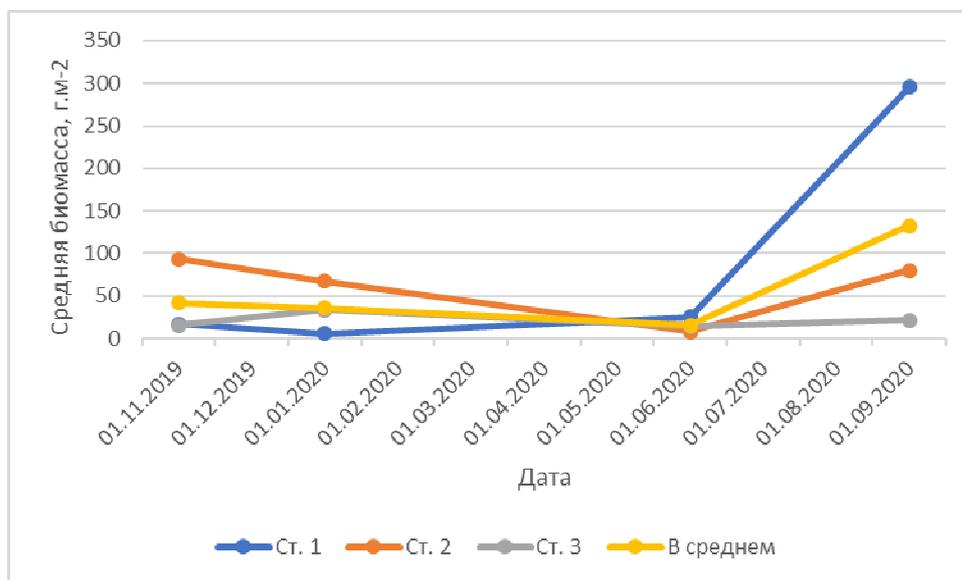


Рис. 7. Сезонная динамика биомассы макрозообентоса.

В июне минимум биомассы донной макрофауны отмечен на станциях 2 и 3. В это время биомасса *Vivalvia*, вносящих наибольший вклад в общую биомассу макробентоса, относительно невысока. В начале сентября пик данного показателя обусловлен вспышкой биомассы *C. glaucum*, особенно на станции 1. Это многолетний моллюск с длительным периодом размножения от зимних месяцев до июля-августа [21]. Небольшое повышение биомассы в ноябре на станции 2 связано с увеличением данного показателя *A. segmentum*.

В вершине Севастопольской бухты в районе причала ГРЭС в мае 2010 г. было отмечено 20 видов макрозообентоса с доминированием Mollusca – 9 видов [9], а в 2015–2016 гг. на глубинах 2,5–8 м отмечено 42 вида донной макрофауны, среди которых преобладали Polychaeta (17 видов). Максимальная численность наблюдалась весной, минимальная – в конце лета, т. е. как и в 2019–2020 гг., что, возможно, связано с выеданием хищниками. Наибольшая биомасса в 2015–2016 гг. была весной и осенью, наименьшая зимой [10].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые представлены данные о пространственном распределении макрозообентоса одновременно в устье реки Черной и вершине Севастопольской

бухты как в зависимости от изменений солености воды, так и во временном (сезонном) аспекте.

1. Всего обнаружено 38 видов, средняя численность которых составила 1376 экз.м<sup>-2</sup>, средняя биомасса 54,9 гм<sup>-2</sup>. По численности (479 экз.м<sup>-2</sup>) и встречаемости (83 %) преобладает брюхоногий моллюск *Hydrobia acuta*, по биомассе (39,34 гм<sup>-2</sup>) двустворчатый моллюск *Cerastoderma glaucum*.
2. Показано, что с увеличением солености количество видов и их численность увеличиваются, но биомасса уменьшается. Максимальная численность донной макрофауны отмечена в начале лета (2029 экз.м<sup>-2</sup>), минимальная – в самом начале сентября (921 экз.м<sup>-2</sup>). Наибольшая биомасса, наоборот, приходится на сентябрь (132,4 гм<sup>-2</sup>), наименьшая – на июнь (15,9 гм<sup>-2</sup>).
3. По индексу функционального обилия на разных станциях выделены сообщества двустворчатых моллюсков *Cerastoderma glaucum*–*Abra segmentum*, *Cerastoderma glaucum*, *Mytilaster lineatus*.
4. Трофическая структура сообществ разнообразна и включает в себя 8 групп. По количеству видов доминируют полифаги, по численности детритофаги, по биомассе сестонофаги-фильтраторы.

*Работа выполнена по темам государственного задания ФИЦ ИнБЮМ «Закономерности формирования и антропогенная трансформация биоразнообразия и биоресурсов Азово-Черноморского бассейна и других районов Мирового океана», тема № 0556-2021-0002, № гос. регистрации 121030100028-0, и «Молисмологические и биогеохимические основы гомеостаза морских экосистем», тема № 0556-2021-0001, № гос. регистрации 121031500515-8.*

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают Благодарности м. н. с. отдела Экологической паразитологии ФГБУН ФИЦ ИнБЮМ Ю. В. Белоусовой за помощь в отборе проб и м. н. с. отдела Физиологии животных и биохимии ФГБУН ФИЦ ИнБЮМ В. П. Чекалову за определение солености.

#### Список литературы

1. Михайлов В. Н. Новый подход к определению и типизации эстуариев / В. Н. Михайлов, С. Л. Горин, М. В. Михайлова // География. Вестник Московского университета. – 2009. – № 5. – С. 3–11.
2. Овсяный Е. И. Гидролого-гидрохимический режим Севастопольской бухты в условиях антропогенного воздействия (по наблюдениям 1998–1999 гг.) / Е. И. Овсяный, Р. Б. Кемп, Л. Н. Репетин, А. С. Романов // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон моря. – 2000. – С. 79–103.
3. Иванов В. А. Морские устья рек Украины и устьевые процессы / В. А. Иванов, Р. Я. Миньковская – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика. – 2008. Часть 1. – 448 с.
4. Шутов Ю. И. Воды Крыма: Научно-популярный очерк / Ю. И. Шутов – Симферополь: Таврия, 1979. – 96 с.
5. Павлова Е. В. Современное состояние и тенденции изменения экосистемы Севастопольской бухты / Е. В. Павлова, Е. И. Овсяный, А. Д. Гордина и др. // Акватория и берега Севастополя: экосистемные процессы и услуги обществу. – Севастополь, 1999. – С. 70–87.

6. Миньковская Р. Я. Эволюция морского устья реки Черной (Севастопольский регион) / Р. Я. Миньковская, А. Н. Демидов // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон моря. – 2016. – № 1. – С. 82–89.
7. Макаров М. В. Сезонная изменчивость таксоцено Mollusca рыхлых грунтов контактной зоны реки Черной и Севастопольской бухты (Юго-Западный Крым) / М. В. Макаров // Экосистемы. – 2020. – Вып. 21. – С. 109–118. DOI 10.37279/2414-4738-2020-21-109-118.
8. Revkov N. K. Comparative analysis of long-term alteration in structural organization of zoobenthos under permanent anthropogenic impact (Case study: Sevastopol Bay, Crimea) / N. K. Revkov, A. N. Petrov, E. A. Kolesnikova, G. A. Dobrotina // Marine ecological journal. – 2008. – Vol. 3. № 7. – P. 37–49.
9. Витер Т. В. Донные сообщества в районе причалов бухты Голландия и в районе ГРЭС (бухта Севастопольская) / Т. В. Витер // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа: Сб. научн. тр. – 2013. – Вып. 27. – С. 431–437.
10. Подзорова Д. В. Макрозообентос рыхлых грунтов в вершинной части Севастопольской бухты (юго-западный Крым, Чёрное море) / Подзорова Д. В., Макаров М. В. // X Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых по проблемам водных экосистем (Севастополь, 11–16 сентября 2017 г.): тезисы докладов. – С. 162–165.
11. Макаров М. В. Новые данные по сезонной динамике качественного и количественного состава моллюсков в вершинной части Севастопольской бухты (Чёрное море) / М. В. Макаров // Ruthenica, Russian malacological journal. – 2018. – Vol. 28, No 4. – С. 157–162.
12. Болтачев А. Р. Особенности термохалинных параметров и ихтиоцено эстуария реки Чёрная (Севастопольская бухта) / А. Р. Болтачев, Е. П. Карпова, О. Н. Данилюк // Морской экологический журнал. – 2010. – Т. 9, №2. – С. 23–36.
13. World register of marine species. URL: <http://www.marinespecies.org>. [Accessed on 09.11.2021].
14. Мальцев В. И. О возможности применения показателя функционального обилия для структурных исследований зооценозов / В. И. Мальцев // Гидробиологический журнал. – 1990. – Т. 26, № 1. – С. 87–89.
15. Whittaker R. H. Dominance and diversity in land plant communities / R. H. Whittaker // Science. – 1965. – Vol. 147. – P. 250–260.
16. Wilhm J. L. Species diversity of benthic macroinvertebrates in a stream receiving domestic and oil refinery effluents / J. L. Wilhm, T. C. Dorris // American midland Naturalist. – 1966. – 76 (2). – P. 427.
17. Грезе И. И. Амфиподы Черного моря и их биология / И. И. Грезе. – Киев: Наук. думка, 1977. – 156 с.
18. Киселева М. И. Бентос рыхлых грунтов Черного моря / М. И. Киселева. – Киев: Наукова думка, 1981. – 168 с.
19. Киселева М. И. Многощетинковые черви (Polychaeta) Чёрного и Азовского морей / М. И. Киселева. – Апатиты: Изд. Кольского научного центра РАН. – 2004. – 409 с.
20. Чухчин В. Д. Экология брюхоногих моллюсков Черного моря / В. Д. Чухчин. – Киев: Наукова думка, 1984. – 176 с.
21. Копий В. Г. Атлас обитателей псевдолиторали Азово-Черноморского побережья Крыма / В. Г. Копий, Л. В. Бондаренко / Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского РАН. – Севастополь: ФИЦ ИнБЮМ. – 2020. – 120 с.
22. Чухчин В. Д. Жизненный цикл и рост *Hydrobia acuta* (Drap) и *Hydrobia ventrosa* (Mont) в Черном море / В. Д. Чухчин // Биология моря. – 1976. – Вып. 37. – С. 85–90.
23. Макаров М. В. Распределение Mollusca в реке Черная (Юго-Западный Крым) / М. В. Макаров // Актуальные проблемы изучения черноморских экосистем – 2020 (Севастополь, 19–22 октября 2020 г.): тезисы докладов Всероссийской онлайн-конференции, Севастополь, Российская Федерация. – С. 53–54.
24. Давиташвили Л. Ш. Справочник по экологии морских двустворок / Л. Ш. Давиташвили, Р. Л. Мерклин – Москва: Наука. – 1968. – 178 с.
25. Ревков Н. К. Особенности колонизации Чёрного моря недавним вселенцем-двустворчатым моллюском *Anadara kagoshimensis* (Bivalvia: Arcidae) / Н. К. Ревков // Морской биологический журнал. – 2016. – Т. 1, № 2. – С. 3–17.

26. Макаров М. В. Современное состояние малакофауны рыхлых грунтов в вершинной части бухты Казачьей (Черное море) / М. В. Макаров // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон моря. – 2020. – Вып. 1. – С. 119–130.

**SPATIAL-TIME CHANGES IN THE MACROZOOBENTOS OF THE  
CHERNAYA RIVER MOUTH AND THE TOP OF SEVASTOPOL'SKAYA BAY  
(SOUTH-WEST CRIMEA)**

*Makarov M. V., Viter T. V.*

*Institute of biology of the southern seas, Sevastopol, Russia  
E-mail: mihaliksevast@inbox.ru*

Data on spatial and seasonal distribution of benthic macroinvertebrate communities along a salinity gradient (in average from 11,6 to 15,8 ‰) both in Chernaya River estuary and Sevastopol Bay head on 3 stations on depth 0,1 m during in November 2019–September 2020 were obtained at first. A total of 24 quantitative benthic samples (8 at each station on 2 replicates in different months) were taken.

A total of 38 macrozoobenthos species, belonging to 5 phylums: Cnidaria, Platyhelminthes, Annelida (11 species), Mollusca (16 species) and Arthropoda (9 species) were identified. Macrozoobenthos was distributed unevenly across the stations. Number of species increased with the increasing salinity from Chernaya River estuary to Sevastopol Bay head. So, the lowest number of species (only 9) was found at the station 1 in River Chernaya, perhaps due to low salinity and surge (tidal) phenomena. The majority of species found here were euryhaline and (or) can easily withstand reduced salinity. The highest number of species was found at station 2 at the mouth of River Chernaya and at station 3 at the head of Sevastopol Bay. 28 species were found on each of those stations, but their species compositions were slightly different. The Chekanovsky-Sorensen similarity index was 0,64. For example, 2 species – bivalve *Anadara kagoshimensis* and gastropod *Rapana venosa* – were registered only at the station 2, and another rather rare species of gastropod *Bela nebula* was found only at station 3.

The mean abundance was 1376 ind.m<sup>-2</sup> and the mean biomass was 54,9 g.m<sup>-2</sup>. The phylum Mollusca dominated by both abundance and biomass at all stations. So, gastropod *Hydrobia acuta* dominated by occurrence (83 %) and abundance (479 ind.m<sup>-2</sup>), but bivalve *Cerastoderma glaucum* prevailed by biomass (39,34 g.m<sup>-2</sup>). The abundance of benthic organisms increased with the increasing salinity from Chernaya River estuary to Sevastopol Bay head while biomass decreased. The lowest abundance (only 694 ind.m<sup>-2</sup>) was registered at the station 1, and the highest (1772 ind.m<sup>-2</sup>) was at the station 3. The highest biomass (86,12 g.m<sup>-2</sup>) was registered on the contrary at the station 3, the lowest (only 16,47 g.m<sup>-2</sup>) – at the station 1.

If regarding seasonal dynamics, the highest abundance and biomass of bottom macrofauna were registered in June (2029 ind.m<sup>-2</sup>) at a water temperature of +20 °C (hydrological spring) mainly due to great amount of gastropods *H. acuta*, and in early September (132,4 g.m<sup>-2</sup>) at a water temperature of +27–29 °C (hydrological summer)

mainly due to a great amount of *C. glaucum*, especially at the station 1, and due to gastropod *Tritia reticulata* at the station 3 respectively. However, the lowest quantitative characteristics of abundance (only 921 ind.m<sup>-2</sup>) and biomass (only 15,9 g m<sup>-2</sup>) were registered in contrast in early September and in June respectively.

Different communities were identified according to the functional abundance index at each station. A total of three bivalve communities were registered – the *Cerastoderma glaucum*-*Abra segmentum* community (at the station 1), the *Cerastoderma glaucum* community (at the station 2) and the *Mytilaster lineatus* community (at the station 3). The highest value of Shannon's index was recorded at the station 2 (2,798).

In all communities eight major trophic groups of aquatic organisms were identified: detritus feeders, seston feeders, predators, scavengers, ectoparasites, phytophages, polyphages and others (with an unknown type of feeding). The polyphages prevailed by the number of species (11 species or 29 %). The main contribution to the percent composition of polyphages was made by species belonging to phylums Annelida and Arthropoda. The detritus feeders dominated by the abundance (699 ind.m<sup>-2</sup> or 51 %) mainly due to *H. acuta*. The seston-feeders prevailed by biomass (42,18 g m<sup>-2</sup> or 77 %) mainly due to *C. glaucum*. The value of the uniformity index of the food structure was 0,51. It indicated the presence of a large variety of trophic groups.

**Keywords:** distribution, salinity, bottom macrofauna, abundance, biomass, occurrence, communities, trophic structure, seasonal dynamics.

#### References

1. Mikhailov V. N., Gorin S. I., Mikhailova M. V. New approach to the definition of estuaries and to their typology, *Moscow University Geography Bulletin*, **5**, 3 (2009).
2. Ovsyany E. I., Kemp R. B., Repetin L. N., Romanov A. S. Hydrological and hydrochemical regime of the Sebastopol Bay under influence of anthropogenic factors (on observations of 1998–1999 yrs), *Ecological safety of coastal and shelf zones*, **1**, 79 (2000).
3. Ivanov V. A., Min'kovskaya R. Ya. *Sea estuaries of the rivers of Ukraine and estuarine processes*, 448 (Sevastopol : MHI NASU, 2008). Part 1, 448 p.
4. Shutov Yu. I. *Waters of the Crimea: Popular Science Essay*, 96 (Simferopol : Tavriya, 1979).
5. Pavlova E. V., Ovsyany E. I., Gordina A. D. et al. The current state and trends in Sebastopol Bay ecosystem, *Sevastopol aquatory and coast: ecosystem processes and services for human society*. (Sevastopol, 70–87, 1999).
6. Minkovskaya R. Ya., Demidov A. N. Evolution of marine mouth of the Chernaya river (Sevastopol region), *Ecological safety of coastal and shelf zones*, **1**, 82 (2016).
7. Makarov M. V. Seasonal changes of mollusca taxocene on soft sediments in the river-sea contact zone at the mouth of the Chernaya river and corner part of the Sebastopol Bay (South-Western Crimea), *Ecosystems*, **21**, 109 (2020). DOI 10.37279/2414-4738-2020-21-109-118.
8. Revkov N. K., Petrov A. N., Kolesnikova E. A., Dobrotina G. A. Comparative analysis of long-term alteration in structural organization of zoobenthos under permanent anthropogenic impact (Case study: Sebastopol Bay, Crimea), *Marine ecological journal*, **3** (7), 37 (2008).
9. Viter T. V. Benthic communities in Gollandiya Bay and in SDPS region, *Ecological safety of coastal and shelf zones and comprehensive use of shelf resources*, **27**, 431 (2013).
10. Podzorova D. V., Makarov M. V. Macrozoobenthos organisms of soft bottom sediments in Sevastopolsaya Bay head (South-Western Crimea, the Black Sea), *Proceedings of X all-Russian scientific and applied conference of young scientists on the water system problems* (Sevastopol, september, 11–16, 2017), 162–165.

11. Makarov M. V. The new data on seasonal dynamics of species composition, abundance and biomass of Mollusca in the corner part of the Sevastopol Bay (the Black Sea), *Ruthenica, Russian malacological journal*, **28** (4), 157 (2018).
12. Boltachev A. R., Karpova E. P., Danilyuk O. N. Peculiarities of thermohaline parameters and ichthyocenosis of the Chernaya river estuary (the Sevastopol Bay), *Marine ecological journal*, **9** (2), 23 (2010).
13. World register of marine species. URL: <http://www.marinespecies.org>. [Accessed on 09.11.2021].
14. Maltsev V. I. About possibility of use data of functional abundance for structure investigations of zoocenosis, *Hydrobiological journal*, **26** (1), 87 (1960).
15. Whittaker R. H. Dominance and diversity in land plant communities, *Science*, **147**, 250 (1965).
16. Wilhm J. L., Dorris T. C. Species diversity of benthic macroinvertebrates in a stream receiving domestic and oil refinery effluents, *American midland Naturalist*, **76** (2), 427 (1966).
17. Greze I. I. *Amphipods of the Black Sea and their biology*, 156. (Kiev: Naukova dumka, 1977).
18. Kiseleva M. I. *Benthos of soft sediments of the Black Sea*, 168. (Kiev: Naukova dumka, 1981).
19. Kiseleva M. I. *Polychaeta of the Black and Azov seas*, 409 (Apatity: published by Kola scientific center RAS, 2004).
20. Chukhchin V. D. *Ecology of Gastropod Molluscs of the Black Sea*, 176 (Kiev: Naukova Dumka, 1984).
21. Kopyi V. G., Bondarenko L. V. *Atlas of the inhabitants of the pseudo-littoral of the Sea of Azov - Black Sea coast of Crimea*, A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, 120 (Sevastopol: IBSS, 2020).
22. Chukhchin V. D. Life cycle and growth of *Hydrobia acuta* (Drap) and *Hydrobia ventrosa* (Mont) in the Black Sea, *Biologiya Morya*, **37**, 85 (1976).
23. Makarov M. V. The distribution of Mollusca in the Chernaya river (South-Western Crimea), *Abstracts of all-russian online conference "Actual problems of research of Black Sea ecosystems"*, 53 (Sevastopol, 2020).
24. Davitashvili L. Sh., Merklin R. L. (Eds.). *Handbook of the ecology of marine bivalves*, 178. (Moscow: Nauka, 1968).
25. Revkov N. K. Colonization's features of the Black Sea basin by recent invader *Anadara kagoshimensis* (Bivalvia: Arcidae), *Marine Biological Journal*, **1** (2), 3 (2016).
26. Makarov M. V. The current state of malacofauna at soft bottoms in the Kazachya Bay head (the Black Sea), *Ecological safety of coastal and shelf zones*, **1**, 119 (2020).

**УДК 57.084.1**

## **ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ КАРДИОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ С МЕТАЛЛАМИ**

*Миронюк И. С., Чуян Е. Н.*

*Институт биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ ВО «Крымский  
федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым,  
Россия*

*E-mail: elena-chuyan@rambler.ru*

Проведено комплексное исследование и установлены физиологические механизмы кардиотропных эффектов новосинтезированных координационных соединений ацетилсалициловой кислоты (АСК) с металлами кобальта, цинка, никеля и марганца в дозах 5, 10 и 20 мг/кг при их однократном и многократном введении экспериментальным животным. Впервые исследованы изменения осцилляторных и неосцилляторных показателей кожной микрогемодинамики, центральной гемодинамики, электрокардиографии сердца лабораторных животных под влиянием АСК и салицилатов кобальта, цинка, никеля и марганца. Установлено, что выраженность кардиотропных эффектов зависит от входящего в комплексное соединение с АСК биметалла, от дозы и продолжительности введения тестируемых соединений. Показано, что салицилаты кобальта, цинка, никеля и марганца модифицируют влияние АСК на изменение гистологической структуры слизистой оболочки желудка животных.

**Ключевые слова:** механизмы кардиотропного действия, вазотропные реакции, ацетилсалициловая кислота, салицилаты металлов, микрогемодинамика, частота сердечных сокращений, артериальное давление, электрокардиограмма сердца, слизистая оболочка желудка.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Распространенной проблемой современности являются патологии сердечно-сосудистой системы (ССС), что предопределяет необходимость поиска новых эффективных лекарственных средств и изучения механизма их действия. Повышенное внимание исследователей привлекает и возможность использования традиционных лекарственных препаратов для создания на их основе более эффективных и менее токсичных биологически активных форм или же выявления новых видов активности этих соединений [1].

В рамках такого научного поиска важную роль играет создание новых лекарственных средств на основе ацетилсалициловой кислоты (АСК, аспирин), которая как лекарственное средство применяется уже более 100 лет, относится к группе нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) и обладает широким спектром терапевтических эффектов: антипиретическим, анальгезирующим, противовоспалительным, противомикробным, антиагрегантным, анксиолитическим, противоопухолевым и рядом других [1–8]. Несмотря на такое

длительное и широкое использование, в настоящее время к АСК и ее производным заметно возрос интерес как со стороны исследователей, так и в медицинской практике, что нашло свое отражение в современной научной литературе.

Многочисленные крупные клинические испытания [9, 10] продемонстрировали эффективность АСК в лечении и профилактике ишемической болезни сердца, хронической сердечной недостаточности, гипертонии и других заболеваний, что позволяет оценить широту благоприятных эффектов, оказываемых АСК на функционирование ССС, и констатировать отсутствие в ближайшие годы других лекарственных средств, равноценных этому препарату.

Одним из важнейших направлений остается расширение и усиление известной терапевтической активности на фоне снижения и/или ликвидации побочных эффектов, поскольку АСК занимает лидирующее положение среди всех НПВП не только по объёмам применения, но и по совокупному количеству побочных эффектов, среди которых негативные воздействия на пищеварительную и иммунную системы, кожу и подкожные ткани [11]. В частности, отмечается, что длительный прием аспирина вызывает раздражение и повреждение слизистой оболочки желудка (СОЖ), гастропатии [10, 12, 13].

Таким образом, актуальным является синтез и биоскрининг новых координационных соединений АСК, в частности, с двухвалентными металлами, что поможет решить проблему снижения побочных эффектов, резистентности к терапии аспирином и повышения терапевтического потенциала исходного соединения для получения эффективных лекарственных препаратов нового поколения [2, 4, 14]. Однако применение таких соединений для лечения заболеваний ССС крайне ограничено, что связано, в том числе, с недостаточным количеством экспериментальных и клинических исследований, проводимых в данной области.

Очевидным является и незначительное количество исследований влияния АСК и ее производных на кожную микрогемодинамику (МГД), что не позволяет вскрыть механизмы биологического действия этих соединений, принимая во внимание тот факт, что кожа выполняет важную биологическую функцию по обеспечению гомеостаза организма, а дермальный кровоток отражает основные принципы функциональной организации ССС и организма в целом. Вместе с тем, такие исследования являются крайне актуальными особенно в условиях сложившейся эпидемиологической обстановки, поскольку установленным фактом является то, что основные нарушения при COVID-19 развиваются именно на уровне микрососудистого русла с развитием системной дисфункции эндотелия (вазомоторной и обменной) и активацией тромбоцитарно-сосудистого звена гемостаза [15], вовлекая в патологический процесс все органы и системы организма, что открывает новые перспективы экспериментальных исследований АСК и ее соединений.

В связи с этим целью настоящего исследования явилось установление физиологических механизмов кардиотропного действия координационных соединений АСК с катионами кобальта, цинка, никеля и марганца.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

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

Экспериментальная часть работы выполнена на 320 половозрелых крысах-самцах линии *Wistar*180-250 грамм («ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово»), прошедших карантин не менее 14 дней.

**Синтез, исследование состава, структуры и свойств координационных соединений** салицилатов кобальта ( $ACCo^{2+}$ ), цинка ( $ACZn^{2+}$ ), никеля ( $ACNi^{2+}$ ) и марганца ( $ACMn^{2+}$ ) проводились на кафедре общей и неорганической химии ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» под руководством проф. Гусева А.Н. Учитывая, что для биологических исследований ключевым фактором является чистота объектов, с помощью рентгенофлуоресцентного анализа, проведенного в Ресурсном центре «Рентгенодифракционные методы исследования» ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», было показано отсутствие примесей в полученных кристаллических образцах (химическая чистота составляла не менее 98,0 %).

**Исследование острой токсичности координационных соединений АСК** проводили на 100 крысах при однократном внутрибрюшинном введении тестируемых соединений в диапазоне доз от 5 до 500 мг/кг для координационных соединений и от 100 до 1000 мг/кг – для АСК. ЛД<sub>20</sub> – ЛД<sub>50</sub> определяли экспериментальным путем согласно ГОСТ 32644-2014, ЛД<sub>100</sub> – с помощью пробит-анализа [16].

**Выбор доз тестируемых соединений.** Учитывая, что в настоящее время достаточной для длительного применения у людей признана доза АСК 75–100 мг/сутки, при неотложных клинических состояниях (острый коронарный синдром или острый ишемический инсульт) используется нагрузочная доза 160–325 мг [17], расчетным методом с использованием коэффициентов пересчета доз соединений для человека и крыс [18] определили, что для крыс массой 180–200 грамм профилактической дозе соответствует доза – 5 мг/кг, терапевтической – 10 мг/кг, а однократной (нагрузочной) дозе – 20 мг/кг.

Проведены две серии экспериментов (рис. 1). Регистрация исследуемых показателей проводилась через 20 минут после внутрибрюшинного введения соединений, поскольку в этот период наблюдается максимальная их концентрация в крови [19].

**Регистрация и анализ показателей центральной гемодинамики (ЦГ):** частоты сердечных сокращений (ЧСС, ударов в минуту), систолического (САД, мм рт. ст.) и диастолического (ДАД, мм рт. ст.) артериального давления у крыс проводились осциллометрическим методом с помощью системы ViopacSystems, Inc. NIBP200A и программы AcqKnowledge.

**Регистрация и анализ показателей кожной МГД** осуществлялись методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), который является одним из наиболее широко распространенных методов оптической неинвазивной диагностики

функционального состояния микроциркуляторной части сосудистого русла [20] при помощи лазерного анализатора кровотока «Лазма-МЦ» (производство НПП «Лазма», Россия) с использованием программы LDF 2.20.0.507WL.

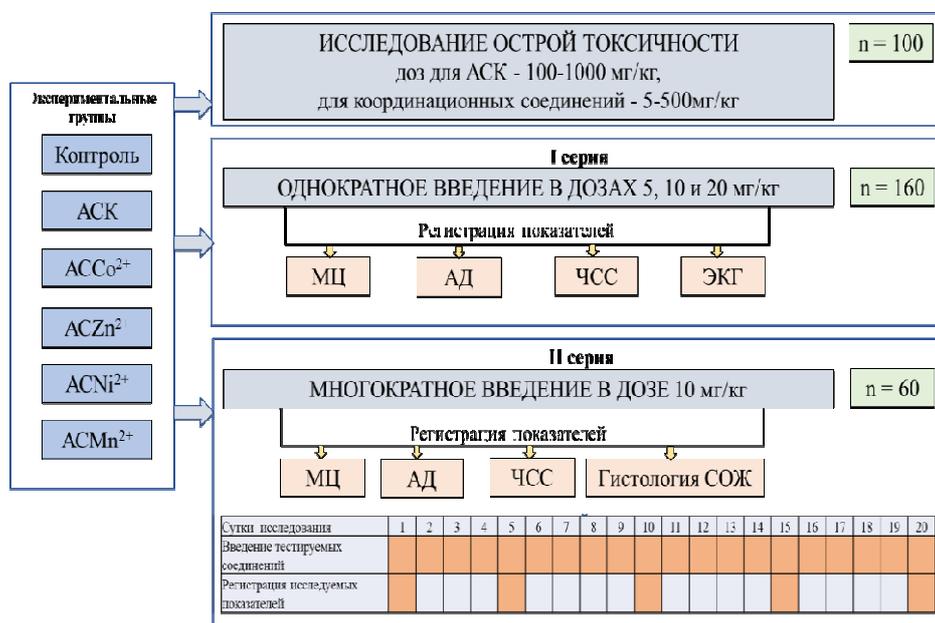


Рис. 1. Схема проведения исследований.

Метод основан на облучении кожного покрова когерентным лазерным излучением с последующей регистрацией интенсивности обратно отраженного излучения от статичных и подвижных структур ткани. После фотометрирования интенсивности отраженного излучения, аналоговой и цифровой обработки вычисляли неосцилляторные показатели базального кровотока: показатель перфузии (ПМ, перф. ед.), среднее квадратичное отклонение (флак, СКО, перф. ед.), коэффициент вариации (Кв, %) [21]. На втором этапе обработки ЛДФ-грамм проводили анализ структуры ритмов колебаний кровотока, рассчитывая амплитуды эндотелиального (Аэ), нейрогенного (Ан), миогенного (Ам), дыхательного (Ад) и пульсового (Ас) генеза [21, 22]. Наряду с этим определяли соотношение притока крови к венозному оттоку; нейрогенный (НТ) и миогенный (МТ) тонусы, показатель шунтирования (ПШ) и величину нутритивного кровотока ( $M_{\text{нутр.}}$ ) [21, 23], проводили оценку показателей объемного кровотока, рассчитывая общий объемный (ООК, перф. ед. / мм рт. ст.), объемный нутритивный (ОНК, перф. ед. / мм рт. ст.) и объемный шунтовой кровотока (ОШК, перф. ед. / мм рт. ст.) [21].

**Регистрация и анализ показателей ЭКГ** осуществлялись во II стандартном отведении на компьютерном полиграфе «Віорас МР-150» («Віорас Systems, Inc.», США) в условиях ингаляционного изофлуранового наркоза. Не ранее чем через 20 минут после внутрибрюшинного введения АСК и тестируемых салицилатов

животным инвазивно накладывали игольчатые датчики по стандартной схеме и регистрировали кривую ЭКГ течение  $5 \pm 3$  мин. Для оценки длительности зубцов ЭКГ у всех животных с помощью программы Acknowledge («Biopac Systems, Inc.», США) вычисляли ЧСС на участке свободном от артефактов длительностью не менее 60 секунд, после чего проводили усреднение данного участка с последующим расчетом длительности комплексов.

В качестве наиболее существенных параметров ЭКГ крыс выделали комплекс QRS (с, отражает деполяризацию желудочков) и интервал QT (с, временной промежуток между началом деполяризации миокарда желудочков и окончанием их реполяризации) [25].

**Гистологический и морфометрический анализы СОЖ** осуществляли после курсового введения тестируемых салицилатов (20 дней) путем забора материала из пищеводной части (*cardiaca*) и тела (*corpus*) желудка крыс.

Для исследования морфологии СОЖ использовался метод световой микроскопии: микроскоп DM2000 (Leica, Германия) с объективами Plan 10x и Plan 40x; камера DFC295; сканер гистопрепаратов Aperio CS2 (Leica, США). Морфометрические характеристики тканевых структур гистологических препаратов получали, используя программу ImageJ, калибруя измерения по шкале TS-M1 0.01 mm/100 *div stage micrometer* [26].

Морфометрический анализ на светооптическом уровне включал измерение толщины СОЖ и плоского эпителия пищеводной части, слизистой оболочки (СО) тела желудка и покровного эпителия (ПЭ, относительной площади, занимаемой капиллярами, подсчет главных (Г) и обкладочных клеток (О) на единицу фундальных желез СОЖ.

**Статистическая обработка полученных данных** включала проверку распределения данных на нормальность с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Поскольку распределение данных у большинства исследуемых групп не соответствовало закону нормального распределения, значимость различий между группами оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ . Для анализа эффективности биологического действия салицилатов кобальта, цинка, никеля и марганца по сравнению с молекулой предшественницей АСК проводился расчет коэффициента эффективности (КЭ) по формуле:

$$КЭ = (AC_{мет} - АСК) / АСК,$$
 где  $AC_{мет}$  – значения показателей, зарегистрированные у животных при введении салицилатов  $Co^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  (средние значения измерений в каждой экспериментальной группе); АСК – значения исследуемых показателей, зарегистрированные у животных при введении АСК.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Анализ острой токсичности** тестируемых соединений показал, что  $LD_{20}$  для АСК составила 500 мг/кг,  $ACCo^{2+}$  – 30 мг/кг,  $ACZn^{2+}$  – 230 мг/кг,  $ACNi^{2+}$  – 30 мг/кг,  $ACMn^{2+}$  – 380 мг/кг.  $LD_{50}$  для АСК составила 910 мг/кг,  $ACCo^{2+}$  – 70 мг/кг,  $ACZn^{2+}$  – 445 мг/кг,  $ACNi^{2+}$  – 100 мг/кг,  $ACMn^{2+}$  – 675 мг/кг. Абсолютная летальная доза  $LD_{100}$  для АСК – 1530 мг/кг, для  $ACCo^{2+}$  – 130 мг/кг, для  $ACZn^{2+}$  – 775 мг/кг, для

АСNi<sup>2+</sup> – 250 мг/кг, для АСMn<sup>2+</sup> – 750 мг/кг. Полученные результаты в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 позволяют отнести АССо<sup>2+</sup> и АСNi<sup>2+</sup> ко 2 классу опасности – высоко опасным веществам, а АСК, АСZn<sup>2+</sup> и АСMn<sup>2+</sup> – к 3 классу опасности – умеренно токсичным веществам.

**Вазотропное действие тестируемых салицилатов при однократном введении.** Реакция микрососудов кожи на АСК в дозах 5, 10 и особенно 20 мг/кг заключалась в достоверном изменении активности практически всех компонентов регуляции МЦР (рис. 2), что выражалось в увеличении перфузии на 68,80 % ( $p \leq 0,01$ ); амплитуд эндотелиальных ритмов, которые отражают воздействие гуморально-метаболических факторов на нутритивный кровоток и синхронизированы с периодическим релизингом оксида азота (NO) эндотелием сосудов [21, 27] на 86,36 % ( $p \leq 0,01$ ); миогенных ритмов, которые обусловлены периодической активностью гладкомышечных волокон артериол, приводящих к изменению диаметра их просвета [21] на 69,89 % ( $p \leq 0,01$ ); нейрогенных осцилляций, которые отражают активность со стороны симпатических адренергических нервных волокон, а их влияние локализуется на гладкомышечных стенках микрососудов [21, 28] на 78,68 % ( $p \leq 0,01$ ), сердечных (пульсовая волна со стороны артерий) на 67,75 % ( $p \leq 0,01$ ) и дыхательных ритмов (присасывающее действие «дыхательного насоса» со стороны вен) на 69,40 % ( $p \leq 0,01$ ) на фоне снижения миогенного (на 53,81, %;  $p \leq 0,01$ ) и нейрогенного тонусов (на 55,70 %;  $p \leq 0,01$ ), снижения периферического сопротивления, увеличения диаметра прекапилляров, что приводит к развитию вазодилатации, увеличению притока крови в нутритивное русло, объемной скорости кровотока в нутритивных микрососудах (на 71,67 %;  $p \leq 0,01$ ) на фоне уменьшения ненутритивного кровотока (на 48,85 %;  $p \leq 0,001$ ). Анализ «структура-эффект» показал, что координационные соединения АСК, в которых помимо лиганда, обладающего биоактивными свойствами, присутствует металл-микроэлемент вызвали разнонаправленные вазотропные эффекты, которые можно разделить на три основных типа.

Первый из них развивался у животных после введения им АССо<sup>2+</sup> в дозах 5, 10 и 20 мг/кг и АСZn<sup>2+</sup> в дозах 5 и 10 мг/кг и заключался в усилении вазодилатации и гиперемии, которые по некоторым параметрам превосходят таковые при введении крысам АСК в тех же дозах (рис. 2).

Наиболее выраженные изменения характерны для животных, которым вводили АССо<sup>2+</sup> в дозе 20 мг/кг: увеличение ПМ, отражающего усредненную величину перфузии в капиллярах, артериолах и венулах [29, 30] на 67,40 % ( $p \leq 0,01$ ), снижение вазомоторного тонуса на 67,99 % ( $p \leq 0,05$ ), периферического сопротивления на 75,83% ( $p \leq 0,01$ ), а, следовательно, развитие вазодилатации. Следует отметить, что АССо<sup>2+</sup> в большей степени, чем АСК увеличивал метаболическую активность эндотелия на 124,43 % ( $p \leq 0,01$ ), снижал жесткость сосудистой стенки резистивных микрососудов вследствие снижения симпатических прессорных влияний (снижение НТ на 23,29 % ( $p \leq 0,01$ ), уменьшал тонус прекапиллярных метартериол на 67,99 % ( $p \leq 0,01$ ), что при высоком притоке крови со стороны артериол и затрудненном оттоке крови со стороны венул (рост Ад на 105,25 %;  $p \leq 0,01$ ) привело к развитию гиперемии тканей у животных этой группы, что может привести к застойным

явлениям в данном отделе МЦР [31]. В отличие от АСК, усиление нутритивного кровотока по капиллярам и затрудненный отток крови со стороны венул вызвали усиление и шунтового нутритивного кровотока на 334,39 % ( $p \leq 0,01$ ) по артерио-венулярным анастомозам (АВА), которые играют роль тонких регуляторов капиллярного кровообращения: расширяясь при артериальной гиперемии, они разгружают капилляры от избытка крови.

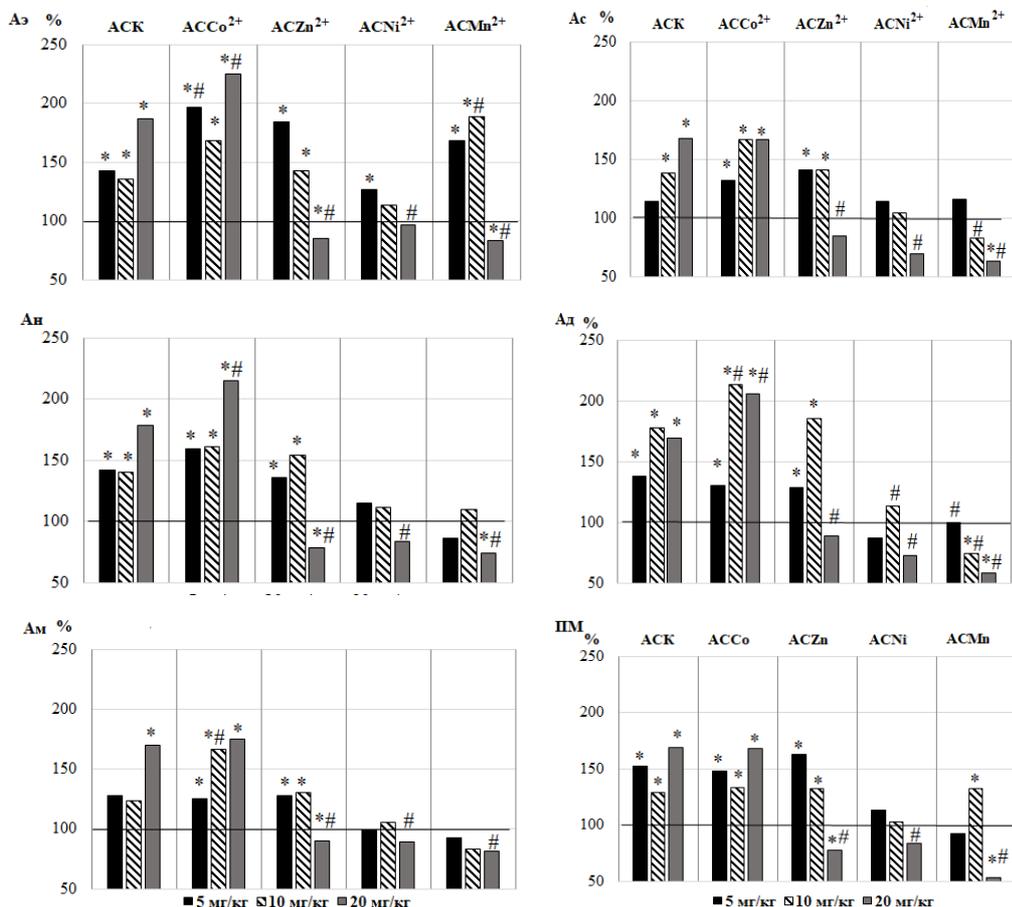


Рис. 2. Изменение амплитуд эндотелиальных (Аэ), нейрогенных (Ан), миогенных (Ам), пульсовых (Ас), дыхательных (Ад) ритмов и показателя микроциркуляции (ПМ) у животных после введения АСК и салицилатов ACCo<sup>2+</sup>, ACZn<sup>2+</sup>, ACNi<sup>2+</sup> и ACMn<sup>2+</sup> в дозах 5, 10 и 20 мг/кг (в % относительно значений в контрольной группе животных, принятых за 100%).

Примечания: \* – уровень достоверности различий относительно значений показателей в контрольной группе животных; # – уровень достоверности различий относительно значений показателей в группе животных, которым вводили ацетилсалициловую кислоту (АСК) по критерию Манна-Уитни.

Данные изменения в регуляции МЦР в целом свидетельствуют о развитии гиперемии, которая в большей степени выявлена у животных после введения им АСК в дозе 20 мг/кг и сопровождалась изменением АД: повышением САД на 8,76 % ( $p \leq 0,001$ ) на фоне снижения ДАД на 6,31 % ( $p \leq 0,01$ ) относительно контроля (рис. 3 – а, б).

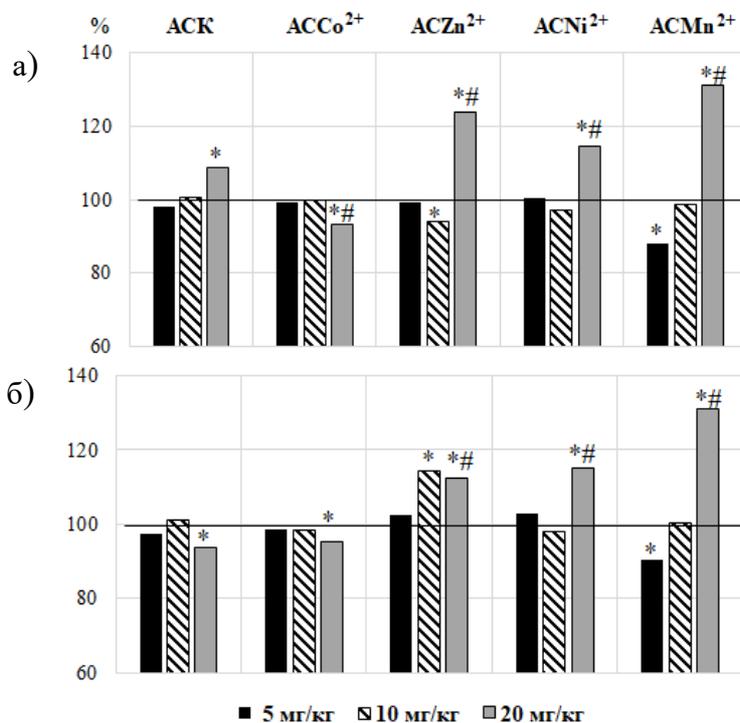


Рис. 3. Изменение систолического (а) и диастолического (б) артериального давления у животных после введения АСК и салицилатов АСCo<sup>2+</sup>, АСZn<sup>2+</sup>, АСNi<sup>2+</sup> и АСMn<sup>2+</sup> в дозах 5, 10 и 20 мг/кг (в % относительно значений в контрольной группе животных, принятых за 100%).

Примечания – те же, что на рис. 2.

Аналогично АСК, статистически значимых изменений показателей АД при введении животным АСCo<sup>2+</sup> и АСZn<sup>2+</sup> в дозе 5 мг/кг не наблюдалось, однако увеличение дозы АСZn<sup>2+</sup> до 10 мг/кг привело к снижению САД на 5,63 % ( $p \leq 0,05$ ) на фоне увеличения ДАД на 14,35 % ( $p \leq 0,05$ ) относительно значений исследуемых показателей у животных контрольной группы (рис. 3). Увеличение дозы АСCo<sup>2+</sup> до 20 мг/кг привело к достоверному снижению обоих показателей АД, что обусловлено снижением периферического сопротивления вследствие уменьшения тонуса микрососудов.

Второй тип изменений тканевой МГД развивался после введения животным салицилатов Mn<sup>2+</sup> и Ni<sup>2+</sup> в дозах 5 и 10 мг/кг и характеризовался ослаблением вазодилатации и уменьшением гиперемии по сравнению с АСК. Так, при введении

животным салицилата  $Mn^{2+}$  в дозе 5 мг/кг произошло достоверное увеличение амплитуды только одного ритма – Аэ на 75,80 % ( $p \leq 0,05$ ) (рис. 2) на фоне снижения САД на 12,08 % ( $p \leq 0,05$ ), ДАД на 9,63 % ( $p \leq 0,05$ ) относительно значений этих показателей в контрольной группе животных (рис. 3).

При увеличении дозы  $АСMn^{2+}$  до 10 мг/кг наблюдалось дальнейшее увеличение Аэ (на 110,60 %;  $p \leq 0,05$ ), что сопровождалось снижением Ад на 29,10 % ( $p \leq 0,05$ ) и увеличением ПМ на 38,00 % ( $p \leq 0,05$ ) относительно значений в контрольной группе животных (рис. 2), однако достоверных изменений системного АД при этом не зарегистрировано (рис. 3).

Вазотропный эффект  $АСNi^{2+}$  в дозе 5 мг/кг также заключался только в увеличении метаболической активности эндотелия на 75,10 % ( $p \leq 0,05$ ) и снижении модуляции микрокровотока, а в дозе 10 мг/кг данное соединение оказалось не эффективным относительно показателей МЦ. Статистически значимых изменений показателей АД не наблюдалось (рис. 2, 3 – а, б).

Введение животным  $АСNi^{2+}$  и  $АСMn^{2+}$  в дозах 5 и 10 мг/кг не привело к статистически значимому изменению соотношения притока крови к венозному оттоку относительно контроля ( $p \geq 0,05$ ), однако  $АСNi^{2+}$  в дозах 5 и 10 мг/кг и  $АСMn^{2+}$  в дозе 10 мг/кг вызвали увеличение значений данного показателя относительно животных, которым вводили АСК ( $p \leq 0,05$ ), указывающее на уменьшение кровенаполнения венозного отдела МЦР.

Третий тип изменений со стороны МГД и АД развивался у крыс при введении им  $АСZn^{2+}$ ,  $АСNi^{2+}$  и особенно  $АСMn^{2+}$  в дозе 20 мг/кг (рис. 2, 3) и характеризовался уменьшением перфузии (максимально при  $АСMn^{2+}$  на 47,20 %;  $p \leq 0,05$ ), связанным со снижением Аэ (максимально при введении  $АСMn^{2+}$  на 17,05 %;  $p \leq 0,05$ ), а, следовательно, уменьшением секреции NO, увеличением МТ (максимально при  $АСMn^{2+}$  на 122,88 %;  $p \leq 0,01$ ), и НТ (максимально при  $АСMn^{2+}$  на 155,66 %;  $p \leq 0,01$ ), констрикцией метартериол и прекапилляров, снижением лабильности сосудистой стенки и возрастанием её жесткости, что приводит к увеличению периферического сопротивления, уменьшению количества функционирующих капилляров и существенно ограничивает возможность кровенаполнения микрососудов. Следствием повышения периферического сопротивления преимущественно в области резистивных микрососудов явилось и уменьшение объемной скорости общего, нутритивного и шунтового кровотоков (максимально при  $АСMn^{2+}$  на 60–90 %;  $p \leq 0,01$ ), количества функционирующих капилляров и развитие ишемии. Снижалось и кровенаполнение веноулярного звена МЦР, что может служить защитным механизмом, приводящим к закрытию АВА для сохранности тканевого кровотока при тех или иных нарушениях, а при ишемии способствует усилению притока крови в капилляры [23]. Благодаря увеличению общего периферического сопротивления микрососудов вследствие констрикции артериол и прекапилляров, повысились и основные компоненты АД, что привело к развитию артериальной гипертензии (рис. 3). Наиболее выраженный рост САД и ДАД у крыс зарегистрирован в ответ на введение им  $АСMn^{2+}$  в дозе 20 мг/кг (САД на 31,23 % ( $p \leq 0,05$ ), ДАД на 30,94 % ( $p \leq 0,05$ )) относительно значений исследуемых показателей у животных контрольной группы (рис. 3).

Таким образом, у животных при введении им АСК и салицилатов металлов развиваются противоположные варианты вазотропных изменений: вазодилатация на фоне гипотензии и вазоконстрикция, связанная с гипертензией. Следует обратить внимание, что эффекты, связанные с изменением МГД и АД, проявлялись в значительной мере при увеличении дозы тестируемых координационных соединений до 20 мг/кг.

**Изменение ЧСС под влиянием однократного введения тестируемых соединений.** Под влиянием АСК в дозах 5, 10 и 20 мг/кг у крыс зарегистрировано снижение ЧСС в среднем на 15,00 % ( $p \leq 0,05$ ) относительно значений в контрольной группе, которое не зависело от дозы (рис. 4). Введение животным тестируемых салицилатов также привело к отрицательному хронотропному эффекту на сердечный ритм лабораторных животных, однако выраженность эффекта зависела как от биметалла, входящего в состав координационного соединения, так и от дозы вводимого вещества.

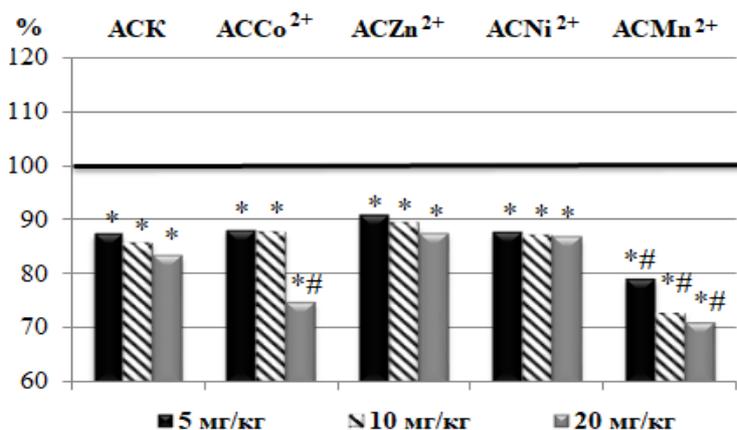


Рис. 4. Изменение частоты сердечных сокращений у животных после введения АСК и салицилатов АССо<sup>2+</sup>, АСZn<sup>2+</sup>, АСNi<sup>2+</sup> и АСMn<sup>2+</sup> в дозах 5, 10 и 20 мг/кг (в % относительно значений в контрольной группе животных, принятых за 100%).

Примечания – те же, что на рис. 2.

Максимальный брадикардический эффект зарегистрирован при введении АССо<sup>2+</sup> в дозе 20 мг/кг (на 25,31 % ( $p \leq 0,05$ )) и АСMn<sup>2+</sup> в дозах 5 (на 21,01 %;  $p \leq 0,05$ ), 10 мг/кг (на 27,29 %;  $p \leq 0,05$ ) и 20 мг/кг (на 28,13 %;  $p \leq 0,05$ ), выраженный сильнее, чем у животных, которым вводили АСК в тех же дозах (рис. 4).

В клинической практике показано применение АСК в терапевтической дозе длительно (14 дней и более). Поэтому актуальным явилось исследование влияния АСК и тестируемых салицилатов на показатели МЦ и ЦГ крыс при многократном введении в течение 20 суток в дозе 10 мг/кг, которая соответствует терапевтической для человека, и выявление зависимости эффектов данных соединений от продолжительности их введения.

*Динамика вазотропных показателей под влиянием многократного введения тестируемых соединений.* Анализ полученных результатов показал, что при введении АСК в течение 1–15 дней сохранялись вазотропные реакции, связанные с вазодилатацией микрососудов (рис. 5).

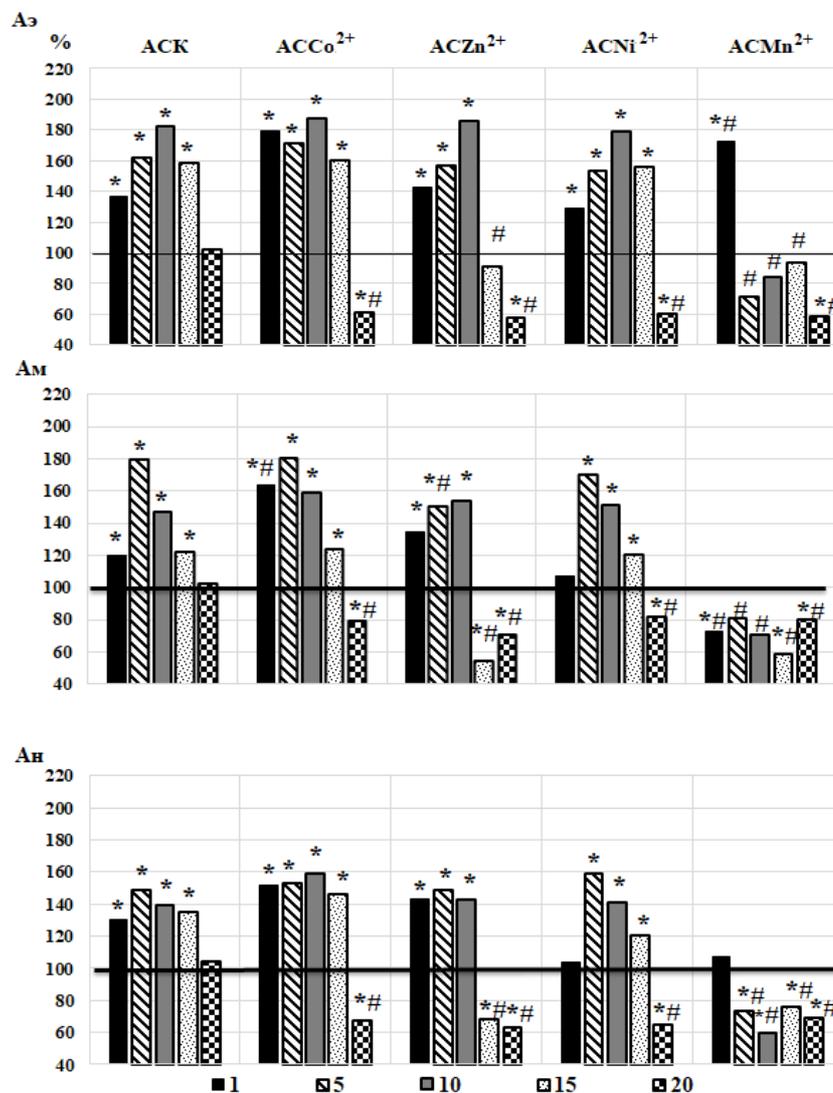


Рис. 5. Динамика амплитуд эндотелиальных (Аэ), миогенных (Ам), нейрогенных (Ан) ритмов у животных в течение 20-тикратного введения АСК и салицилатов АССо<sup>2+</sup>, АСZn<sup>2+</sup>, АСNi<sup>2+</sup> и АСMn<sup>2+</sup> (относительно значений в контрольной группе животных, принятых за 100 %).

*Примечания* – те же, что на рис. 2.

Однако более длительное введение АСК (15–20 сутки) нивелировало различия с контрольной группой, что свидетельствует о снижении гиперемии сосудов (рис. 5). Тестируемые салицилаты вызвали разнонаправленные вазотропные изменения, которые зависели как от металла, входящего в их состав, так и от продолжительности их введения.

Первый тип изменений развивался у животных при многократном введении (в течение 1–15 дней) салицилатов кобальта, цинка и никеля в дозе 10 мг/кг (рис. 5). У животных этих групп развивались реакции, характерные для АСК, а именно увеличение перфузии, диаметра прекапилляров и количества функционирующих капилляров, снижение периферического сопротивления, а, следовательно, вазодилатация микрососудов, увеличение притока крови в нутритивное микрососудистое русло на фоне уменьшения венозного оттока. Описанные изменения периферической МГД вызвали тенденцию к снижению АД (рис. 6), достоверно выраженному после 10-тикратного введения  $АСС\text{Co}^{2+}$  (САД на 10,49 %;  $p \leq 0,05$  и ДАД на 14,43 %;  $p \leq 0,05$ ).

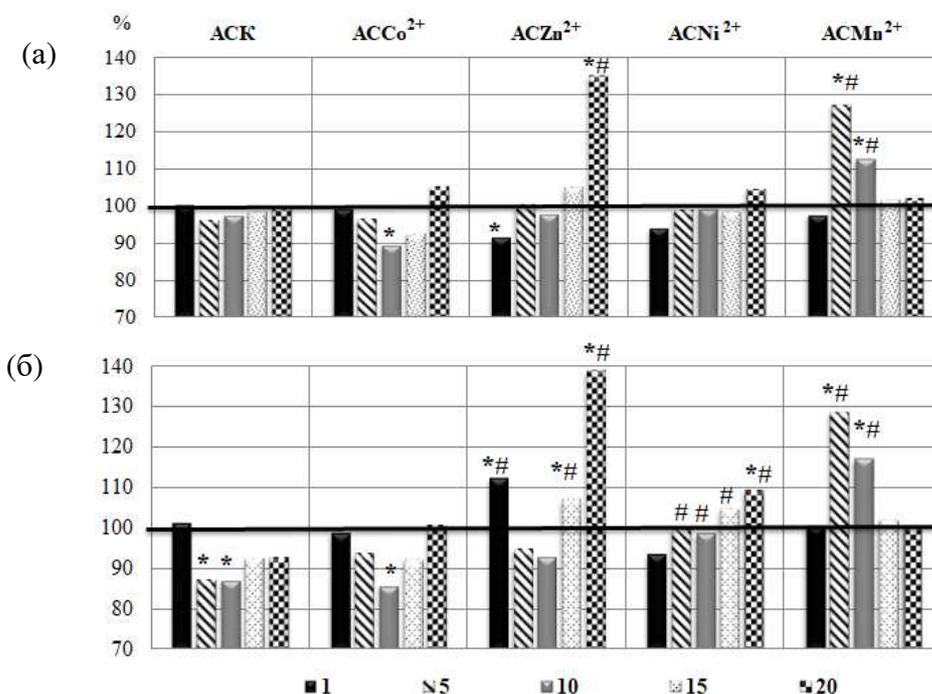


Рис. 6. Динамика систолического (а) и диастолического (б) артериального давления после введения АСК и салицилатов  $АСС\text{Co}^{2+}$ ,  $АСZn^{2+}$ ,  $АСNi^{2+}$  и  $АСMn^{2+}$  в разные сроки эксперимента (1, 5, 10, 15, 20 сутки) относительно значений в контрольной группе животных, принятых за 100 %.

Примечания – те же, что на рис. 2.

Однако после 15–20-тикратных инъекций производных АСК с кобальтом, цинком, никелем, а также 5–20-тикратных введений салицилата марганца в ЛДФ-граммах крыс зарегистрированы изменения, характерные для третьего типа изменений тканевой МЦ и ЦГ (рис. 5, 6), а именно – вазоконстрикция метартериол и прекапилляров, снижение лабильности сосудистой стенки и возрастание её жесткости. Это привело к увеличению периферического сопротивления, уменьшению количества функционирующих капилляров, что существенно ограничивает возможность кровенаполнения микрососудов.

Данные изменения МГД способствовали росту АД (наиболее выраженные изменения происходили после 5-тикратного введения  $АСMn^{2+}$  (САД на 27,34 %;  $p \leq 0,001$  и ДАД на 28,65 %;  $p \leq 0,001$ ) и 20-тикратного введения  $АСZn^{2+}$  (САД на 35,21 % ( $p \leq 0,001$ ) и ДАД на 38,95 % ( $p \leq 0,001$ )) относительно значений этих показателей в контрольной группе животных (рис. 6) и происходили на фоне увеличения кровенаполнения веноулярного звена МЦ русла, что может служить противоишемическим защитным механизмом, способствующим усилению притока крови в капилляры.

Таким образом, под влиянием многократного введения АСК и салицилатов кобальта, цинка, никеля и марганца произошла модуляция показателей каждой МЦ и АД экспериментальных животных, которая зависела как от металла в составе вводимого соединения, так и от продолжительности его введения, что демонстрирует кумулятивный эффект салицилатов металлов.

**Динамика ЧСС у крыс под влиянием многократного введения тестируемых соединений.** При ежедневном введении крысам в течение 20 дней АСК и тестируемых салицилатов в дозе 10 мг/кг после снижения ЧСС в первые сутки в последующие дни исследования наблюдали положительный хронотропный эффект, связанный с увеличением ЧСС после инъекций  $АСNi^{2+}$  (10–15 сутки, максимально на 19,05 %;  $p \leq 0,05$ ),  $АСMn^{2+}$  (10–20 сутки, максимально на 32,80 %;  $p \leq 0,05$ ),  $АССo^{2+}$  (20 сутки) и особенно  $АСZn^{2+}$  (5–20 сутки, максимально на 44,66 %;  $p \leq 0,05$ ) относительно значений этого показателя в контроле.

Следует отметить, что после 20-тикратного введения АСК и  $АСNi^{2+}$  отмечено приближение значений этого показателя к уровню контрольных ( $p \geq 0,05$ ) (рис. 7).

Объективно оценить механизмы изменения ЧСС у лабораторных животных под влиянием АСК и ее производных возможно в результате анализа изменений ЭКГ.

**Изменение показателей ЭКГ под влиянием тестируемых соединений.**

Анализ продолжительности комплекса *QRS* показал, что после введения животным АСК и тестируемых салицилатов во всех исследуемых дозах наблюдалось статистически значимое увеличение длительности комплекса, наиболее выраженное после введения  $АССo^{2+}$  в дозе 20 мг/кг на 150,00 % ( $p \leq 0,05$ ) относительно значений этого показателя в контрольной группе животных и на 100,00 % ( $p \leq 0,05$ ) относительно значения данного показателя в группе животных, получавших АСК (рис. 8 – а).

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ КАРДИОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ ...

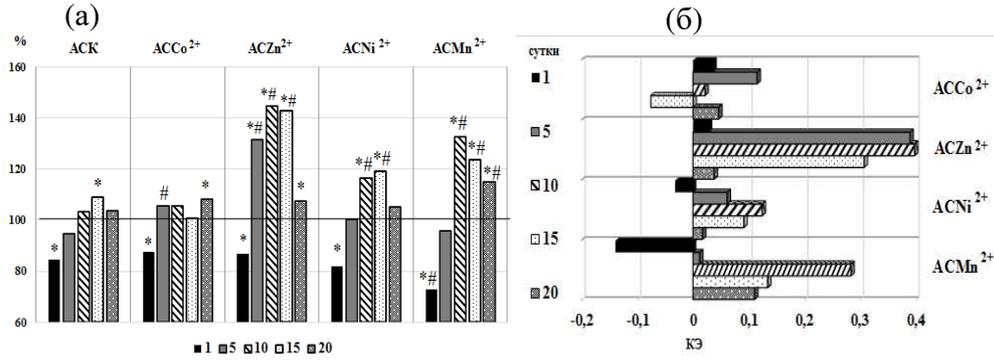


Рис. 7. Динамика частоты сердечных сокращений после введения АСК и салицилатов ACCo<sup>2+</sup>, ACZn<sup>2+</sup>, ACNi<sup>2+</sup> и ACMn<sup>2+</sup> в разные сроки эксперимента (1, 5, 10, 15, 20 сутки) (а – в % относительно значений в контрольной группе животных, принятых за 100%; б – коэффициент эффективности (КЭ) в сравнении со значениями этого показателя у животных при введении АСК).

Примечания: те же, что на рис. 2.

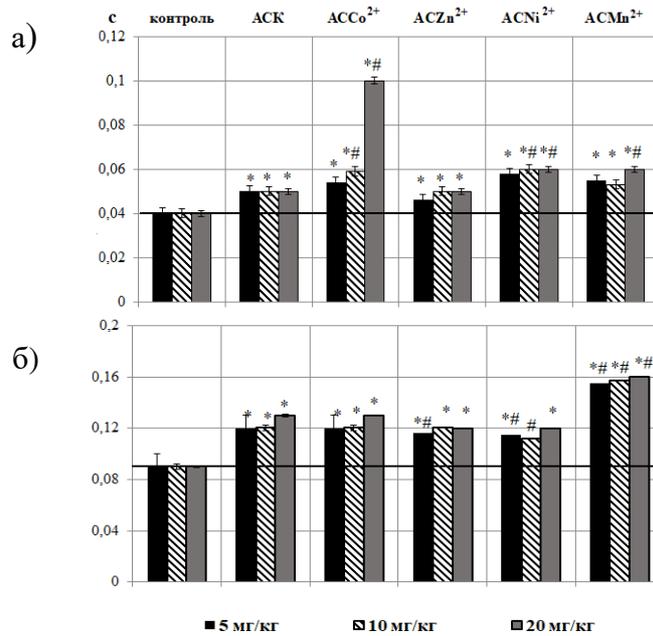


Рис. 8. Изменения длительности комплекса QRS (а) и интервала QT (б) при введении АСК и салицилатов ACCo<sup>2+</sup>, ACZn<sup>2+</sup>, ACNi<sup>2+</sup> и ACMn<sup>2+</sup> относительно значений в контрольной группе животных.

Примечания: те же, что на рис. 2.

Анализ длительности интервала QT (электрическая систола сердца), показал, что после введения крысам АСК и всех салицилатов во всех исследуемых дозах наблюдалось статистически значимое увеличение длительности интервала QT (рис. 8 – б), наиболее выраженное после введения животным АСМп<sup>2+</sup> во всех дозах в среднем на 74,81 % ( $p \leq 0,001$ ) относительно значения этого показателя в контрольной группе и на 27,69 % ( $p \leq 0,001$ ) относительно значения данного показателя в группе животных, получавших АСК.

**Изменение гистологических показателей СОЖ под влиянием многократного введения тестируемых соединений.** Как показали результаты гистологического исследования, многократное введение животным АСК, АССо<sup>2+</sup> и АСZn<sup>2+</sup> в дозе 10 мг/кг привело к утолщению СОЖ пищеводной части за счет гиперкератоза, который связан с ороговением эпителия у животных этих экспериментальных групп (рис. 9).

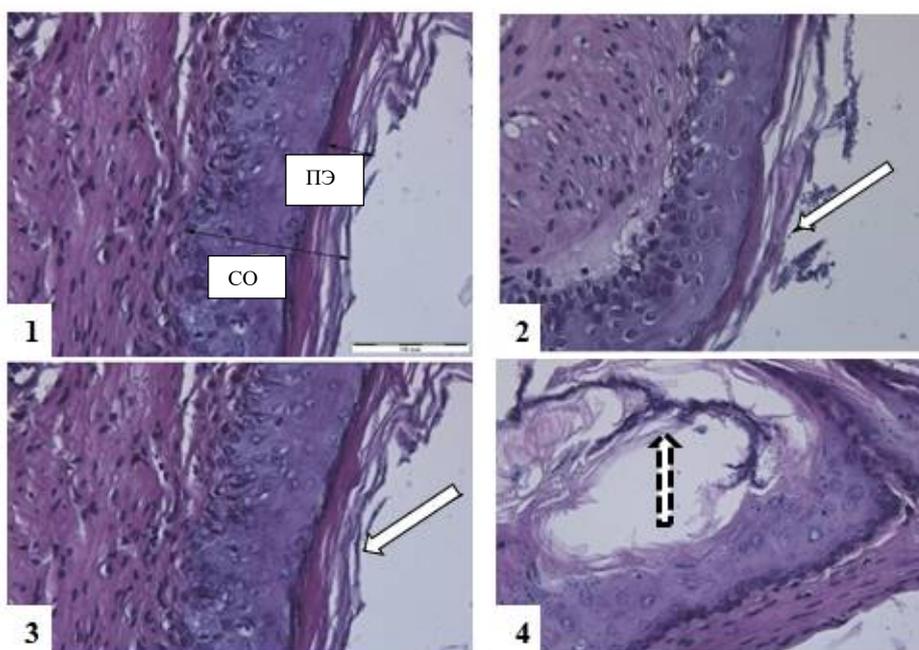


Рис. 9. Гистологические изменения толщины слизистой оболочки пищеводной части желудка у крыс контрольной группы (1) и получавших инъекции АСК (2), салицилатов кобальта (3) и никеля (4). Гематоксилин-эозин. Объектив 40х.

*Примечания:* ПЭ – покровный эпителий, СО – слизистая оболочка, сплошная белая стрелка – гиперкератоз, пунктирная белая стрелка – десквамация.

Подтверждением этому являются результаты морфометрического анализа, показавшие статистически значимое увеличение толщины СОЖ пищеводной части на 21,18 % ( $p \leq 0,05$ ), 46,00 % ( $p \leq 0,05$ ) и 44,44 % ( $p \leq 0,05$ ) соответственно

относительно значений данного показателя у крыс контрольной группы, что, по-видимому, явилось следствием утолщения плоского эпителия СОЖ.

Введение  $ACNi^{2+}$ , напротив, привело к истончению СОЖ пищеводной части: толщина СОЖ и плоского эпителия уменьшились на 35,50 % ( $p \leq 0,05$ ) и 7,51 % ( $p \leq 0,05$ ) соответственно относительно значений этих показателей у животных, получавших АСК. Известно, что десквамация (отслаивание) слизистой является следствием гиперкератоза, при котором происходит ослабление межклеточных контактов и нарушение интеграции эпителиального пласта [32].

В большей степени введение животным АСК и салицилатов привело к изменениям толщины покровного эпителия слизистой тела желудка. Наиболее существенное уменьшение толщины покровного эпителия СОЖ относительно значений в контрольной группе животных выявлено у крыс, получавших инъекции АСК (на 53,45 %;  $p \leq 0,05$ ) (рис. 10), что, по-видимому, является следствием повреждения СОЖ при длительном приеме этого препарата, зарегистрированного во многих исследованиях [10, 33, 34]

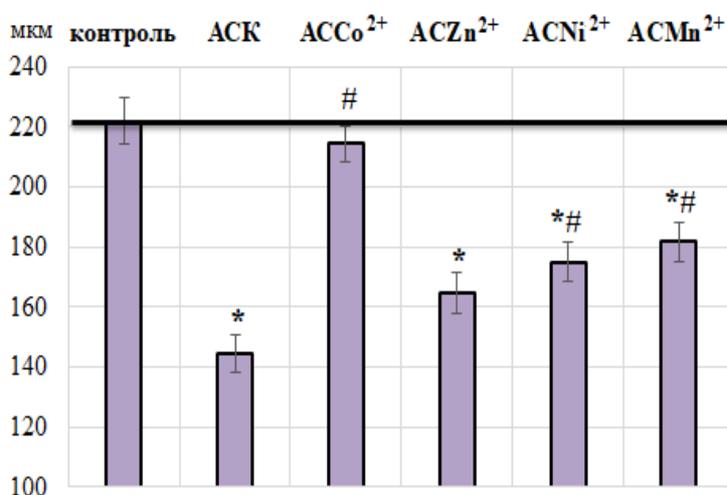


Рис. 10 Изменение толщины покровного эпителия слизистой оболочки тела желудка у крыс контрольной группы и крыс, получавших инъекции АСК,  $ACCo^{2+}$ ,  $ACZn^{2+}$ ,  $ACNi^{2+}$  и  $ACMn^{2+}$ . Гематоксилин-эозин. Объектив 40х.

Примечания: те же, что на рис. 2.

При многократном введении  $ACZn^{2+}$  отмечено достоверное снижение данного показателя на 25,74 % ( $p \leq 0,05$ ),  $ACNi^{2+}$  – на 18,11 % ( $p \leq 0,05$ ) и  $ACMn^{2+}$  – на 21,14 % ( $p \leq 0,05$ ) относительно значений в контрольной группе животных, однако значения этого показателя были на 13,96 %, 21,02 % ( $p \leq 0,05$ ) и 25,65 % ( $p \leq 0,05$ ) выше, чем у крыс, которым вводили АСК (рис. 9-б).

Таким образом, многократное введение животным тестируемых салицилатов приводит к уменьшению толщины покровного эпителия СОЖ, однако, выраженное в меньшей степени, чем после введения АСК.

Проведенные исследования позволили установить, что под влиянием АСК и салицилатов кобальта, цинка, никеля и марганца произошла эффективная модуляция показателей МЦР и ЦГ, выявлена связь между ними.

Такие изменения со стороны МЦР и ЦГ, возможно, связаны со способностью АСК и указанных салицилатов блокировать ЦОГ с последующим блокированием синтеза из арахидоновой кислоты простагландинов ( $\text{PGF}_2$  и  $\text{PGE}_2$ ) клетками гладкой мускулатуры кровеносных сосудов.  $\text{PGF}_2$  является простаноидом с сосудосуживающими свойствами, а  $\text{PGE}_2$ , напротив, вызывает вазодилатацию, увеличивает проницаемость сосудов, способствуя экстравазации жидкости [35, 36]. Ингибирование ЦОГ-1 тромбоцитов приводит к угнетению функции тромбоксан-синтазы и, в результате, уменьшению образования активного проагреганта тромбоксана  $\text{A}_2$  ( $\text{TXA}_2$ ), который является одним из основных индукторов агрегации тромбоцитов и мощным вазоконстриктором, действующим через путь Gq-белка. При этом уровень простаглицина ( $\text{PGI}_2$ ), мощного естественного вазодилатора и ингибитора адгезии тромбоцитов к эндотелию, действующему аналогично эндотелиальному оксиду азота, сохраняется достаточно высоким [4, 37], что и приводит к развитию вазодилатации, а в некоторых случаях и гиперемии (рис. 11).

Следует обратить внимание, что в отличие от  $\text{TXA}_2$ , в синтезе которого основную роль играет ЦОГ-1, в образовании простаглицина  $\text{PGI}_2$  принимают участие обе изоформы ЦОГ [38, 39]. Именно с этим связана эффективность малых доз АСК, поскольку больший ингибирующий эффект оказывается на тромбоциты, а не на сосудистую стенку, где происходит образование простаглицина [38].

В настоящем исследовании впервые установлено, что комплексообразование АСК с металлами может привести не только к усилению или ослаблению эффектов, свойственных молекуле-предшественнице, но и к появлению новых кардиотропных свойств, отличных от АСК. Данные эффекты зарегистрированы у крыс при введении им  $\text{ACZn}^{2+}$ ,  $\text{ACNi}^{2+}$  и особенно  $\text{ACMn}^{2+}$  в большой дозе – 20 мг/кг, которая соответствует однократной нагрузочной для человека, а также после длительного применения – 15–20-тикратных инъекций  $\text{ACCo}^{2+}$ ,  $\text{ACZn}^{2+}$ ,  $\text{ACNi}^{2+}$ , 5–20-тикратных введений  $\text{ACMn}^{2+}$  в дозе 10 мг/кг, которая соответствует терапевтической для человека, и заключались в увеличении общего периферического сопротивления микрососудов вследствие констрикции артериол и прекапилляров, повышении основных компонентов АД. С другой стороны, при повышении АД гладкие мышцы артериол сокращаются, вызывая увеличение их тонуса. Данный 3 тип вазотропных изменений, по всей видимости, связан с тем, что данные производные АСК с металлами ацетируют ЦОГ-1 во всех тканях, включая эндотелиальные клетки, одновременно с уменьшением синтеза тромбоксана  $\text{A}_2$  они, по крайней мере в высоких дозах (в наших исследованиях 20 мг/кг), могут тормозить образование простаглицина ( $\text{PGI}_2$ ) – природного антиагреганта и вазодилатора.

Индуцированное салицилатами этой группы одновременное ингибирование  $\text{TXA}_2$  и  $\text{PGI}_2$  оказывает противоположные по сравнению с салицилатами 1 и 2 групп эффекты на тонус сосудов, что и приводит к развитию микрососудистой вазоконстрикции, ишемии и артериальной гипертензии (рис. 11). При этом

снижение выработки простагландинов и  $\text{TXA}_2$  может предопределять как терапевтические, так и токсические свойства салицилатов.

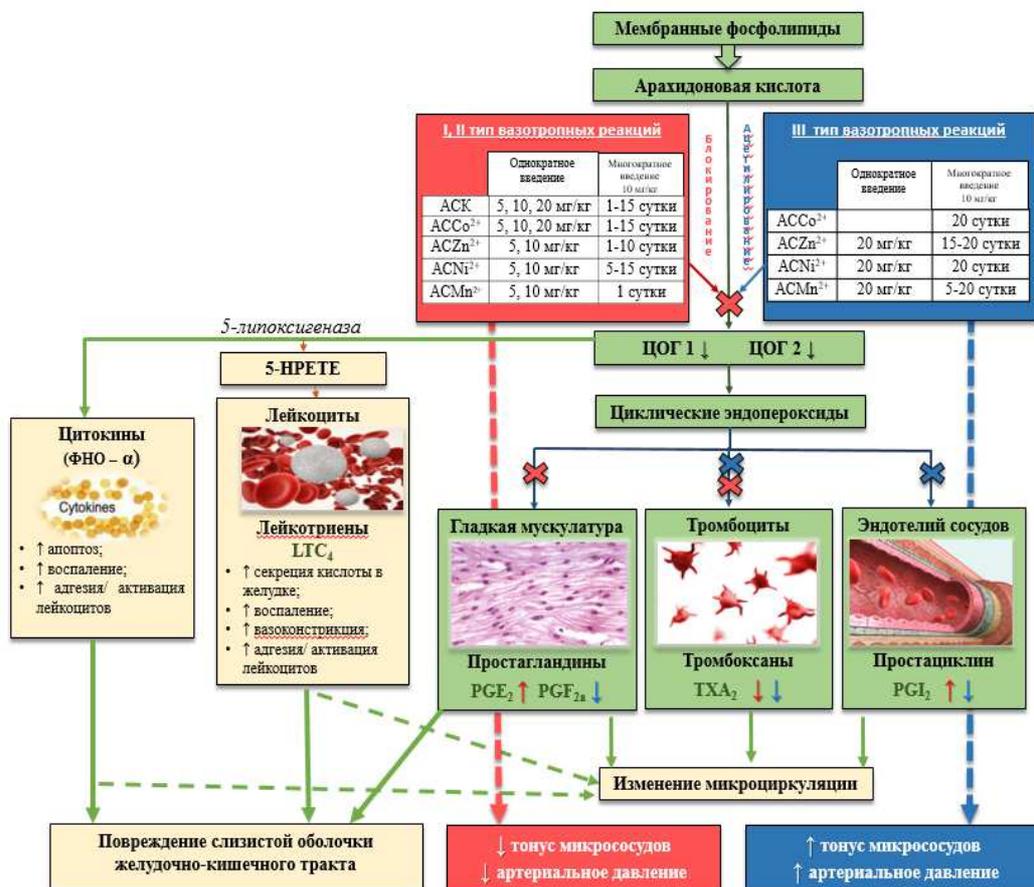


Рис. 11. Схема механизмов действия АСК и координационных соединений  $\text{ACCo}^{2+}$ ,  $\text{ACZn}^{2+}$ ,  $\text{ACNi}^{2+}$  и  $\text{ACMn}^{2+}$ .

Примечания: ЦОГ – циклооксигеназа,  $\text{PGE}_2$  - простагландин  $\text{E}_2$ ,  $\text{PGF}_{2a}$  –простагландин  $\text{F}_{2a}$ ,  $\text{PGI}_2$  - простациклин  $\text{I}_2$ ,  $\text{TXA}_2$  - тромбоксан  $\text{A}_2$ ,  $\text{LTC}_4$  – лейкотриен  $\text{C}_4$ , 5-НРЕТЕ - 5-гидропероксиэйкозатетраеновая кислота, ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухоли альфа; стрелки вниз / вверх – уменьшение / увеличение эффекта (синтеза).

Есть мнение, что уменьшение синтеза простациклина  $\text{PGI}_2$  на фоне существенного подавления образования  $\text{TXA}_2$  при приеме нестероидных противовоспалительных препаратов, которые являются ингибиторами ЦОГ–2, негативно влияет на риск развития сердечно–сосудистых заболеваний [40], однако данные клинических исследований свидетельствуют о том, что данный эффект наблюдается только при применении препаратов в высоких дозах, что

экспериментально доказано в настоящем исследовании. Как свидетельствуют литературные данные, изменение ЧСС под влиянием АСК и ее соединений с металлами также может происходить за счёт блокирования синтеза простагландинов (PGF<sub>2</sub> и PGE<sub>2</sub>) клетками гладкой мускулатуры кровеносных сосудов и увеличения вагусных влияний на сердце [41].

С ингибированием ЦОГ-1 с последующей блокадой эндогенного биосинтеза простагландинов E<sub>2</sub>, которые являются основными защитными резервами СОЖ, связывают и развитие НПВП-гастропатий, что приводит к существенному снижению кровотока и ишемии слизистой оболочки, а также утрате ее барьерных свойств за счет уменьшения продукции бикарбоната и слизи [13, 34, 42, 43]. Ингибирование ЦОГ, помимо вышеуказанных изменений, приводит к усилению синтеза лейкотриенов, активизирующих реакции воспаления, увеличение кислотности желудочного сока, нарушение микроциркуляции с выраженной вазоконстрикцией микрососудов и повреждение СОЖ (рис. 11). Считается, что поражение ЖКТ при приеме НПВП в первую очередь обусловлено системным эффектом препаратов, связанным с блокадой ЦОГ-1, а не их локальным раздражающим действием на слизистую оболочку. Вместе с тем, накоплена информация и о большом значении местного действия АСК на СОЖ. Предполагают, что АСК непосредственно или через провоспалительные цитокины может вызывать апоптоз эпителиальных клеток [44].

Таким образом, новые координационные соединения АСК, в которых помимо лиганда, обладающего биоактивными свойствами, присутствует металл-микроэлемент обладают не только более выраженными, но, зачастую, и качественно новыми по сравнению с АСК кардиотропными эффектами. По-видимому, это связано с тем, что по ряду критериев координационные соединения АСК с металлами имеют мультитаргетный характер биологического и химического действия, оказывая существенное влияние одновременно на несколько молекулярных мишеней: хелатирующие свойства циклооксигеназы, моноаминоксидазы, простагландины, липоксигеназы, процессы свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты, про- и противовоспалительные цитокины, противовоспалительные липидные медиаторы.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Новые координационные соединения АСК с катионами кобальта, цинка, никеля и марганца модифицируют кардиотропные эффекты АСК, приводя к изменениям показателей центральной и периферической (кожной) гемодинамики, ЭКГ сердца, которые зависят как от биметалла, входящего в состав комплексного соединения, так и от дозы и продолжительности его введения, что позволяет не только усилить или ослабить физиологические эффекты, характерные для ацетилсалициловой кислоты, но и получить совершенно новые, отличные от молекулы-предшественницы.
2. Соединения АСК с катионами металлов кобальта, цинка, никеля и марганца вызывают три типа вазотропных изменений: 1) усиление вазодилатации и гиперемии на фоне снижения артериального давления, обусловленное

- снижением периферического сопротивления вследствие уменьшения тонуса микрососудов, характерные для АСК, после введения салицилатов кобальта в дозах 5, 10 и 20 мг/кг и цинка в дозах 5 и 10 мг/кг; 2) ослабление вазодилатации и уменьшение гиперемии после введения салицилатов никеля и марганца в дозах 5 и 10 мг/кг; 3) развитие вазоконстрикции и ишемии на фоне гипертензии, не характерные для АСК, после введения салицилатов цинка, никеля и марганца в дозе 20 мг/кг.
3. Однократное введение крысам салицилатов кобальта, цинка, никеля и марганца в дозах 5, 10 и 20 мг/кг привело к характерному для АСК снижению ЧСС, однако под влиянием салицилатов кобальта в дозе 20 мг/кг и марганца в дозах 5, 10 и 20 мг/кг отрицательный хронотропный эффект выражен в большей степени, чем у животных, которым вводили АСК.
  4. Введение животным салицилатов кобальта, цинка, никеля и марганца в дозах 5, 10 и 20 мг/кг привело к изменению показателей ЭКГ крыс, аналогичному с крысами, которым вводили АСК: увеличение длительности комплекса QRS, наиболее выраженное после введения салицилата кобальта в дозе 20 мг/кг; увеличение длительности интервала QT, наиболее выраженное после введения салицилата марганца в дозах 5, 10 и 20 мг/кг относительно значений этого показателя у крыс контрольной группы и животных, получавших АСК.
  5. Установлена зависимость вазотропных реакций тестируемых соединений от продолжительности их введения: после ежедневного введения в дозе 10 мг/кг АСК и салицилатов кобальта (1–15 сутки), цинка (1–10 сутки), никеля (5–15 сутки) и марганца (1 сутки) выявлено увеличение перфузии, снижение периферического сопротивления, вазодилатация микрососудов на фоне гипотензии; после инъекции салицилатов кобальта и никеля (20 сутки), цинка (15–20 сутки) и марганца (5–20 сутки) зарегистрировано увеличение тонуса и общего периферического сопротивления микрососудов вследствие констрикции артериол и прекапилляров на фоне гипертензии.
  6. Установлена зависимость хронотропных эффектов тестируемых соединений в дозе 10 мг/кг от продолжительности их введения: после снижения ЧСС в результате однократного введения в последующие дни исследования выявлен положительный хронотропный эффект, связанный с увеличением ЧСС после инъекций салицилатов никеля (10–15 сутки), марганца (10–20 сутки), кобальта (20 сутки) и особенно цинка (5–20 сутки) относительно значений этого показателя в контроле и у крыс, которым вводили АСК.
  7. После введения крысам (20 дней, ежедневно, 10 мг/кг) салицилатов кобальта и цинка зарегистрировано однонаправленное с АСК увеличение толщины слизистой оболочки и плоского эпителия пищеводной части желудка и, напротив, истончение слизистой оболочки пищеводной части желудка после введения салицилата никеля; уменьшение толщины слизистой оболочки тела желудка после введения тестируемых салицилатов, однако выраженное в меньшей степени, чем после введения АСК, что может иметь решающее значение для снижения побочных эффектов АСК.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-33-70142 на экспериментальном оборудовании центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» кафедры физиологии человека и животных и биофизики Институт биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского».*

#### Список литературы

1. Bica K. In search of pure liquid salt forms of aspirin: ionic liquid approaches with acetylsalicylic acid and salicylic acid / K. Bica, C.Rijksen, M. Nieuwenhuysena // Phys. Chem. – 2010. – Vol. 12. – P. 2011–2017.
2. Sokolik J. Anti-inflammatory activities of copper (II) and zinc (II) 3,6-dimethylsalicylates and their equimolar mixture / J. Sokolik, I. Tumova, M. Blahova // ActaFacult. Farm. Univ.comenianae. – 2006. – Vol. 53, No 1. – P. 224–228.
3. Арзамасцев А. П. Фармацевтическая химия / А. П. Арзамасцев. – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 640 с.
4. Фармакогнозия. Конспект лекций для подготовки к экзамену / Кошевой О. Н., Ковалев В. Н., Ковалева А. М. и др.; под общ. ред. О. Н. Кошевой. – Изд-е 9, испр. и доп. – Х.: НФаУ, 2015. – 88 с.
5. Awtry E. H. Aspirin / E. H. Awtry, J. Loscalzo // Circulation. – 2000. – Vol. 101, № 10. – P. 1206–1218.
6. Rainsford K. D. Aspirin and related drugs / K. D. Rainsford // CRC Press, Sheffield, UK. – 2004. – 773 p.
7. Rubner G. Synthesis, Characterisation and Biological Evaluation of Copper and Silver Complexes based on Acetylsalicylic Acid / G. Rubner, K. Bendorf, A. Wellner // Arch. Pharm. Chem. Life Sci. – 2010. – Vol. 344. – P. 684–688.
8. Altinoz M. A. From epidemiology to treatment: Aspirin's prevention of brain and breast-cancer and cardioprotection may associate with its metabolite gentisic acid / M. A. Altinoz, I. Elmaci, S. Cengiz // Chemico-biological interactions. – 2018. – V. 291. – P. 29–39.
9. Collaborative metaanalysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. Antithrombotic Trialists' Collaboration. BMJ – 2002. – Vol. 324. – P. 71–86.
10. Lanas A. Cyclo-oxygenase-1/cyclo-oxygenase-2 non selectivenon-steroidalanti-inflammatory drugs:epidemiology of gastrointestinal events / A. Lanas // Dig Liver Dis. – 2001. – Vol. 33, Suppl 2. – P. 29–34.
11. Вельц Н. Ю. Нестероидные противовоспалительные препараты: проблемы безопасности применения / Н. Ю. Вельц, Е. О. Журавлева, Т. М. Букатина, Г. В. Кутехова // Безопасность и риск фармакотерапии. – 2018. – Т.6, №1. – С. 11–18.
12. Lai K. C. Lansoprazole for the prevention of recurrences of ulcer complications from long term low dose aspirin use / K. C. Lai, S. K. Lam // N. Engl. J. Med. – 2002. – V. 346. – P. 2033–2038.
13. Комаров А. Л. Гастроэнтеропатии, связанные с приемом ацетилсалициловой кислоты: как повысить безопасность лечения / А. Л. Комаров // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2009. – №4. – С. 65–72.
14. Григорьева А. С. Оптимизация фармакотерапевтической активности биометаллов при комплексобразовании с НПВП / А. С. Григорьева // Микроэлементы в медицине. – 2000. – Т. 2, № 1. – С. 17–22.
15. Чхайдзе И. З. Системный эндотелиит при новой коронавирусной инфекции COVID-19: гендерные и перинатальные риски / И. З. Чхайдзе, Д. А. Лиознов, Н. Н. Петрищев, Д. А. Ниаури // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2021. – Т. 20, №4. – С. 4–13.
16. Ардашев В. Н. Доказательная медицина: обзор современных математических методов анализа / В. Н. Ардашев, И. Е. Калёнова, Н. Б. Ляпкина / Под ред. В. В. Бояринцева. — М.: АВН УНМД Президента РФ, 2013. – 224 с.
17. Patrono C. Platelet-active drugs: the relationships among dose, effectiveness, and side effects / C. Patrono, B. Coller, J. E. Dalen // Chest. – 2001. – Vol. 119, № 1. – P. 39S–63S.
18. Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р. У. Хабриев. – М. : Медицина, 2005. – 832 с.

19. Reis R. The Importance of the Structural Similarity of Drugs Used for Depression and Inflammation. Two Comorbid Disease / R. Reis, B. Tunçer, H. Sipahi // *Current topics in medicinal chemistry*. – 2018. – Т. 18 №16. – С. 1416–1421.
20. Жарких Е. В. Оптическая неинвазивная диагностика функционального состояния микроциркуляторного русла пациентов с нарушением периферической микрогемодинамики / Е. В. Жарких, И. Н. Маковик, Е. В. Потапова // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2018. – Т. 17, N 3. – С. 23–32.
21. Крупаткин А. И. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. / Крупаткин А. И., Сидоров В. В. – М.: Медицина, 2005. – 254 с.
22. Humeau A. Time-frequency analysis of laser Doppler flowmetry signals recorded in response to a progressive pressure applied locally on anaesthetized healthy rats / A. Humeau, A. Kontka, P. Abraham // *Phys Med Biol*. – 2004. – V. 49(5). – P. 843–857.
23. Козлов В. И. Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке состояния и расстройств микроциркуляции крови. / Козлов В. И., Азизов Г. А., Гурова О. А., Литвин Ф. Б. – М.: РУДН. – 2012. – 31 с.
24. Крупаткин А. И. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность: рук-во для врачей. / Крупаткин А. И., Сидоров В. В. – М.: Либроком. – 2013. – 496 с.
25. Западнюк И. П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте: учебное пособие. / Западнюк И. П., Захария Е. А. – Киев: Вища школа. – 1983. – 383 с.
26. Коржевский, Д. Э. Основы гистологической техники [Текст] / Коржевский, Д. Э., Гиляров А. В. – СПб.: СпецЛит. – 2010. – 95 с.
27. Kvandal P. Regulation of human cutaneous circulation evaluated by laser Doppler flowmetry, iontophoresis, and spectral analysis: importance of nitric oxide and prostaglandins / P. Kvandal, A. Stefanovska // *Microvascular Research*. – 2003. – V. 65, №3. – P. 160–171.
28. Schmid-Schonbein H. Synergetic interpretation of patterned vasomotor activity in microvascular perfusion: discrete effects of myogenic and neurogenic vasoconstriction as well as arterial and venous pressure fluctuations / H. Schmid-Schonbein, S. Ziege, R. Grebe, V. Blazek, R. Spielmann, F. Linzenich // *Int. J. Microcir.* – 1997. – № 17. – P. 346–359.
29. Esther C. R. The critical role of tissue angiotensin-converting enzyme as revealed by gene targeting in mice / C. R. Esther, E. M. Marino, T. E. Howard, A. Machaud, P. Corvol, M. R. Capocchi, K. E. Bernstein // *J. Clin. Invest.* – 1997. – Vol. 99 №10. – P. 2375–2385. <https://doi.org/10.1172/JCI119419>
30. Лупинская З. А. Эндотелийсосудов – основной регулятор местного кровотока / З. А. Лупинская // *Вестник КРСУ*. – 2003. – №7. – P. 49–58.
31. Афоняшева Т. М. Эндотелиальная дисфункция. Возможности ранней диагностики / Т. М. Афоняшева // *Здоровье и образование в XXI веке*. – 2016. – Т. 11. – С. 103–104.
32. Непомнящих Д. Л. Биопсия в гастроэнтерологии: морфогенез общепатологических процессов / Д. Л. Непомнящих, Г. А. Лапий, С. В. Айдагулова, М. А. Бакарев // под ред. Г. И. Непомнящих. – Изд-во РАМН. – 2010. – 165 с.
33. Kelly J. P. Risk of aspirin-associated major upper-gastrointestinal bleeding with enteric-coated or buffered product / J. P. Kelly, D. W. Kaufman, J. M. Jurgelon // *Lancet*. – 1996. – V. 348 – P. 1413–1416.
34. Chan F. K. Preventing recurrent upper gastrointestinal bleeding in patient with *Helicobacter pylori* infection who are taken low dose aspirin or naproxen / F. K. Chan, S. C. Chung // *N. Engl. J. Med.* – 2001. – V. 344. – P. 967–973.
35. Solheim S. No difference in the effects of clopidogrel and aspirin on inflammatory markers in patients with coronary heart disease / S. Solheim // *Thromb. Haemost.* – 2006. – Vol. 96. – P. 660–664.
36. Gori A. M. The balance between pro- and anti-inflammatory cytokines is associated with platelet aggregability in acute coronary syndrome patients / A. M. Gori, F. Cesari, R. Marcucci // *Atherosclerosis*. – 2009 – V. 202. – P. 255–262.
37. De Meersman R. E. Acetylsalicylic acid and autonomic modulation / R. E. De Meersman, A. S. Zion, J. S. Lieberman, J. A. Downey // *Clinical Autonomic Research*. – 2000. – Vol. 10, № 4. – P. 197–201.
38. Clarke R. J. Suppression of thromboxane A2 but not systemic prostacyclin by controlled-release aspirin / R. J. Clarke, G. Mayo // *N. Engl. J. Med.* – 1991. – V. 325. – P. 1137–1141.

39. Mc Adam B.F., Catella-Lawson F. Systemic biosynthesis of prostacyclin by cyclooxygenase-2: the human pharmacology of a selective inhibitor of cyclooxygenase-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1999. – V. 96. – P. 272–277.
40. Генадинник А.Г. Влияние аспирина на тромбоцитарное звено гемостаза у пациентов с метаболическим синдромом / А. Г. Генадинник, А. А. Нелаева // *Сахарный диабет.* – 2005. – № 4. – С. 32–34.
41. Shi X. Antioxidant properties of aspirin: characterization of the ability of aspirin to inhibit silica-induced lipid peroxidation, DNA damage, NF- $\kappa$ B activation, and TNF- $\alpha$  production / X. Shi, M. Ding, Z. Dong, F. Chen, J. Ye, S. Wang, S. Leonard, V. Castranova, V. Vallyathan // *Molecular and cellular biochemistry.* – 1999. – 199(1-2). – 93p. doi:10.1023/a:1006934612368.
42. Becker J. S. Current approaches to prevent NSAID-induced gastropathy – COX selectivity and beyond / J. S. Becker, W. Domschke, T. // *PohleBr J ClinPharmacol.* – 2004. – Vol. 58№6. – P. 587–600.
43. Cryer B. Gastrointestinal safety of low-dose aspirin / B. Cryer // *Am J Manag Care.* – 2002. – Vol. 8(22 Suppl) – S701–8.
44. Tarnawski A. Gastricmicrovascular endothelium: a major target for aspirin-induced injury and arachidonic acid protection. A ultrastructural analysis in the rat/ A. Tarnawski, J. Stachura, H. Gergely, D. Hollander // *Eur J Clin Invest.* – 1990. –V. 20. – P. 432–40.

## **INDICATORS OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM OF RATS UNDER THE ACTION OF ACETYLSALICYLIC ACID AND ITS COMPLEX COMPOUNDS WITH METALS**

*Mironyuk I. S., Chuyan E. N.*

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

A comprehensive study was carried out and the physiological mechanisms of the cardiotropic effects of the newly synthesized coordination compounds of acetylsalicylic acid (ASA) with the metals of cobalt, zinc, nickel and manganese at doses of 5, 10 and 20 mg/kg were established with their single and multiple administration to experimental animals. Changes in oscillatory and non-oscillatory parameters of skin microhemodynamics, central hemodynamics, electrocardiography of the heart of laboratory animals under the influence of ASA and salicylates of cobalt, zinc, nickel and manganese were studied for the first time.

The structure-effect analysis showed that the coordination compounds of ASA, in which, in addition to the ligand with bioactive properties, a metal-microelement is present, caused multidirectional changes in the CVS indices. These changes depended both on the metal that is part of the compound, on the dose of the substance and the duration of their administration.

The study was carried out on the basis of the Center for collective use of scientific equipment "Experimental Physiology and Biophysics" (Department of Human and Animal Physiology and Biophysics, V. I. Vernadsky Crimean Federal University).

The experimental data obtained in our studies confirm the literature data, which show that in the process of complexation there is not only an increase or decrease in certain

effects that are characteristic of precursor molecules-salicylates, but also the appearance of new properties of derived substances.

It has been established that the severity of cardiotropic effects depends on the bimetal included in the complex compound with ASA, on the dose and duration of administration of the tested compounds. It was shown that salicylates of cobalt, zinc, nickel and manganese modify the effect of ASA on changes in the histological structure of the gastric mucosa of animals.

**Keywords:** mechanisms of cardiotropic action, vasotropic reactions, acetylsalicylic acid, metal salicylates, microhemodynamics, heart rate, blood pressure, cardiac electrocardiogram, gastric mucosa.

*The reported study was funded by RFBR, project number 20-33-70142.*

### References

1. Bica K., Rijkse C., Nieuwenhuysena M., In search of pure liquid salt forms of aspirin: ionic liquid approaches with acetylsalicylic acid and salicylic acid, *Phys. Chem.* **12**, 2011 (2010).
2. Sokolik J., Tumova I., Blahova M., Anti-inflammatory activities of copper (II) and zinc (II) 3,6-dimethylsalicylates and their equimolar mixture, *Acta Facult. Farm. Univ. comeniana*, **53(1)**, 224(2006).
3. Arzamashev A. P., *Pharmaceutical chemistry* (GEOTAR-MED, 2004), 640 p.
4. Koshevoy O. N., Kovalev V. N., Kovaleva A. M., *Pharmacognosy. Summary of lectures for exam preparation* (2015), 88 p.
5. Awtry E. H., Loscalzo J., Aspirin, *Circulation*, **101(10)**, 1206 (2000).
6. Rainsford K. D., *Aspirin and related drugs* (CRC Press, Sheffield, UK, 2004). 773.
7. Rubner G., Bendorf K., Wellner A., Synthesis, Characterisation and Biological Evaluation of Copper and Silver Complexes based on Acetylsalicylic Acid, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **344**, 684 (2010).
8. Altinoz M. A. Elmaci I., Cengiz S., From epidemiology to treatment: Aspirin's prevention of brain and breast-cancer and cardioprotection may associate with its metabolite gentisic acid, *Chemico-biological interactions*. **291**, 29 (2018).
9. Collaborative meta analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *Anti-thrombotic Trialists' Collaboration*. **324**, 71 (2002).
10. Lanasa A., Cyclo-oxygenase-1/cyclo-oxygenase-2 non selective non-steroidal anti-inflammatory drugs: epidemiology of gastrointestinal events, *Dig Liver Dis.* **33**, 29 (2001).
11. Velts N. Yu., Zhuravleva E. O., Bukatina T. M., Kutekhova G. V., Non steroidal anti-inflammatory drugs: problems of safe use. *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. **6(1)**, 11 (2018).
12. Lai K. C. and Lam S. K., Lansoprazole for the prevention of recurrences of ulcer complications from long term low dose aspirin use *N. Engl. J. Med.* **346**, 2033 (2002).
13. Komarov A. L., Gastroenteropathy associated with the intake of acetylsalicylic acid: how to improve the safety of treatment, *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*, **4**, 65 (2009).
14. Grigoriev A. S., optimization of the pharmacological activity of biometals in the complexation of NSAIDs, *trace elements in medicine*, **2 (1)**, 17 (2000).
15. Chkhaidze I. Z., Lioznov D. A., Petrishchev N. N., Nouri D. A., Systemic endothelium in new coronavirus infection COVID-19: gender and perinatal risks, *Regional circulation and microcirculation*. **20 (4)**, 4 (2021).
16. Ardashov V. N., Kalenova I. E., Lyapkova N. B., *Evidence-based medicine: a review of modern mathematical methods of analysis* (AVN of the UNMD of the President of the Russian Federation, 2013), 224 p.
17. Patrono C., Collier B., Dalen J. E. Platelet-active drugs: the relationships among dose, effectiveness, and side effects, *Chest*. **119**, 1, 39S (2001).

18. Khabriev R. U., Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances, (M.: Medicine, 2005), 832 p.
19. Reis R., Tunçer B., Sipahi H., The Importance of the Structural Similarity of Drugs Used for Depression and Inflammation. Two Comorbid Disease, *Current topics in medicinal chemistry*. **18 (16)**, 1416 (2018).
20. Zharkikh E. V. Makovik I. N., Potapova E. V., Optical noninvasive diagnostics of the functional state of the microcirculatory bed of patients with impaired peripheral microhemodynamics, *Regional blood circulation and microcirculation*. **17 (3)** 23, (2018).
21. Krupatkin A. I., Sidorov V. V. *Laser Doppler flowmetry of blood microcirculation*, (Medicine, 2005), 254 p.
22. Humeau A. Kottka A., Abraham P. Time-frequency analysis of laser Doppler flowmetry signals recorded in response to a progressive pressure applied locally on anaesthetized healthy rats, *Phys Med Biol*, **49(5)**, 843 (2004).
23. Kozlov V. I., Azizov G. A., Gurova O. A., Litvin F. B., *Laser Doppler flowmetry in assessing the state and disorders of blood microcirculation* (RUDN. 2012). 31 p.
24. Krupatkin A. I., Sidorov V. V., *Functional diagnostics of the state of microcirculatory and tissue systems: fluctuations, information, nonlinearity: hands for doctors*. (Librocom, 2013), 496 p
25. Zapadnyuk I. P., Zakharia E. A., *Laboratory animals. Breeding, maintenance, use in an experiment* (Vishchashkola 1983), 383 p.
26. Korzhevsky D. E., Giyarov A. V. *Fundamentals of histological technique* (SpecLit. – 2010). 95 p.
27. Kvandal P., Stefanovska A., Regulation of human cutaneous circulation evaluated by laser Doppler flowmetry, iontophoresis, and spectral analysis: importance of nitric oxide and prostaglandines, *Microvascular Research*. **65(3)**, 160 (2003).
28. Schmid-Schonbein H. Ziege S., Grebe R., Blazek V., Spielmann R., Linzenich F., Synergetic interpretation of patterned vasomotor activity in microvascular perfusion: discrete effects of myogenic and neurogenic vasoconstriction as well as arterial and venous pressure fluctuations, *Int. J. Microcir*, **17**, 346 (1997).
29. Esther C. R. Marino E. M., Howard T. E., Machaud A., Corvol P., Capecchi M. R., Bernstein K. E., *Clin. Invest*, **99(10)** (1997). <https://doi.org/10.1172/JCI119419>
30. Lupinskaya Z. A., Vascular endothelium – the main regulator of local blood flow Bulletin of the KRSU. **7**, 49 (2003).
31. Afanasyeva T. M., Endothelial dysfunction. Opportunities for early diagnosis, *Health and education in the XXI century*. **11**, 103 (2016).
32. Nepomnyashchikh D. L. Lapiy G. A., Aidagulova S. V., Bakarev M. A., Biopsy in gastroenterology: morphogenesis of general pathological processes. *GI Nepomnyashchikh Publishing House of the Russian Academy of Sciences*. 2010.
33. Kelly J. P. Kaufman D. W., Jurgelon J. M., Risk of aspirin-associated major upper-gastrointestinal bleeding with enteric-coated or buffered product, *Lancet*. **348**, 1413(1996).
34. Chan F. K. and Chung S. C., Preventing recurrent upper gastrointestinal bleeding in patient with Helicobacter pylori infection who are taken low dose aspirin or naproxen *N. Engl. J. Med.* **344**, 967 (2001).
35. Solheim S., No difference in the effects of clopidogrel and aspirin on inflammatory markers in patients with coronary heart disease, *Thromb. Haemost.* **96**, 660 (2006).
36. Gori A. M. Cesari F., Marcucci R., The balance between pro- and anti-inflammatory cytokines is associated with platelet agreeability in acute coronary syndrome patients *Atherosclerosis*, **202**. 255(2009)
37. De Meersman R. E. Zion A. S., Lieberman J. S., Downey J. A., Acetylsalicylic acid and autonomic modulation, *Clinical Autonomic Research*, **10(4)**, 197 (2000).
38. Clarke R. J. Mayo G., Suppression of thromboxane A2 but not systemic prostacyclin by controlled-release aspirin N., *Engl. J. Med.* **325**, 1137 (1991).
39. Mc Adam B. F., Catella-Lawson F., Systemic biosynthesis of prostacyclin by cyclooxygenase-2: the human pharmacology of a selective inhibitor of cyclooxygenase-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**. 272 (1999).
40. Gennadinik A. G. Nelaeva A. A., The effect of aspirin on the platelet link of hemostasis in patients with metabolic syndrome, *Diabetes mellitus*. **4**, 32(2005).

41. Shi X. Ding M., Dong Z., Chen F., Ye J., Wang S., Leonard S., Castranova V., Vallyathan V., *Antioxidant properties of aspirin: characterization of the ability of aspirin to inhibit silica-induced lipid peroxidation, DNA damage, NF- $\kappa$ B activation, and TNF- $\alpha$  production*(Molecular and cellular biochemistry 199(1-2), 1999), 93 p. Doi:10.1023/a:1006934612368.
42. Becker J. S. Domschke W. T., Current approaches to prevent NSAID-induced gastropathy – COX selectivity and beyond, *Pohle Br J ClinPharmacol*, **58(6)**, 587 (2004).
43. Cryer B., Gastrointestinal safety of low-dose aspirin, *Am J Manag Care*, **8(22)**, S701 (2002).
44. Tarnawski A. Stachura J., Gergely H., Hollander D., Gastric microvascular endothelium: a major target for aspirin-induced injury and arachidonic acid protection. A ultrastructural analysis in the rat, *Eur J Clin Invest.* **20**, 432(1990).

**УДК 612.821**

## **ДИНАМИКА РИТМОВ ЭЭГ ПРИ ВОСПРИЯТИИ НЕЙТРАЛЬНЫХ И УЛЫБАЮЩИХСЯ ЛИЦ**

*Павленко Д. В., Чуян Е. Н., Михайлова А. А, Александрова С. В,  
Александрова С. Е., Батиевская А. В., Павленко В. Б.*

*Институт биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ ВО «Крымский  
федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым,  
Россия*

*E-mail: vpav55@gmail.com*

Исследованы особенности динамики тета- и мю-ритмов ЭЭГ при предъявлении взрослым здоровым испытуемым статичных и динамичных изображений нейтральных и улыбающихся лиц. Установлено, что при восприятии эмоциональной лицевой экспрессии в виде улыбки наибольшая реактивность ЭЭГ проявляется в лобных, центральных и височных регионах правого полушария. Обнаружены разнонаправленные реакции в частотных диапазонах тета-ритма, а также в диапазоне мю-альфа- и мю-бета-ритмов. При этом динамические стимулы вызывали более интенсивные ЭЭГ-реакции, чем статические. Выявление паттерна ЭЭГ-реакций при восприятии видеозаписей улыбки может быть полезным в разработке новых методов коррекционной работы с детьми, имеющими диагноз расстройство аутистического спектра.

**Ключевые слова:** лицевая экспрессия, трекинг движений глаз, ЭЭГ, мю-ритм, тета-ритм.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Успешное социальное взаимодействие требует распознавания тонких изменений психического состояния окружающих, которое обеспечивается в том числе, восприятием лицевой эмоциональной экспрессии окружающих, т.е. их мимических реакций (см. обзор [1]). Предполагается, что наблюдение за мимическими движениями других людей активирует наши сенсомоторные образы, сопровождающие собственные движения мышц лица. Благодаря этому, мы бессознательно распознаем выражения лиц и соответствующие им эмоциональные состояния [2]. Целый ряд исследований указывает, что важную роль в этом процессе играет система зеркальных нейронов (СЗН) человека [3–5]. Основными компонентами этой системы являются: фронтальный (нижняя лобная извилина и вентральная премоторная кора), париетальный (нижняя и верхняя теменные доли) и височный (область верхней височной извилины) центры [6]. Эти центры образуют двусторонние связи с лимбической системой, и, прежде всего, с миндалевидным ядром. Благодаря таким связям реализуются и воспринимаются как моторные, так и эмоциональные составляющие мимических реакций [7].

Активация или торможение регионов коры сопровождается изменением осцилляций разных частотных диапазонов ЭЭГ. Наиболее тесно с восприятием эмоциональной лицевой экспрессии связана динамика тета-, альфа- и бета-ритмов.

Повышение мощности ЭЭГ в тета-диапазоне связывают с процессами сопоставления выражения лица с памятливыми репрезентациями [8]. Особый интерес представляет анализ ЭЭГ-реакций частотных диапазонов альфа- и бета-ритмов, регистрирующихся в центральных регионах и пограничных с ними корковых областях (мю-альфа- и мю-бета-ритмов). Эти ритмы генерируются в соматосенсорной и моторных зонах коры, соответственно. Известно, что мощность мю-ритмов падает при выполнении или представлении собственных движений. Однако, поскольку снижение мощности данных ритмов наблюдается также, когда нервная система человека обрабатывает информацию, поступающую при восприятии движений других людей, их динамика считается индикатором состояния СЗН (см. обзор [9]). Снижение мощности мю-ритмов указывает на активацию СЗН человека, рост – на торможение ее активности.

Однако результаты исследований динамики мю-ритма при восприятии эмоциональной лицевой экспрессии весьма противоречивы. При предъявлении статичных изображений (черно-белых фотографий) счастливых и выражающих отвращение лиц была обнаружена десинхронизация мю-альфа-ритма (8–13 Гц) в центральных отведениях [10]. В последующей работе те же авторы [11] предъявляли видеозаписи, давая задания либо просто наблюдать, либо опознать и назвать эмоции. Подавление мю-альфа-ритма было выражено в большей степени при опознании эмоций, а не при простом наблюдении. Однако другие исследователи [12] при предъявлении видеозаписей улыбающегося лица выявили тенденцию к росту мощности мю-альфа-ритма (8–12 Гц) в обоих полушариях, больше справа. Значимую десинхронизацию обнаружили при анализе динамики мю-бета-ритма (12–20 Гц), но лишь разделив участников исследования на группы в зависимости от характеристик личности. У испытуемых с выраженными аутистическими чертами десинхронизация проявлялась на сердитое лицо, а у тех, кто не имел таких черт – при предъявлении улыбки. Третья группа исследователей [13] сравнивала реакции на эмоциональную лицевую экспрессию и на предъявление небιологического движения (демонстрация калейдоскопа), которое считалось фоновым. Оказалось, что по сравнению с реакцией на такое движение значимое подавление мю-ритма (8–13 Гц) вызывает лишь предъявление видеозаписи нейтрального или неопределенного выражения лица, а не показ динамического изображения с четко выраженной эмоцией радости или грусти.

В связи с тем, что использование видеоизображений человеческого лица, выражающего положительные эмоции, может быть полезным в коррекционной работе с детьми, имеющими диагноз расстройство аутистического спектра, целью нашего исследования явилось выявление особенностей динамики тета- и мю-ритмов ЭЭГ при предъявлении взрослым здоровым испытуемым статичных и динамичных изображений улыбающихся лиц.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В исследовании, которое было проведено с информированного согласия испытуемых и соответствует этическим нормам Хельсинкской декларации, приняли участие 10 студентов КФУ им. В. И. Вернадского в возрасте от 18 до 25 лет (два юноши и восемь девушек). Все испытуемые были праворукими и имели нормальное или скорректированное до нормального зрение.

Во время записи движений глаз и регистрации ЭЭГ участники исследования находились в затемненной комнате в положении сидя в кресле. Трекинг взора выполняли с помощью бесконтактной установки RED-250 (производства SensoMotoric Instruments – SMI). Монитор (Dell P2213, LCD, 22", разрешение 1680x1050, частота обновления экрана 60 Гц), на котором предьявлялся стимульный материал, входил в состав установки и располагался на расстоянии 50–80 см от глаз испытуемого. Стимулы представляли собой фотографии и видеозаписи нейтральных и улыбающихся лиц из Амстердамского набора динамических экспрессий (Amsterdam Dynamic Facial Expression Set – ADFES [14]). Было предьявлено по шесть фотографий нейтральных и улыбающихся лиц (три мужских, три женских). Время экспозиции фотографий составляло 3 с, причем за показом нейтрального лица следовало предьявление улыбки. Видеозаписи улыбок тех же моделей с продолжительностью экспозиции 3 с также показывали шесть раз. В течении 1 с лицо сохраняло нейтральное выражение, затем на лице появлялась улыбка и достигнув максимальной выразительности примерно через 0,5 с сохранялась до конца экспозиции. Общая продолжительность улыбки составляла 2 с. Среди фотографий и видеозаписей изображения средиземноморских и североευропейских лиц были представлены в равной степени. Перед предьявлением стимулов испытуемому давалась инструкция определить, какая из улыбок моделей является, по их мнению, самой естественной.

Регистрацию ЭЭГ осуществляли с помощью электроэнцефалографа «Нейрон-Спектр – 5», ЭЭГ-потенциалы записывали монополярно в 19 отведениях по системе 10–20. Областью интересов в данном исследовании являлись переднелобные, лобные, центральные, височные, теменные и затылочные регионы неокортекса (локусы Fp1, Fp2, F3, F4, F7, F8, Fz, C3, C4, Cz, T3, T4, T5, T6, P3, P4, Pz, O1, O2). Референтным электродом служили объединенные контакты, закрепленные на мочках ушей. Частоты среза фильтров высоких и низких частот составляли, соответственно, 1,5 и 35 Гц, частота оцифровки ЭЭГ-сигналов – 500 Гц.

На протяжении всего исследования велась видео- и аудиозапись, синхронизированная с регистрацией ЭЭГ.

Анализ движений глаз по интересующим показателям (траектория взора, количество и продолжительность фиксации на разных участках предлагаемых изображений) проводили с использованием программы SMI BeGaze. В данной статье приводятся лишь изображения, показывающие траектории взора и время фиксации.

Артефакты в ЭЭГ-записи устраняли при визуальном просмотре и с помощью метода анализа независимых компонент (Independent Components Analysis, ICA) в пакете EEGLAB toolbox (<http://www.sccn.ucsd.edu/eeeglab/>). Временно-частотное разложение сигнала производили с помощью вейвлета Morlet. Для оценки изменений спектральной мощности ЭЭГ, вызванных предьявлением изображений

лиц, с помощью того же пакета рассчитывали связанные с событием спектральные пертурбации (СССП, event-related spectral perturbation). Метод расчета СССП в пакете EEGLAB toolbox описан A. Delorme и S. Makeig [15]. СССП показывают изменения спектральной мощности ЭЭГ при предъявлении стимула по сравнению с уровнем пристимульного интервала (фона). В качестве фона использовали промежуток времени в 1 с, когда на мониторе находилось изображение нейтрального лица, а в качестве тестового участка – 2 с от момента предъявления фотографии улыбающегося лица, либо от момента появления улыбки на видеозаписи. При обработке данных получали изображения, отражающие в децибелах логарифм отношения тестовой к фоновой мощности ЭЭГ. Отрицательные значения СССП соответствуют меньшей мощности в тестовом по сравнению с фоновым интервалом (десинхронизация ЭЭГ в определенном частотном диапазоне), положительные значения – большей мощности в тестовом интервале по сравнению с фоновым (синхронизация ЭЭГ). Достоверность различий рассчитывалась в пакете EEGLAB на основе параметрических критериев.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе с помощью программы SMI BeGaze зрительного восприятия статических изображений участниками исследования установлено следующее. При восприятии статических изображений лица с нейтральным выражением взгляд был в основном направлен на область глаз модели. Восприятие статического изображения улыбки приводило к преобладанию фиксаций взгляда на области рта (рис. 1). Подобный паттерн глазодвигательных движений выявлен также другими исследователями [16].



Рис. 1. Результаты трекинга глаз испытуемого А.Р. при предъявлении фотоизображения нейтрального выражения лица и улыбки. Линиями показаны саккадические движения, кружками – фиксации зра.

Восприятие статических изображений улыбки, предъявленных вслед за фотографией нейтрального выражения лица вызывало сложный комплекс ЭЭГ-реакций, наиболее выраженных в лобных, центральных и височных регионах. Так на

рис. 2 представлен паттерн изменений мощности ЭЭГ в лобных отведениях. Из графиков СССП видно, что наиболее выраженными были прирост мощности тета-ритма (4–8 Гц), рост мю-альфа- и мю-бета-ритмов в левом, и падение в правом полушарии, а также в сагиттальном отведении.

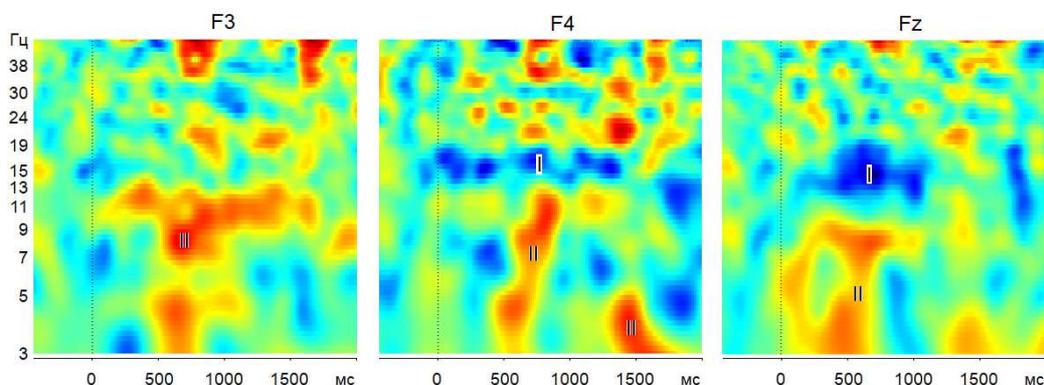


Рис. 2. Паттерн ЭЭГ-реакции в лобных отведениях на предъявление фотоизображений улыбающихся лиц. СССП график усреднен по всем испытуемым и всем лицам моделей. Вертикальная линия – момент смены фотографии нейтрального лица на фотографию улыбки. Синим цветом (I) отмечены участки графика с десинхронизацией (снижением мощности) ритма, красным цветом (II) – интервалы синхронизации (повышения мощности).

Усиление мощности тета-ритма в ряде отведений проявлялось в виде фазной реакции. Первая фаза роста мощности данного ритма развивалась через 250–500 мс после предъявления изображения улыбающегося лица, вторая – через 1300–1500 мс (см. рис. 1, отведения F4 и Fz). Поскольку ЭЭГ-осцилляции, возникающие в диапазоне тета-ритма традиционно связывают с процессами памяти (см. обзор [17]), можно высказать следующие предположения. Первый всплеск тета-активности может быть связан с опознанием выражения лица модели, изображение которого предъявлено вслед за изображением нейтрального лица. Для этого текущая информация сопоставляется с памятным следом. Второй комплекс тета-осцилляций может отражать процесс запечатления конкретного лица в памяти, поскольку в дальнейшем испытуемому приходится выбирать – у какой именно модели улыбка выглядит самой естественной. Снижение мощности мю-ритма, наиболее выраженное в частотной полосе 13–17 Гц и возникающее сразу вслед за предъявлением изображения улыбки в отведениях F4 и Fz, мы связываем с активацией СЗН. Такая активация критически важна для быстрого бессознательного распознавания эмоциональной лицевой экспрессии. Интересным феноменом является рост мощности мю-альфа-ритма, наблюдающийся в отведении F3. Мы вернемся к его интерпретации ниже, при рассмотрении эффектов восприятия динамических изображений.

При восприятии видеозаписей улыбки в центральных отведениях развивалась синхронизация ЭЭГ в диапазоне мю-альфа- и мю-бета-ритмов, наиболее выраженная

в правом полушарии (рис. 3). Динамические стимулы вызывали более интенсивные ЭЭГ-реакции, чем статические. Как видно из рисунка, различия в мощности реакций на два вида изображений были статистически значимы. Повышению мощности мю-ритмов в центральных отведениях при восприятии видеозаписей улыбки, как и подобным реакциям, описанным выше во фронтальных отведениях, мы предлагаем следующие объяснения. Ожидание появления на экране любого стимула в виде эмоциональной лицевой экспрессии вызывает у испытуемого состояние некоторого напряжения. Однако появление вслед за нейтральным, неопределенным выражением лица легко «читаемого» образа улыбки, окрашенного позитивными эмоциями, приводит к снятию напряжения, а также к генерации собственных положительных эмоций. Ранее в нашей лаборатории было показано, что для испытуемых с низким уровнем тревоги и высоким уровнем эмоциональной стабильности характерна повышенная мощность альфа-ритма [18]. Снятие психического напряжения при появлении изображения улыбки и вызывает появление мощных осцилляций в диапазоне альфа-ритма.

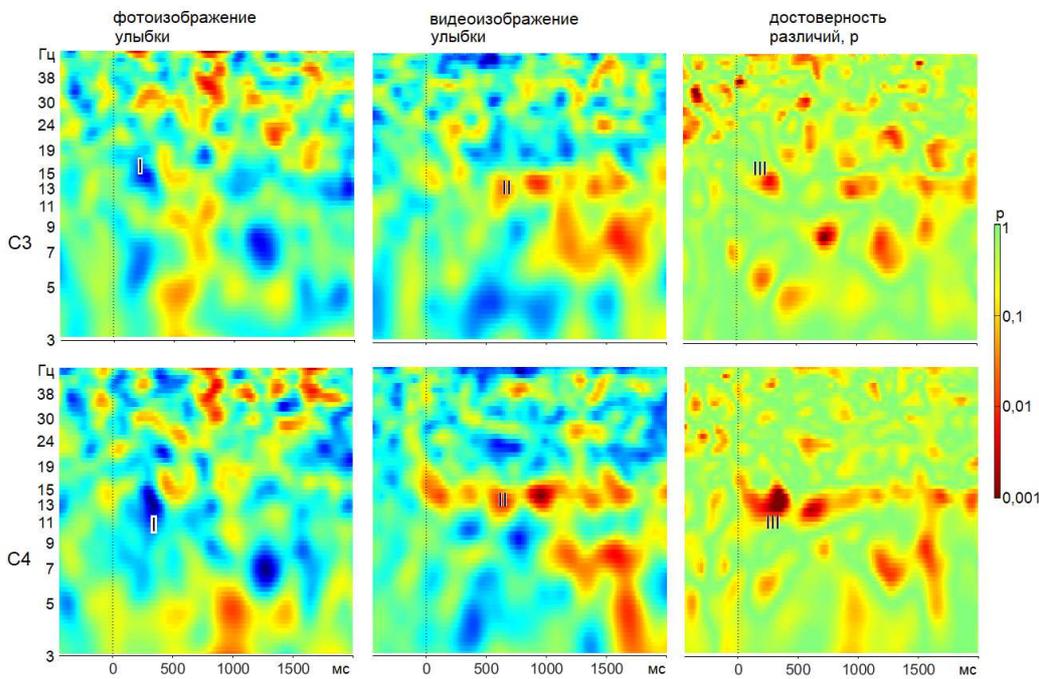


Рис. 3 Сопоставление паттерна ЭЭГ-реакции в центральных отведениях левого (верхний ряд, С3) и правого (нижний ряд, С4) на предъявление фото- и видеоизображений улыбки. СССП график усреднен по всем испытуемым и всем лицам моделей. Вертикальная линия – момент смены фотографии нейтрального лица на фотографию улыбки или начало появления улыбки на видеозаписи. На фрагментах справа красным цветом (III) обозначены наиболее значимые различия. Остальные обозначения как на рис. 2.

Не исключено, что дополнительной причиной усиления осцилляций в диапазоне мю-ритмов может являться активность нейронов антизеркальной системы. Такие нейроны были обнаружены при микроэлектродном обследовании мозга больных эпилепсией [19]. В нашем эксперименте видеозапись показала, что у испытуемых при появлении на мониторе улыбки наблюдались едва заметные движения мышц области рта. Мы предполагаем, что видеозапись улыбки модели побуждала участников исследования к аналогичной реакции. Подобные реакции являются характерным проявлением активации СЗН. Однако, поскольку улыбка в данной ситуации не совсем уместна (отсутствует реальный партнер по общению), мы, как и другие исследователи [13], считаем, что при восприятии видеоизображений эмоциональной экспрессии может запускаться активация нейронов антизеркальной системы. Ее следствием является снижение активности соматосенсорной и моторной зон коры, сопровождающееся ростом мощности мю-ритмов в центральных и фронтальных отведениях.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Настоящее исследование является поисковым, с участием относительно небольшого количества испытуемых. Тем не менее, полученные результаты определенно свидетельствуют, что при восприятии эмоциональной лицевой экспрессии в виде улыбки наибольшая реактивность ЭЭГ проявляется в лобных, центральных и височных регионах. Обнаружены разнонаправленные реакции в частотных диапазонах тета-ритма, а также в диапазоне мю-альфа- и мю-бета-ритмов. При этом динамические стимулы вызывали более интенсивные ЭЭГ-реакции, чем статические. Выявление паттерна ЭЭГ-реакций при восприятии видеозаписей улыбки может быть полезным в разработке новых методов коррекционной работы с детьми, имеющими диагноз расстройство аутистического спектра.

*Работа выполнена на оборудовании ЦКП научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского при содействии Программы развития ФГАОУ ВО "Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского" в рамках реализации программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».*

### **Список литературы**

1. Павленко Д. В. Нейрофизиологические механизмы восприятия лицевой экспрессии и их особенности при расстройствах аутистического спектра / Д. В. Павленко, Е. Н. Чуян, В. Б. Павленко // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия. – 2021. – Т. 7 (73), № 4. – С. 160–179.
2. Adolphs R. How do we know the minds of others? Domain-specificity, simulation, and enactive social cognition / R. Adolphs // Brain Res. – 2006 – Vol. 1079, No 1. – P. 25–35.
3. Gallese V. What is so special about embodied simulation? / V. Gallese, C. Sinigaglia // Trends Cogn. Sci. – 2011. – Vol. 15, No 11. – P. 512–519.
4. Krautheim J. T. Emotion specific neural activation for the production and perception of facial expressions / J. T. Krautheim, M. Steines, U. Dannlowski, G. Neziroğlu, H. Acosta, J. Sommer, B. Straube, T. Kircher // Cortex. – 2020. – Vol. 127. – P. 17–28.

5. Schmidt S. N. L. fMRI adaptation reveals: The human mirror neuron system discriminates emotional valence / S. N. L. Schmidt, C. A. Sojer, J. Hass, P. Kirsch, D. Mier // *Cortex*. – 2020. – Vol. 128. – P. 270–280.
6. Keysers C. Demystifying social cognition: a Hebbian perspective / C. Keysers, D. I. Perrett // *Trends Cogn. Sci.* – 2004. – Vol. 8, No 11. – P. 501–507.
7. Kircher T. Affect-specific activation of shared networks for perception and execution of facial expressions / T. Kircher, A. Pohl, S. Krach, M. Thimm, M. Schulte-Rüther, S. Anders, K. Mathiak // *Soc. Cogn. Affect. Neurosci.* – 2013. – Vol. 8, No 4. – P. 370–377.
8. Symons A. E. The functional role of neural oscillations in non-verbal emotional communication / A. E. Symons, W. El-Dereby, W. Schwartze, S. A. Kotz // *Front. Hum. Neurosci.* – 2016. – Vol. 10 (Epub.).
9. Pineda J. The functional significant of mu rhythms: translating seeing and hearing into doing / J. Pineda // *Brain Res. Rev.* – 2005. – Vol. 50, No 1. – P. 57–68.
10. Moore A. EEG mu component responses to viewing emotional faces / A. Moore, I. Gorodnitsky, J. Pineda // *Behav. Brain Res.* – 2012. – Vol. 226, No 1. – P. 309–316.
11. Moore M. R. Mu rhythm suppression is associated with the classification of emotion in faces / M. R. Moore, E. A. Franz // *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.* – 2017. – Vol. 17, No 1. – P. 224–234.
12. Cooper N. Beta event-related desynchronization as an index of individual differences in processing human facial expression: further investigations of autistic traits in typically developing adults / N. Cooper, A. Simpson, A. Till, K. Simmons, I. Puzzo // *Front. Hum. Neurosci.* – 2013. – Vol. 7 (Epub.).
13. Karakale O. Mental simulation of facial expressions: mu suppression to the viewing of dynamic neutral face videos / O. Karakale, M. R. Moore, I. J. Kirk // *Frontiers in human neuroscience*. – 2019. – Vol. 13 (Epub.).
14. van der Schalk J. Moving faces, looking places: validation of the amsterdam dynamic facial expression set (ADFES) / van der Schalk J., Hawk S. T., Fischer A. H., Doosje B. // *Emotion* – 2011. – Vol. 11, No 4. – P. 907–920.
15. Delorme A. EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis / A. Delorme, S. Makeig // *J. Neurosci. Methods*. – 2004. – Vol. 134, No 1. – P. 9–21.
16. Барабанщиков В. А. Окуломоторная активность при восприятии динамических и статических выражений лица / В. А. Барабанщиков, А. В. Жегалло // *Экспериментальная психология*. – 2018. – Том 11, № 1. – С. 5–34.
17. Herweg N. A. Theta Oscillations in Human Memory / N. A. Herweg, E. A. Solomon, M. J. Kahana // *Trends Cogn. Sci.* – 2020. – Vol. 24, No. 3. – P. 208–227.
18. Павленко В. Б. ЭЭГ-корреляты тревоги, тревожности и эмоциональной стабильности у взрослых здоровых испытуемых / В. Б. Павленко, С. В. Черный, Д. Г. Губкина // *Нейрофизиология / Neurophysiology*. – 2009. – Т. 41, № 5. – С. 400–408.
19. Mukamel R. Single-neuron responses in humans during execution and observation of actions. / R. Mukamel, A. D. Ekstrom, J. Kaplan, M. Iacoboni, I. Fried // *Current biology* – 2010. – Vol. 20, No 8. – P. 750–756.

## EEG OSCILLATION PATTERNS WHEN OBSERVING NEUTRAL AND SMILING FACES

*Pavlenko D. V., Chuyan E. N., Mikhailova A. A., Alexandrova S. E., Alexandrova S. V., Batievskaya A. V., Pavlenko V. B.*

*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia  
E-mail: vpav55@gmail.com*

Effective social interaction requires the recognition of subtle changes in the mental state of other people, which is achieved, among other things, by the perception of facial expressions of other people. Many studies suggest that the human mirror neuron system

(MNS) plays a significant role in this process. Of particular interest is the analysis of the EEG responses in the frequency ranges of alpha and beta rhythms (mu-alpha and mu-beta rhythms). Their dynamics is considered to be an indicator of the MNS status. However, the results of earlier studies on the mu-rhythm dynamics during the perception of emotional facial expression are quite contradictory. Given the use of human face videos expressing positive emotions can be useful for treatment of children diagnosed with autism spectrum disorder, the aim of our study was to clarify specific EEG patterns when presenting static and dynamic images of smiling faces to adult healthy subjects.

Ten students aged 18 to 25 years (two males and eight females) participated in the study. The subjects' eye-tracking and EEG patterns were recorded when they watched the photographs with neutral and smiling faces, and the video fragments of the same models' smiling faces. The exposure duration for each stimulus equaled 3 s. During the perception of static images of a face with a neutral expression, the gaze was mainly directed to the eye area of the model, while the perception of a static image of a smiling face showed the gaze fixation preference for the mouth area. A specific complex of EEG reactions occurred, most pronounced in the frontal, central and temporal regions. A general increase in theta rhythm power was revealed, as well as a power increase for mu-alpha and mu-beta rhythms in the left hemisphere, and a decrease in the right hemisphere. During the perception of smiling videos, the EEG in the range of mu-alpha and mu-beta rhythms showed a synchronization, most pronounced in the right hemisphere.

We suggest the following explanations for the fact of an increased power of mu-rhythms in the central leads when the subjects observed the videos with a smile. The appearance of a neutral, unspecific facial expression followed by an easily "readable" picture of a smile, colored with positive emotions, induces a release of tension, and leads to a production of positive emotions in the observer. These mental processes evoke powerful oscillations in the alpha rhythm frequency range. An alternative cause for the amplification of the EEG oscillations in the mu-rhythm frequency range may be the activity of neurons of the anti-mirror system of the brain. In our experiment, videorecording showed that the subjects had subtle movements of the mouth area muscles when a smile appeared on the monitor. We hypothesize that the video recording of the model's smile prompted similar reactions in the subjects. Such reactions are a characteristic manifestation of the activation of the MNS. However, since smiling in this situation is not quite appropriate (there is no real communication partner), we believe that the perception of video images of emotional expressions may trigger the activation of neurons of the anti-mirror system. As much as such activation occurs, our own mimic response is inhibited, and the power of mu-rhythms in the central and frontal leads increases.

**Keywords:** facial expression, tracking of eye movements, EEG, mu rhythm, theta rhythm.

#### References

1. Pavlenko D. V., Chuyan E. N. and Pavlenko V. B., Neurophysiological mechanisms of facial expression perception and their features in autistic spectrum disorders, *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*, **7 (73)**, 160 (2021).

2. Adolphs R. How do we know the minds of others? Domain-specificity, simulation, and enactive social cognition, *Brain Res.*, **1079**, 25 (2006).
3. Gallese V. and Sinigaglia C., What is so special about embodied simulation? *Trends Cogn. Sci.*, **15**, 512 (2011).
4. Krautheim J. T., Steines M., Dannlowski U., Neziroğlu G., Acosta H., Sommer J., Straube B. and Kircher T., Emotion specific neural activation for the production and perception of facial expressions, *Cortex*, **127**, 17 (2020).
5. Schmidt S. N. L., Sojer C. A., Hass J., Kirsch P. and Mier D., fMRI adaptation reveals: The human mirror neuron system discriminates emotional valence, *Cortex*, **128**, 270 (2020).
6. Keysers C. and Perrett D. I., Demystifying social cognition: a Hebbian perspective, *Trends Cogn. Sci.*, **8**, 501 (2004).
7. Kircher T., Pohl A., Krach S., Thimm M., Schulte-Rüther M., Anders S. and Mathiak K., Affect-specific activation of shared networks for perception and execution of facial expressions, *Soc. Cogn. Affect. Neurosci.*, **8**, 370 (2013).
8. Symons A. E., El-Deredy W., Schwartze M. and Kotz S. A., The Functional Role of Neural Oscillations in Non-Verbal Emotional Communication, *Front. Hum. Neurosci.*, **10**, (Epub.) (2016).
9. Pineda J., The functional significant of mu rhythms: translating seeing and hearing into doing, *Brain Res. Rev.*, **50**, 57 (2005).
10. Moore A., Gorodnitsky I. and Pineda J., EEG mu component responses to viewing emotional faces, *Behav. Brain Res.*, **226**, 309 (2012).
11. Moore M. R. and Franz E. A., Mu rhythm suppression is associated with the classification of emotion in faces, *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.*, **17**, 224 (2017).
12. Cooper N., Simpson A., Till A., Simmons K. and Puzzo I., Beta event-related desynchronization as an index of individual differences in processing human facial expression: further investigations of autistic traits in typically developing adults, *Front. Hum. Neurosci.*, **7**, (Epub.) (2013).
13. Karakale O., Moore M. R. and Kirk I. J., Mental Simulation of Facial Expressions: Mu Suppression to the Viewing of Dynamic Neutral Face Videos, *Frontiers in human neuroscience*, **13**, (Epub.) (2019).
14. van der Schalk J., Hawk S. T., Fischer A. H., and Doosje B., Moving faces, looking places: validation of the amsterdam dynamic facial expression set (ADFES), *Emotion*, **11**, 907 (2011).
15. Delorme A., and Makeig S., EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis, *J. Neurosci. Methods*, **134**, 9 (2004).
16. Barabanshikov V. A., and Zhegallo A. V., Okulomotor activity at the perception of dynamic and static expressions of the face, *Experimental Psychology (Russia)*, **11**, 5 (2018).
17. Herweg N. A., Solomon E. A., and Kahana M. J., Theta Oscillations in Human Memory, *Trends Cogn Sci.*, **24**, 208 (2020).
18. Pavlenko V. B., Chernyi S. V. and Goubkina D. G., EEG correlates of anxiety and emotional stability in adult healthy subjects. *Neurophysiology*, **41**, 337 (2009).
19. Mukamel R., Ekstrom A. D., Kaplan J., Iacoboni M. and Fried I., Single-neuron responses in humans during execution and observation of actions, *Current biology*, **20**, 750 (2010).

**УДК 582.282.123.4+57.042.2+57.042.5**

**ВЛИЯНИЕ ЭУПАРЕНА МУЛЬТИ И ДАФС-25 НА ПРОРАСТАНИЕ  
КОНИДИЙ, БИОМАССУ И АЗОТИСТЫЙ ОБМЕН  
ГРИБА *ASPERGILLUS NIGER* TIEGH.**

*Полубояринов П. А.<sup>1</sup>, Семенова Е. Ф.<sup>2</sup>, Назаров В. В.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Пензенский государственный университет, Пенза, Россия*

<sup>2</sup>*Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского, Симферополь,  
Республика Крым, Россия*

*E-mail: sef1957@mail.ru*

Исследовано ингибирование прорастания спор гриба *Aspergillus niger* Tiegh. фунгицидом Эупарен Мульти (10 мкг/мл) и селенорганическим препаратом ДАФС-25 (10 мкг/мл). Ингибирующее влияние препаратов уменьшается при введении в состав питательной среды аминокислоты цистеина (0,1 %), при этом отмечается стимуляция накопления мицелиальной массы в вариантах Эупарен Мульти + цистеин в 1,6 раза и ДАФС-25 + цистеин в 11,8 раза. При культивировании вегетативного мицелия *A. niger* отмечен распад препарата ДАФС-25 и выделение элементарного селена гифами гриба. Действие эупарена, в основном, проявляется в уменьшении содержания проламинов и в меньшей степени глютелинов, при этом количество альбуминов и глобулинов изменяется незначительно. Вероятно, увеличение концентрации тирозина – предшественника пигмента меланина является защитной реакцией гриба на действие таких ингибиторов, как эупарен и ДАФС-25.

**Ключевые слова:** Эупарен Мульти 500 ВГ, ДАФС-25, диацетофенонилселенид, сульфгидрильные группы, мицелий, цистеин, альбумины, глобулины, проламины, глютелины, тирозин.

**ВВЕДЕНИЕ**

Изучение действия фунгицидов и развития устойчивости к ним является важным направлением в практике защиты растений. Тем не менее, механизм резистентности к ним во многих случаях не определен как для новых, так и для давно используемых препаратов. Существуют данные о механизмах действия фунгицидов [1, 2], при этом они известны лишь для немногих системных препаратов [3], а о способе действия контактных фунгицидов имеются лишь общие сведения [4].

Эупарен Мульти (действующее вещество толлилфлуанид 500 г/кг) – контактный фунгицид широкого спектра действия против парши и мучнистой росы на плодовых, серой гнили и оидиума на винограде, а также серой гнили на землянике, огурцах и томатах закрытого грунта. Относительно механизмов действия Эупарена Мульти (далее эупарен) известно, что он неспецифически ингибирует биохимические процессы, в которых принимают участие ферменты и коферменты, содержащие сульфгидрильные группы, тиолсодержащие клеточные компоненты [5]. Как и все ингибиторы SH-групп, он увеличивает водопроницаемость клеточных мембран, способствует «вытеканию» ионов калия из клетки. Также инактивирует

ферменты фосфорного превращения, ингибирует биосинтез цитрата из ацетата. При взаимодействии с клеточными тиолами образуется фосген, который реагирует с белками, аминокислотами и другими компонентами грибной клетки. В общем, механизм взаимодействия эупарена аналогичен описанному взаимодействию каптана с сульфгидрильными группами цистеина [6]. Следует отметить, что в результате реакции выделяется сероводород ( $H_2S$ ).

В большей степени прорастание конидий серой гнили (*Botrytis cinerea* Pers.) ингибировалось эупареном, и в меньшей степени он влиял на мицелий. Возможно, что это связано с различной проницаемостью клеточных стенок конидий и мицелия гриба, так как прижизненный краситель родамин-123 способен проникать через клеточную стенку конидий, но не мицелия. Прорастание конидий как резистентных, так и чувствительных к эупарену штаммов *B. cinerea* ингибируется относительно низкими концентрациями фунгицида ( $ED_{50} = 0,063-0,267$  мкг/мл), в отличие от мицелия, ингибирующая концентрация (IC) для которого составляет 3–81 мкг/мл [7, 8].

В ряде работ [9, 10] установлено фунгицидное действие относительно высоких концентраций селенорганического препарата ДАФС-25 (диацетофенонилселенид, 1,5-дифенил-3-селенапентадион-1,5) и исследован его распад на ацетофенон и элементарный селен под действием сульфгидрильных (тиольных) групп растущего мицелия грибов *Aspergillus niger* Tiegh. и *Botrytis cinerea* Pers. При этом элементарный селен адсорбируется на поверхности гиф грибов. Необходимым компонентом этой реакции является наличие веществ, содержащих сульфгидрильную группу: восстановленного глутатиона или цистеина. Препарат ДАФС-25 был синтезирован в НИИ химии СГУ им. Н.Г. Чернышевского и разрешен к применению в ветеринарии и в сельскохозяйственном производстве. Он нерастворим в воде, но хорошо растворяется в органических растворителях, жирах. ДАФС-25 обладает выраженной антиоксидантной, антиоксидантной, иммуномодулирующей активностью и успешно применяется в птицеводстве и животноводстве ряда регионов России [11].

Целью нашей работы является сравнительное изучение действия диацетофенонилселенида и эупарена на споры и мицелий *Aspergillus niger* Tiegh.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служил штамм мицелиального гриба *Aspergillus niger* Tiegh. из коллекции кафедры микологии и альгологии Биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова, любезно предоставленный А. Н. Лихачевым.

Для оценки влияния препаратов на прорастание спор использовали споровую суспензию, которую получали следующим образом: кусочки сахарозного агара с 7-дневной культурой вносили в пробирки с жидкой питательной средой и взбалтывали не менее 5 мин. Полученная суспензия для освобождения от обрывков мицелия фильтровалась через стерильную вату. Подсчет конидий проводили в камере Горяева и разбавляли суспензию так, чтобы содержание спор в питательной среде составило  $10^3$  конидий/мл. Для оценки влияния препаратов на мицелиальный рост гриба в качестве инокулюма были использованы вырезанные из 7-дневной

культуры гриба блоки с вегетативным мицелием (диаметром 5 мм), взятые с края колонии на сахарозном агаре.

Селективностью и отсутствием необходимости стерилизации при применении лабильных к нагреванию веществ был определен выбор питательной среды для культивирования гриба *A. niger* (состав: сахароза – 10 %,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – 0,3 %,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,2 %,  $\text{MgSO}_4$  – 0,05 %,  $\text{FeSO}_4$  – 0,01 %). Высокая концентрация сахара и кислая среда (за счет гидролиза  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) препятствовали росту бактерий. Культуру термостатировали при температуре +30 °С. ДАФС-25 и Эупарен Мульти растворяли в ацетоне и добавляли в питательную среду при культивировании гриба. Объем вносимого препарата рассчитывали, исходя из объема среды, для получения необходимой концентрации действующего вещества. В контрольные варианты также вносили растворитель в тех же объемах. Навеску цистеина гидрохлорида добавляли в питательную среду и 1 М раствором NaOH под контролем рН-метра доводили кислотность среды до исходного значения.

Для определения биомассы мицелий гриба на 15-е сутки культивирования отделяли от культуральной жидкости фильтрованием на воронке Бюхнера с целлюлозным фильтром и промывали дистиллированной водой. Избыток влаги удаляли при помощи фильтровальной бумаги и взвешивали. Затем мицелий растирали в ступке с кварцевым песком и центрифугировали. Белки экстрагировали по методу Ермакова-Дурыниной [12]. Содержание отдельных фракций белков определяли по методу Bradford'a [13]. Анализ общего азота осуществляли методом Кьельдаля по стандартной методике. Анализ аминокислотного состава проводили путем кислотного гидролиза порошка сухого мицелия при температуре 110 °С в течение 14 ч с последующим определением в системе капиллярного электрофореза «Капель 105 М» согласно стандартной методике. Микроскопическое изучение микоматериалов было проведено с применением микроскопа Levenhuk D320L при увеличении 10х–20х.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Процесс прорастания конидий при поверхностном культивировании на сахарозной среде занимает 8–10 часов. Первые 5–6 часов конидиям свойственен сферический рост, который называют стадией I или набуханием, при этом конидия увеличивается в диаметре в 3–4 раза. Стадия II в процессе прорастания занимает следующие 4–5 часов. В это время происходит образование ростковой трубки, которая имеет характерный для грибов апикальный рост. Для исследуемого гриба типично образование одной ростковой трубки (рис. 1). В варианте с препаратом ДАФС-25 ( $10^{-2}$  г/л), как и в варианте с эупареном (10 мкг/мл), прорастания конидий не происходит (рис. 2, 3).

Из литературы [14] известно, что действие тиольных ядов нивелируется добавлением веществ, содержащих сульфгидрильные группы, например, цистеином. В связи с этим для выяснения механизма действия препарата ДАФС-25 на прорастание конидий гриба *A. niger* в питательную среду был добавлен цистеин. Эта аминокислота на прорастание конидий не оказывала влияния (рис. 4). В вариантах опыта, где цистеин был добавлен в питательную среду с ДАФС-25 и

эупареном, он практически полностью снимал ингибирование прорастания конидий (рис. 5, 6).



Рис. 1. Формирование ростковой трубки конидиями гриба *A. niger* в жидкой питательной среде.



Рис. 2. Отсутствие прорастания конидий *A. niger* в среде с препаратом ДАФС-25 ( $10^{-2}$  г/л).

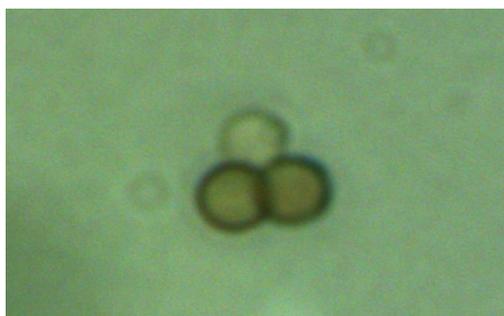


Рис. 3. Отсутствие прорастания конидий *A. niger* в среде с Эупареном (10 мкг/мл).



Рис. 4. Формирование ростковой трубки конидиями гриба *A. niger* в жидкой питательной среде с цистеином (0,1 %).



Рис. 5. Прорастание конидий в питательной среде с эупареном (10 мкг/мл) + цистеин (0,1 %).



Рис. 6. Формирование ростковой трубки конидиями гриба *A. niger* в жидкой питательной среде с ДАФС-25 ( $10^{-2}$  г/л) + цистеин (0,1 %).

Таким образом, можно предположить, что фунгицид эупарен и селенорганический препарат ДАФС-25 имеют схожий механизм действия, инактивируя сульфгидрильные группы конидий гриба и тем самым ингибируя их прорастание. Цистеин при добавлении в среду, содержащую ингибиторы, выступает

в роли антидота, снимая ингибирование. Вероятно, цистеин взаимодействует с ДАФС-25 по аналогии с восстановленным глутатионом [11]. В результате первой реакции (рис. 7а) образуется ацетофенон и S-(ацетофенилселенил)цистеина.

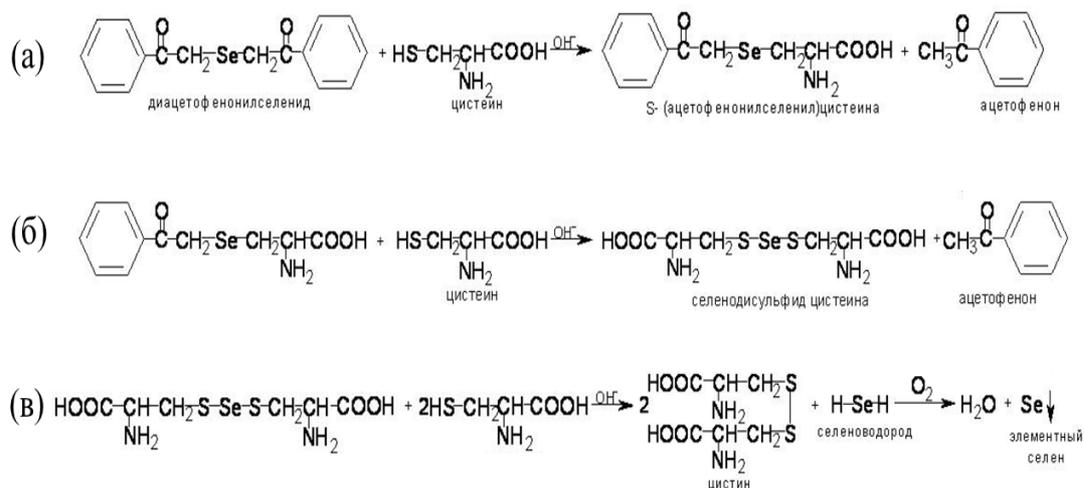


Рис. 7. Образование элементарного селена в реакциях ДАФС-25 с цистеином (пояснения в тексте).

Следующим этапом является образование еще одной молекулы ацетофенона и селенодисульфида цистеина (рис. 7б). При избытке цистеина конечной стадией является образование селеноводорода и цистина, а образовавшийся селеноводород как сильный восстановитель может быть окислен как кислородом воздуха, так и цистином до элементарного селена (рис. 7в). В результате этой реакции ДАФС-25 переводится цистеином в неактивное состояние (распадается на ацетофенон и элементарный селен) и функции сульфгидрильных групп им уже не блокируются.

Влияние препарата ДАФС-25 и эупарена на рост мицелиальной массы *A. niger* представлено в таблице 1. Из полученных данных следует, что ДАФС-25 и эупарен полностью ингибируют рост мицелия *A. niger*. Добавление цистеина в питательную среду незначительно стимулирует накопление биомассы (на 18,9 %). Также цистеин полностью нейтрализует ингибирующее действие фунгицида эупарена на споры, и накопление мицелиальной массы превосходит контроль на 57 %. В варианте опыта, где цистеин был добавлен к раствору с селенорганическим препаратом ДАФС-25, наблюдалась значительная стимуляция роста мицелия, которая превосходила контроль в 11,8 раз, то есть более чем на порядок. Ранее [9] отмечен распад селенорганического препарата ДАФС-25 и выделение элементарного селена гифами мицелия поверхностной культуры *A. niger*, где в качестве инокулята использовали фрагменты вегетативного мицелия (рис. 8, 9). Образование элементарного селена было подтверждено с помощью качественной реакции Файглей–Веста [11].

**Таблица 1**  
**Влияние ДАФС-25 и эупарена на накопление массы мицелия (воздушно-сухого, г/л) *A. niger* при инокуляции питательной среды суспензией конидий**

Вариант опыта / Статистический показатель	Контроль	ДАФС-25	Эупарен	Цистеин	Эупарен + цистеин	ДАФС-25 + цистеин
Среднее арифметическое	3,521	0	0	4,187	5,530	41,339
Стандартное отклонение	0,300	0	0	0,560	0,130	0,602

Также при инокуляции вегетативным мицелием накопление биомассы носило иной характер, чем в опыте с инокуляцией суспензией конидий: биомасса накапливалась как в вариантах с чистыми ингибиторами (эупареном и ДАФС-25), так и в вариантах с добавлением цистеина в качестве антидота (табл. 2). Накопление биомассы мицелия в вариантах с ДАФС-25 и ДАФС-25 + цистеин превосходило контроль в 16,1 и 14,2 раза, соответственно, тогда как в вариантах с эупареном и эупареном + цистеином масса мицелия была больше контрольной в 1,4 и 1,5 раза, соответственно. Цистеин стимулировал рост гриба незначительно.



Рис. 8. Мицелий *A. niger* в контрольном варианте.

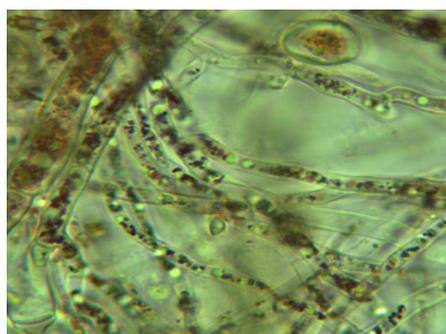


Рис. 9. Мицелий *A. niger* в опытном варианте с ДАФС-25 – выделение элементарного селена гифами.

Из полученных данных следует, что различия в действии фунгицида эупарена и селенорганического препарата ДАФС-25 на конидии и мицелий гриба связаны с различным содержанием сульфгидрильных групп в мицелии и прорастающих конидиях. Мы полагаем, что конидии в отличие от мицелия содержат малое количество сульфгидрильных групп и более чувствительны к действию препаратов, которые их ингибируют. Сульфгидрильные группы мицелия делают его более устойчивым к действию эупарена и ДАФС-25, в отличие от конидий, прорастание которых становится возможным только в присутствии антидота – цистеина. Это важно учитывать в практике защиты растений, так как обработка мицелиальных форм фитопатогенов фунгицидами, имеющими схожий механизм действия, будет малоэффективна, и наоборот – в отношении конидий. Эффект стимуляции накопления мицелиальной массы в вариантах с ДАФС-25, по-видимому, связан с образованием микрочастиц элементного селена и практически не проявляется в вариантах с эупареном. В научной литературе [15] известно о стимулирующем действии неорганических соединений селена на биомассу грибов, что согласуется с полученными нами данными.

Таблица 2

**Влияние ДАФС-25 и эупарена на накопление воздушно-сухого мицелия (г/л) *A. niger* при инокуляции питательной среды фрагментами вегетативного мицелия**

Вариант опыта/ Статистический показатель	Контроль	ДАФС- 25	Эупарен	Цистеин	Эупарен + цистеин	ДАФС- 25 + цистеин
Среднее арифметическое	2,400	3,862	3,420	2,700	3,510	33,960
Стандартное отклонение	0,300	0,167	0,280	0,540	0,530	2,260

Оценить роль сульфгидрильных групп в деструкции ксенобиотика селенорганической природы (ДАФС-25) и фунгицида эупарена можно путем анализа изменений состава белков в мицелии гриба, происходящих в присутствии препаратов в среде культивирования. Известно, что суммарный белок включает альбумины и проламины – преимущественно низкомолекулярные, водорастворимые и спирторастворимые белки, глобулины – белки, растворимые в растворах солей и вместе с первыми двумя группами выполняющие ферментативные, защитные и др. важнейшие функции в организме. Последнюю группу так называемых запасных высокомолекулярных белков составляют целочерастворимые белки – глютелины.

Представленные в таблице 3 результаты исследования свидетельствуют, что из общей суммы белков мицелия *A. niger* наибольшую часть составляют альбумины и глютелины, далее следуют глобулины и проламины. Цистеин очень слабо влияет на количественные изменения белков мицелия, незначительно уменьшая фракцию

глобулинов и увеличивая фракцию проламинов. Сочетание эупарена и цистеина и, особенно, ДАФС-25 и цистеина оказывает сильное влияние на фракции белков, снижая общее количество белков всех фракций на 18 % и 53,3 %, соответственно. Следует отметить, что уменьшение содержания белков совпадает с увеличением накопления биомассы гриба *A. niger*.

**Таблица 3**  
**Содержание фракций белков в мицелии (воздушно-сухом, мкг/100 мг) *A. niger***  
**при инокуляции питательной среды суспензией конидий**

Варианты Фракции	Контроль	Цистеин	Эупарен + цистеин	ДАФС- 25 + цистеин
Альбумины	16,24±1,29	13,02±0,78	11,06±0,88	5,66±0,57
Глобулины	6,28±0,06	4,32±0,23	4,88±0,18	3,12±0,12
Проламины	4,60±0,17	7,88±0,11	4,40±0,24	3,12±0,05
Глутелины	16,36±0,02	16,52±0,33	15,10±0,56	8,20±0,74
Белки (суммарно)	43,04±1,54	41,74±1,45	35,44±1,86	20,1±1,48

Также значительно отличаются по вариантам и белковые фракции гриба *A. niger* (табл. 4), полученные при инокуляции питательной среды фрагментами вегетативного мицелия. Значительное уменьшение суммы белков в мицелии по сравнению с контролем происходило в вариантах с добавлением ДАФС-25 и ДАФС-25 + цистеин. В варианте с ДАФС-25 увеличивалось количество альбуминов и уменьшалось количество проламинов, глутелинов и незначительно глобулинов. В варианте ДАФС-25 + цистеин уменьшалась только фракция глутелинов. Действие эупарена, в основном, проявлялось в уменьшении количества проламинов и в меньшей степени глутелинов, при этом количество альбуминов и глобулинов изменялось мало.

**Таблица 4**  
**Содержание фракций белков в мицелии (воздушно-сухом, мкг/100 мг) *A. niger***  
**при инокуляции питательной среды фрагментами вегетативного мицелия**

Варианты Фракции	Контроль	ДАФС- 25	Эупарен	Цистеин	Эупарен + цистеин	ДАФС- 25 + цистеин
Альбумины	4,4±0,1	10,1±0,4	5,7±0,46	5,2±0,5	3,5±0,05	4,9±0,2
Глобулины	6,1±0,3	4,3±0,22	8,1±0,1	6,0±0,1	6,0±0,2	6,0±0,15
Проламины	13,6±0,3	1,9±0,1	6,5±0,26	9,6±0,86	1,8±0,03	15,9±0,5
Глутелины	29,6±0,5	5,9±0,18	23,1±1,62	32,8±1,96	47,0±1,3	12,3±0,35
Белки (суммарно)	53,7±1,2	22,2±0,9	43,4±2,44	53,6±3,42	58,3±1,58	39,1±1,2

Анализ в мицелии общего азота показал незначительное различие в его содержании. Так, в мицелии контрольного варианта оно составило 3,68 %, белка 23 % (коэффициент пересчета  $N \times 6.25$ ), а в варианте с добавлением эупарена – азота 3,93 % и белка 24,6 %, с добавлением ДАФС-25 – 3,85 % и 24,1 %, соответственно. Однако следует отметить, что азот в мицелии может быть включен не только в белки, но и в хитин и другие азотистые соединения, а различия в количественном содержании белков в опытах объясняются, по всей вероятности, культурально-морфологическими и физиолого-биохимическими изменениями клеточных стенок под действием препаратов.

Интерес к изучению аминокислот у различных видов грибов вызван тем, что они входят в состав токсинов, пигментов и других биологически активных соединений. Аминокислотный состав мицелия *A. niger*, по-видимому, жестко детерминируется генетически и различия между вариантами опыта незначительны (табл. 5). Только содержание тирозина в варианте с эупареном превышает контроль на 75 %, а в варианте с ДАФС-25 – на 58 %. Его количество снижено в варианте ДАФС-25 + цистеин на 51 %, в других вариантах отличия также незначительны. Известно, что аминокислота тирозин при участии фермента тирозиназы (К. Ф. 1.10.3.1.) последовательно окисляется через промежуточные продукты, окрашенные в красный цвет, в черный азотсодержащий пигмент меланин. В литературе представлены многочисленные данные о роли меланинов в повышении устойчивости микроорганизмов к негативному воздействию окружающей среды, в том числе отмечена роль меланинов в защите клеток грибов от химического и биологического разрушения в почве [16]. Вероятно, что увеличение концентрации тирозина – предшественника пигмента меланина в мицелии – является защитной реакцией гриба на действие таких ингибиторов, как эупарен и ДАФС-25. Добавление антидота (цистеина), по всей видимости, существенно снижает уровень синтеза аминокислоты тирозина.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлено, что препараты ДАФС-25 и эупарен имеют схожий механизм действия и ингибируют прорастание конидий *A. niger*.
2. Ингибирующее действие эупарена и ДАФС-25 нивелируется цистеином, который является антидотом.
3. В вариантах опыта с препаратом ДАФС-25 и ДАФС-25 + цистеин наблюдалась значительная стимуляция роста мицелия, по-видимому, микрочастицами элементного селена, которая превосходила контроль в 11,8–16,1 раза, на фоне снижения содержания всех фракций экстрагируемых белков.
4. В вариантах с эупареном и ДАФС-25 увеличивается концентрация тирозина, что связано с образованием защитного пигмента меланина, субстратом для биосинтеза которого служит эта аминокислота.

Таблица 5  
Содержание аминокислот (%) в гидролизате порошка мицелия *A. niger*

Аминокислота	Контроль	Эупарен	ДАФС-25	Цистеин	ДАФС-25+ цистеин	Эупарен + цистеин
Аргинин	12,74± 1,72	11,72± 1,26	11,75± 0,47	13,06± 1,29	15,87± 1,59	14,02± 0,84
Лизин	6,32±0,34	5,71±0,11	6,85± 0,14	6,58±0,13	5,77± 0,52	6,81±0,34
Тирозин	2,40±0,11	4,20±0,22	3,79± 0,05	2,25±0,02	1,23± 0,08	2,52±0,15
Фенил-аланин	2,53±0,08	2,40±0,07	2,93± 0,17	2,56±0,20	3,07± 0,12	2,39±0,26
Гистидин	4,46±0,22	3,92±0,15	4,93± 0,14	4,52±0,50	4,78± 0,24	4,32±0,25
Лейцин + Изолейцин	4,51±0,20	5,13±0,46	6,23± 0,43	6,19±0,41	6,24± 0,06	5,94±0,12
Метионин	1,24±0,04	1,12±0,01	1,81± 0,02	1,03±0,04	0,89± 0,03	1,58±0,09
Валин	5,43±0,11	5,35±0,05	6,32± 0,06	5,81±0,17	5,52± 0,50	5,88±0,53
Пролин	4,56±0,16	3,90±0,19	4,88± 0,24	5,15±0,56	4,16± 0,21	5,08±0,10
Треонин	6,44±0,13	6,22±0,50	7,87± 0,16	6,65±0,06	7,14± 0,42	6,78±0,54
Серин	5,45±0,44	5,11±0,56	6,07 0,12	6,26±0,62	6,15± 0,17	6,14±0,43
Аланин	7,17±0,11	7,04±0,07	7,93± 0,79	7,10±0,14	6,83± 0,68	6,49±0,24
Глицин	5,22±0,37	4,62±0,09	5,58± 0,33	5,75±0,19	5,1± 0,22	5,41±0,34
Сумма амино- кислот	68,47± 4,03	66,44± 3,74	76,94± 3,12	72,91± 4,33	72,75± 4,84	73,36± 4,23

#### Список литературы

1. Deising H. B. Mechanisms and significance of fungicide resistance / H. B. Deising, S. Reimann, S. F. Pascholati // Brazilian Journal of Microbiology. – 2008. – No 39. – P. 286–295.
2. Yang C. Fungicide: modes of action and possible impact on non-target microorganisms / C. Yang, C. Hamel, V. Vujanovic, Y. T. Gan // Ecology. – 2011. – Vol. 2011. – P. 1-8. doi: 10.5402/2011/130289
3. Steel C. C. The physiological basis of resistance to dicarboximide fungicide iprodione in *Botrytis cinerea* / C. C. Steel, N. G. Nair // Pesticide Biochemistry and Physiology – 1993. – Vol. 47, No 1. – P. 60–68.

4. Yoshida M. Effects of fungicides on channels in the fungal membrane / M. Yoshida, M. Yokimoto // *Pesticide Biochemistry and Physiology*. – 1993. – Vol. 47, No 3. – P. 171–177.
5. Гольшин Н. М. Механизмы действия фунгицидов / Н. М. Гольшин // *Защита растений*. – 1990. – № 11. – С. 13–15.
6. Мельников Н. Н. Пестициды и окружающая среда / Н. Н. Мельников, А. И. Волков, О. А. Короткова – М.: Химия, 1977. – 240 с.
7. Choi G. J. Lipid peroxidation and membrane disruption by vinclozolin in dicarboximide-susceptible and resistant isolates of *Botrytis cinerea* / G. J. Choi, H. J. Lee, K. Y. Cho // *Pesticide, Biochemistry and Physiology*. – 1996. – Vol. 55, No 1. – P. 29–39.
8. Kretschmer M. Fungicide resistance and genetic diversity of *Botrytis cinerea* isolates from a vineyard in Germany / M. Kretschmer, M. Hahn // *Journal of Plant Diseases and Protection*. – 2008. – Vol. 115, No 5. – P. 214–219.
9. Poluboyarinov P. A. Elemental selenium formation upon destruction of the organoselenium compound DAFS25 molecule by growing fungal mycelium / P. A. Poluboyarinov, V. A. Vikhрева, P. P. Leshchenko, A. V. Apirovskii, A. N. Likhachev // *Moscow University Biological Sciences Bulletin*. – 2009. – Vol. 64, No 4. – P. 164–168.
10. Tsivileva O. M. Biodegradation of an organoselenium compound to elemental selenium by *Lentinula edodes* (shiitake) mushroom / O. M. Tsivileva, E. A. Loshchinina, A. N. Pankratov, M. M. Burashnikova, N. A. Yurasov, N. N. Bylinkina, I. A. Kazarinov, V. E. Nikitina // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2012. – Vol. 149, No 1. – P. 97–101.
11. Poluboyarinov P. A. Qualitative reaction for cysteine, reduced glutathione, and diacetophenonyl selenide / P. A. Poluboyarinov, P. P. Leshchenko // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2013. – Vol. 68, No 11. – P. 949–952.
12. Минеев В. Г. Практикум по агрохимии / В. Г. Минеев, В. Г. Сычев, О. А. Амелянчик, Т. Н. Большева, Н. Ф. Гомонова, Е. П. Дурынина, В. С. Егоров, Е. В. Егорова, Н. Л. Едемская, Е. А. Карпова, В. Г. Прижукова. – М.: Изд-во МГУ, 2001. – 689 с.
13. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. M. Bradford // *Anal. Biochem.* – 1976. – No 72. – P. 248–254.
14. Ballatori N. N-acetylcysteine as an antidote in methylmercury poisoning / N. Ballatori, M. W. Lieberman, W. Wang // *Environ. Health Perspect.* – 1998. – Vol. 106, No 5. – P. 267–271.
15. Блинохватов А. Ф. Влияние соединений селена на рост и развитие грибов. I. Микромицеты / А. Ф. Блинохватов, Г. В. Денисова, А. И. Иванов, Д. Ю. Ильин // *Микология и фитопатология*. – 2000. – Т. 34, № 5. – С.42–46.
16. Plonka P. M. Melanin synthesis in microorganisms – biotechnological and medical aspects / P. M. Plonka, M. Grabacka // *Acta Biochimica Polonica*. – 2006. – Vol. 53, No 3. – P. 429–443.

**INFLUENCE OF FUNGICIDE EUPAREN MULTI AND ORGANOSELENIUM PREPARATION DAPS-25 ON INTERGROWTH OF CONIDIA, BIOMASS AND NITROGEN METABOLISM OF *ASPERGILLUS NIGER* TIEGH. FUNGUS**

*Poluboyarinov P. A.<sup>1</sup>, Semenova E. F.<sup>2</sup>, Nazarov V. V.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Penza State University, Penza, Russia*

<sup>2</sup>*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation*

*E-mail: sef1957@mail.ru*

The inhibition of spore germination of the fungus *Aspergillus niger* Tiegh. by the fungicide Euparen Multi (10 µg/ml) and the organic selenium preparation DAPS-25 (10 µg/ml) was studied. The inhibiting influence of the preparations decreased after

adding amino acid cysteine (0,1 %) into a medium. Under these circumstances the mycelial mass accumulation increased in 1.6 times for samples, containing Euparen Multi + cysteine, and in 11,8 times for samples, containing Euparen Multi + cysteine. The combinations of Euparen Multi with cysteine and, especially, DAPS-25 with cysteine decreased the content of albumins, globulins, prolamins, glutelins, and the total protein amount by 18,0 % and 53,3 %, respectively. When the vegetative mycelium of *A. niger* was cultured, the degradation of DAPS-25 and the elemental selenium release were found. The biomass accumulation occurred both in the samples only with Euparen or DAPS-25 and in the samples with an antidote (cysteine). The mycelial mass in the samples with DAPS-25 and DAPS-25 + cysteine exceeded the control in 16,1 and 14,2 times, respectively, whereas it was significantly lower in the samples with Euparen and Euparen + cysteine and exceeded the control in 1,4 and 1,5 times, respectively. The significant protein decrease in the mycelium in comparison with the control was found for the samples with DAPS-25 and DAPS-25 + cysteine. In the samples with DAPS-25, the quantity of albumins was increased, and the quantity of prolamins, glutelins, and globulins was decreased. In the samples with DAPS-25 + cysteine, there was a drop only for the glutelin fraction. The Euparen action was mainly shown as a decline in the prolamin and glutelin content. At the same time, the quantity of albumins and globulins had no significant changes. The amino acid analysis of the mycelium of *A. niger* revealed that for the samples with Euparen the tyrosine content was higher than for the control by 75 %, and for the samples with DAPS-25 – by 58 %. The increase in the concentration of tyrosine, which is a precursor for melanin, might be the fungal defense reaction against the effects of such inhibitors as Euparen and DAPS-25. The addition of the antidote (cysteine) decreased the tyrosine synthesis level because of the absence of its necessity.

**Keywords:** Euparen Multi 500 VG, DAPS-25, diacetophenonyl selenide, sulfhydryl groups, mycelium, cysteine, albumins, globulins, prolamins, glutelins, tyrosine.

#### References

1. Deising H. B., Reimann S., Pascholati S. F. Mechanisms and significance of fungicide resistance, *Brazilian Journal of Microbiology*, **39**, 286 (2008).
2. Yang C., Hamel C., Vujanovic V., Gan Y. T. Fungicide: modes of action and possible impact on non-target microorganisms, *Ecology*, **2011**, doi: 10.5402/2011/130289 (2011).
3. Steel C. C., Nair N. G. The physiological basis of resistance to dicarboximide fungicide iprodione in *Botrytis cinerea*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **47**(1), 60 (1993).
4. Yoshida M., Yokimoto M. Effects of fungicides on channels in the fungal membrane, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **47**(3), 171 (1993).
5. Golyshin N. M. Mechanisms of fungicide action, *Zashchita rasteniy*, **11**, 13 (1990). (in Russ.)
6. Mel'nikov N. N., Volkov A. I., Korotkova O. A. *Pesticides and environment.*, 240 p. (Moscow, Khimiya, 1977). (in Russ.)
7. Choi G. J., Lee H. J., Cho K. Y. Lipid peroxidation and membrane disruption by vinclozolin in dicarboximide-susceptible and resistant isolates of *Botrytis cinerea*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **55**(1), 29 (1996).
8. Kretschmer M., Hahn M. Fungicide resistance and genetic diversity of *Botrytis cinerea* isolates from a vineyard in Germany, *Journal of Plant Diseases and Protection*, **115**(5), 214 (2008).
9. Poluboyarinov P. A., Vikhreva V. A., Leshchenko P. P., Apirovskii A. V., Likhachev A. N. Elemental selenium formation upon destruction of the organoselenium compound DAFS25 molecule by growing fungal mycelium, *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, **64**(4), 164 (2009).

10. Tsivileva O. M., Loshchinina E. A., Pankratov A. N., Burashnikova M. M., Yurasov N. A., Bylinkina N. N., Kazarinov I. A., Nikitina V. E. Biodegradation of an organoselenium compound to elemental selenium by *Lentinula edodes* (shiitake) mushroom, *Biol. Trace Elem. Res.*, **149**(1), 97 (2012).
11. Poluboyarinov P. A., Leshchenko P. P. Qualitative reaction for cysteine, reduced glutathione, and diacetophenonyl selenide, *Journal of Analytical Chemistry*, **68**(11), 949 (2013).
12. Mineev V. G., Sychev V. G., Amel'yanchik O. A., Bolysheva T. N., Gomonova N. F., Durygina E. P., Egorov V. S., Egorova E. V., Elemskaya N. L., Karpova E. A., Prizhukova V. G. *Manual on agrochemistry*, 689 p. (Moscow, Izdatel'stvo MGU, 2001). (in Russ.)
13. Ballatori N., Lieberman M. W., Wang W. N-acetylcysteine as an antidote in methylmercury poisoning, *Environ. Health Perspect.*, **106**(5), 267 (1998).
14. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.*, **72**, 248 (1976).
15. Blinokhvatov A. F., Denisova G. V., Ivanov A. I., Il'in D. Yu. Influence of selenium compounds on fungal growth and development. I. Micromycetes, *Mikologiya i fitopatologiya*, **34**(5), 42 (2000). (in Russ.)
16. Plonka P. M., Grabacka M. Melanin synthesis in microorganisms – biotechnological and medical aspects, *Acta Biochimica Polonica*, **53**(3), 429 (2006).

**УДК 519.15:591.636**

## **РОЛЬ ПОЛОВЫХ ФЕРОМОНОВ В ХИМИЧЕСКОЙ КОММУНИКАЦИИ СВИНЕЙ**

**Сеин О. Б.<sup>1</sup>, Субботина Н. Н.<sup>1</sup>, Мамаев А. В.<sup>1</sup>, Леуцков К. А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Курская государственная сельскохозяйственная академия имени И. И. Иванова, Курск, Россия*

<sup>2</sup>*Орловский государственный аграрный университет имени Н. В. Парахина, Орел, Россия*

*E-mail: seina.v@yandex.ru*

Целью работы являлось изучение биологической активности половых феромонов у хряков разных пород и диких кабанов и получение феромонального препарата для стимуляции репродуктивной функции у ремонтных свинок. Было проведено три эксперимента. В ходе проведения первого эксперимента с использованием биологического тестирования было установлено, что наибольшей биологической активностью обладали экстракты тканей семенников и придаточных половых желез, а также мочи, полученных от половозрелых хряков. При этом наиболее высокими показатели биологической активности были при исследовании материала от кабанов. Результаты второго эксперимента показали, что биологическая активность половых феромонов, содержащихся в моче хряков-производителей крупной белой породы, имела положительную корреляционную связь с содержанием тестостерона в их крови. При высоком уровне тестостерона регистрировался более высокий показатель биологической активности половых феромонов. Во время проведения третьего эксперимента был разработан способ получения препарата натуральных половых феромонов хряка. Результаты производственной апробации препарата показали, что после стимуляции неполовозрелых ремонтных свинок половое созревание у них наступало в среднем в 173-дневном возрасте, у свинок стимулированных синтетическим аналогом половых феромонов хряка суидором половозрелость проявлялась на 180-дневного возраста, а у контрольных животных – с 188-дневного возраста. У свинок обработанных половым феромонами половая охота протекала с хорошо выраженными симптомами. Показатели массы яичников и количество созревающих фолликулов были выше по сравнению с контролем. Толщина слизистой оболочки матки и наличие в ней маточных желез превышали таковые у свинок подвергавшихся стимуляции синтетическим аналогом половых феромонов суидором и у контрольных животных. Препарат рекомендуется к широкому использованию в практике свиноводства.

**Ключевые слова:** ремонтные свинки, половые феромоны, половая охота, половой цикл, стимуляция, репродуктивные органы.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Среди различных видов биокommunikаций, представляющих собой любой обмен информацией в природе, включая как специализированные, так и неспециализированные сигналы, регулирующие поведение и физиологические процессы у животных, большое значение имеет химическая коммуникация. Именно этот вид коммуникации является наиболее древним способом обмена информацией между животными. Воспринимая запахи и анализируя их, животные изменяют свои поведенческие реакции с учётом окружающей среды, обнаруживают корм, полового партнёра и врага [1].

Важная роль в химической коммуникации отводится феромонам, которые входят в состав компонентов выделений животных в окружающую среду и являются одним из обязательных элементов экосистемы. Обогащение или обеднение окружающей среды подобными биологически активными веществами может существенно влиять на темпы развития популяций, соотношение полов, выживаемость потомства, соотношение видов животных. Феромоны, как сигнальные компоненты, играют важную роль при искусственном разведении животных как диких, так и домашних [2, 3].

В настоящее время феромоны у млекопитающих разделяют по механизму их действия на рилизинг-феромоны и праймер-феромоны. К первым относятся биологически активные соединения, вызывающие немедленный поведенческий ответ, ими животные метят границы своего обитания и кодируют информацию о своём физиологическом состоянии. Ко вторым относятся половые феромоны – вещества с использованием которых особи противоположного пола получают информацию о сексуальной готовности [2, 3].

Исследование половых феромонов привело к пониманию важной роли их в жизнедеятельности животных. В источниках литературы имеются многочисленные работы, посвящённые исследованию половых феромонов у различных видов грызунов [5–8]. Исследования половых феромонов у крупных видов млекопитающих, в том числе и сельскохозяйственных животных, немногочисленны, а полученные результаты зачастую носят разнонаправленный характер. Это связано с тем, что вещества, входящие в комплекс половых феромонов, имеют различную химическую структуру и идентифицировать их весьма сложно даже при использовании современных масс-спектрометрических и хроматографических методов.

Из всех сельскохозяйственных животных половые феромоны наиболее хорошо изучены у свиней. В 1968 году R. L. S. Patterson впервые выделил из препуциальной железы хряка вещество, обладающее феромональной активностью. Этим соединением оказался стероид 5 $\alpha$ -андрост-16-ен-3он, затем был выделен соответствующий кетон – 5 $\alpha$ -андрост-16-ен-3 $\alpha$ -ол [9]. Впоследствии эти стероиды были обнаружены в моче и слюне хряков [10, 11]. Они также могут депонироваться в жировой клетчатке и внутренних органах, поэтому мясо и сало хряков, если они не подвергались кастрации, практически непригодны к употреблению.

Обнаруженные в экскретах половозрелых хряков андростенон и андростенол являются основными компонентами половых феромонов хряка, но не единственными. Если эти стероиды, находящиеся в моче хряков, инактивировать, то моча всё равно будет обладать феромональной активностью [12]. Это ещё раз подтверждает тот факт, что половые феромоны хряков представляют собой комплекс веществ.

Учитывая биологические свойства половых феромонов хряка и перспективу их использования в промышленном свиноводстве, были разработаны и апробированы в производстве их синтетические аналоги: «Суидор» (производство Германия), препарат СтО-1, который был синтезирован в Институте проблем экологии и эволюции имени А. Н. Северцова РАН [13, 14]. Однако данные препараты не

содержат всех компонентов, входящих в состав естественных половых феромонов хряка, поэтому уступают по своей биологической активности препаратам натуральных половых феромонов хряка.

Учитывая вышеизложенное целью настоящей работы являлось изучение биологической активности половых феромонов у хряков разных пород и диких кабанов и получение феромонального препарата для стимуляции репродуктивной функции у ремонтных свинок.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследование проводили в условиях ветеринарной клиники Курской государственной сельскохозяйственной академии имени И. И. Иванова и ЗАО Агрофирма «Любимовская» Курской области. Было проведено три эксперимента.

Во время первого эксперимента исследовали биологическую активность половых феромонов, содержащихся в тканях семенников, придаточных половых желез, мочевого пузыря и моче половозрелых хряков крупной белой, мангальской, вьетнамской вислобрюхой пород, а также диких кабанов, у которых получали материал после отстрела охотниками. Отобранные органы подвергали измельчению до фаршеобразного состояния, гомонизировали до однородной массы и экстрагировали. Методом биологического тестирования с использованием специального ольфактометра разработанной нами конструкции [15] в полученных экстрактах и моче определяли биологическую активность половых феромонов, которую выражали в процентах.

При проведении второго эксперимента была определена биологическая активность половых феромонов, содержащихся в моче хряков-производителей крупной белой породы в зависимости от гормональной активности семенников. Для этого исследовали феромоны в моче с использованием ольфактометра и содержание тестостерона с применением иммуноферментного метода и набора «Тестостерон – ИФА» (Алкор-Био, Россия).

Во время третьего эксперимента была разработана технология получения препарата натуральных половых феромонов хряка и проведена его научно-производственная апробация. С этой целью было сформировано три группы неполовозрелых свинок-аналогов. Первая группа являлась контрольной и стимуляции не подвергалась. Свинок второй группы стимулировали препаратом искусственного полового феромона хряка суидором. Свинки третьей группы подвергались стимуляции изготовленным препаратом, который распыляли в области носового зеркала животных с использованием электропульверизатора. Стимуляцию феромонами проводили в дозе 0,5 мл/гол два раза в день – утром и вечером, до наступления у свинок первой половой охоты, которую определяли по внешним клиническим признакам и поведенческим реакциям при кратковременном (5 мин) контакте с хряком-пробником.

В 8-месячном возрасте из каждой группы было убито по 5 свинок. После убоя извлекали матку, определяли её массу, линейные параметры, площадь, массу и объём яичников, а также подсчитывали в яичниках количество фолликулов и желтых тел прошлого полового цикла. Из середины рогов матки отбирали участки

для изготовления гистологических препаратов. С использованием винтового окулярмикрометра определяли толщину оболочек матки (окуляр х 7, объектив 8), а также подсчитывали количество срезов желез в слизистой матки (окуляр х 7, объектив 20) в десяти полях зрения микроскопа. Наиболее характерные изменения выявленные в структуре матки фотографировали с применением микроскопа XSP-107E и цифровой фотокамеры.

Биометрическую обработку полученных данных проводили с использованием общепринятых методов (П. Ф. Плохинский, 1974) и компьютерной программы Microsoft Office Excel 2010.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

При проведении первого эксперимента было установлено (табл. 1), что наиболее высоким показателем биологической активности половых феромонов отмечался при тестировании экстрактов полученных из тканей семенников и придаточных половых желез. Несколько ниже данный показатель был при тестировании экстрактов из тканей мочевого пузыря. В то же время биологическая активность мочи была относительно высокой у всех исследуемых животных и уступала только показателям полученным при исследовании тканей семенников.

**Таблица 1**

**Биологическая активность половых феромонов, содержащихся в тканях органов и моче половозрелых хряков разных пород**

Исследуемые животные	Активность половых феромонов в тканях органов и моче, %			
	семенники	придаточные половые железы	мочевой пузырь	моча
Крупная белая	84,5±4,3	78,6±4,4	70,7±5,6	80,5±4,1
Мангальская	77,0±4,0	72,0±5,9	70,9±4,5	74,3±5,0
Вьетнамская вислобрюхая	75,5±3,9	71,6±4,6	68,6±4,0	72,5±5,6
Кабан	91,0±5,2	84,5±5,3	81,3±5,0	89,0±4,7

При рассмотрении показателей биологической активности половых феромонов с учётом породы свиней можно отметить, что наиболее высокой она была у кабанов. В этом случае во всех тестируемых объектах биологическая активность превышала показатели полученные у других пород свиней. Наименьшая биологическая активность половых феромонов регистрировалась у свиней вьетнамской породы.

Результаты второго эксперимента показали (рис. 1), что биологическая активность половых феромонов, содержащихся в моче хряков-производителей крупной белой породы, имела положительную корреляционную связь ( $r=0,70-0,78$ ) с содержанием тестостерона в их крови. Так, у хряков с высоким уровнем в крови

тестостерона отмечался более высокий показатель биологической активности половых феромонов.

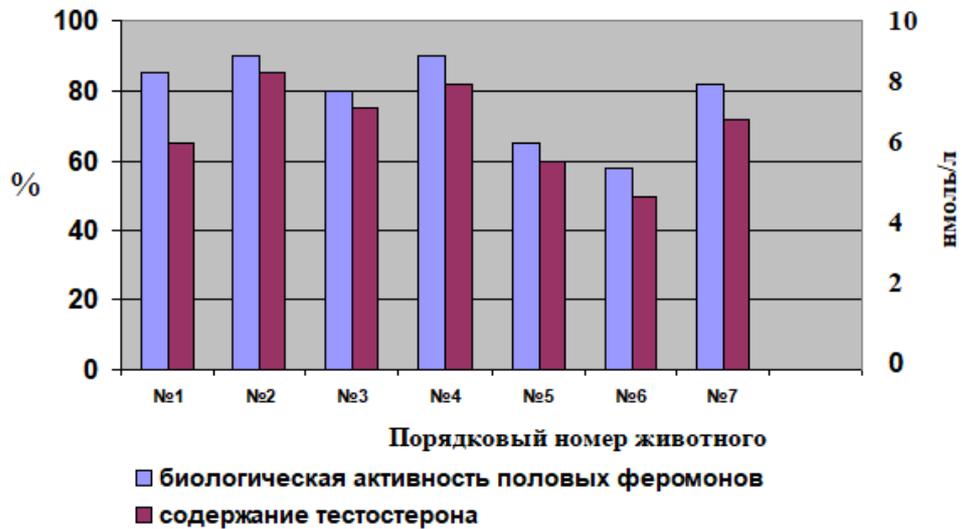


Рис. 1. Биологическая активность половых феромонов, содержащихся в моче хряков-производителей в зависимости от гормональной активности семенников.

В ходе третьего эксперимента был разработан способ получения препарата натуральных половых феромонов хряка. Принцип данного способа заключался в том, что проводили отбор семенников и мочевых пузырей у половозрелых хряков во время их убоя, отвешивали равное количество органов и измельчали вначале до фаршеобразного состояния, а затем гомогенизировали в присутствии полисорбата Твин-80 с последующим инкубированием при температуре 37–39 °С в течение 50–60 мин. В полученную массу вносили мочу половозрелых хряков, смешивали и помещали в роторный испаритель R-213В (КНР), с использованием которого получали конденсат, являющийся препаратом натуральных половых феромонов хряка. Препарат представлял собой прозрачную жидкость с желтоватым оттенком со слабовыраженным запахом. После проверки препарата на безвредность с использованием лабораторных животных и свиней, была проведена его научно-производственная апробация в условиях свиноводческого комплекса.

Результаты апробации показали, что после стимуляции неполовозрелых свинок у них наступало половое созревание в среднем в 173-дневном возрасте, у свинок стимулированных препаратом суидор половозрелость регистрировалась с 180-дней, а у контрольных животных – с 188-дневного возраста.

Наблюдение за подопытными животными показало, что у свинок, подвергавшихся стимуляции феромональными препаратами, феномены стадии возбуждения полового цикла протекали более выражено. Во время половой охоты свинки активно реагировали на хряка-пробника, вспрыгивали на других животных,

находившихся в станке. При этом клинические изменения со стороны наружных половых органов как у стимулированных свинок, так и у контрольных животных, не отмечались.

Сравнительный анализ показателей отражающих развитие матки у свинок опытных и контрольных групп (табл. 2) свидетельствует, что они не имели достоверного ( $p < 0,05$ ) различия, за исключением массы яичников и количества фолликулов диаметром больше 0,3 см.

**Таблица 2**

**Развитие матки у свинок, подвергавшихся стимуляции половыми феромонами хряка**

Показатели	Группа		
	1 (контрольная)	2 (опытная)	3 (опытная)
Масса матки, г	37,05±10,4	387,7±7,7	388,4±11,0
Длина рогов матки, см	191,0±7,3	200,8±8,0	202,5±7,7
Площадь рогов матки, см <sup>2</sup>	910,5±10,8	964,5±11,4	977,5±9,6
Длина яйцеводов, см	34,5±2,2	35,9±1,9	37,7±2,5
Масса яичников, г	6,7±0,7	9,0±0,7*	9,2±0,6*
Объём яичников, см <sup>3</sup>	6,6±0,8	8,0±0,6	8,1±0,7
Количество фолликулов диаметром > 0,3 см	12,3±1,1	16,4±1,1*	16,8±1,4*
Количество жёлтых тел прошлого полового цикла	9,8±2,1	12,0±2,1	12,8±2,4

*Примечание:*\* при  $p < 0,05$  по сравнению с показателями контрольной группы

В то же время со стороны гистологической структуры стенки матки у свинок, подвергавшихся стимуляции регистрировались характерные изменения (табл. 3). Так, толщина мышечной и слизистой оболочек матки у свинок стимулированных изготовленным препаратом половых феромонов соответственно составляла 635,0±21,0 мкм и 1705,5±53,0 мкм, что было больше по сравнению со свинками второй опытной группы (619,0±27,5 мкм; 1644,5±63,8 мкм) и контрольными животными (608,5±20,5 мкм; 1418,5±44,7 мкм). В толще слизистой хорошо просматривались срезы маточных желез, большого диаметра, в просветах которых содержался секрет. При этом количество желёз в поверхностном слое слизистой оболочки матки у свинок стимулированных феромонами было достоверно ( $p < 0,05$ ) больше по сравнению с контрольными животными.

**Таблица 3**

**Гистологическая структура матки у свинок, подвергавшихся стимуляции половыми феромонами хряка**

Группа	Показатели			
	Толщина мышечной оболочки, мкм	Толщина слизистой оболочки, мкм	Количество маточных желёз в слизистой оболочке	
			в поверхностной части слизистой	в глубокой части слизистой
1 (контрольная)	608,5±15,3	1418,5±44,7	20,1±1,4	57,0±7,4
2 (опытная)	619,0±27,5	1644,5±63,8*	27,0±1,8*	65,1±8,4
3 (опытная)	635,0±21,0	1705,5±53,0*	28,7±2,0*	70,5±7,1

*Примечание:* \* – при  $p < 0,05$  по сравнению с показателями контрольной группы

Гистологическая структура слизистой оболочки матки у свинок контрольной группы характеризовалась большим количеством срезов маточных желёз со скошенными контурами, наличием клеток с ядрами небольшого диаметра со слабо окрашенной цитоплазмой. В просветах клеток отмечалось небольшое количество секрета. Выявленные изменения свидетельствуют о пониженной функциональной активности маточных желёз.

В гистоструктуре миометрия у опытных и контрольных животных существенных различий выявлено не было. У свинок, подвергавшихся стимуляции изготовленным препаратом, толщина миометрия была несколько больше по сравнению с животными второй опытной группы и контрольными животными, однако выявленные различия имели недостоверный ( $p > 0,05$ ) характер.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты проведённых нами исследований подтверждают важную роль половых феромонов в жизнедеятельности домашних животных. Вырабатываясь в организме самцов и самок половые феромоны, являясь летучими хемосигналами, оказывают влияние на нейроэндокринные процессы, модифицируют поведенческие реакции, принимают активное участие в химической коммуникации животных.

Многочисленными исследованиями проведёнными отечественными и зарубежными учеными подтверждена эффективность использования половых феромонов хряков с целью стимуляции половой функции у ремонтных свинок и основных у свиноматок. Полученный нами препарат половых феромонов обладает

выраженной стимулирующей активностью. При этом являясь природным стимулятором препарат не оказывает отрицательного влияния на гипоталамо-гипофизарно-овариальный комплекс самок, что нередко наблюдается при использовании гормональных и гонадотропных препаратов. Дозированная обработка неполовозрелых свинок препаратом половых феромонов позволяет заменить хряков-пробников, которых используют в свиноводческих хозяйствах для стимуляции половой функции у свиноматок. Учитывая дефицитность и высокую стоимость синтетических аналогов половых феромонов хряка, разработанный нами феромональный препарат можно рекомендовать к широкому использованию в практике свиноводства.

### Список литературы

1. Иваницкий В. В. Коммуникация у животных: теория и факты / В. В. Иваницкий // Сб. науч. статей. Поведение животных и человек: сходство и различия. – Пушино. – 1989. – С.77–85.
2. Соколов В. Е. Основные задачи исследования химической коммуникации млекопитающих / В. Е. Соколов, Э. П. Зинкевич // Химическая коммуникация животных. Теория и практика. Сб. научн. статей. – М.: Наука, 1986. – С.213–220.
3. Новиков С. Н. Феромоны и размножение млекопитающих / С. Н. Новиков – Л.: Наука, 1988. – 169 с.
4. Зинкевич Э. П. Влияние обонятельных сигналов на поведение и физиологическое состояние овцы / Э. П. Зинкевич, Т. В. Гриненко // Химическая коммуникация животных. Теория и практика. Сб. научн. статей. – М.: Наука, 1986. – С. 384–399.
5. Новиков С. Н. Действие летучих компонентов мочи на генеративную функцию неполовозрелых самцов домашней мыши *Mus musculus* L. / С. Н. Новиков, Е. В. Даев, Р. И. Цапыгина // Доклады АН СССР. – 1985. – Т. 281. – С. 1506–1508.
6. Суров А. В. Обонятельные сигналы пола у млекопитающих: анализ подходов / А. В. Суров, Н. Д. Бодяк, А. В. Соловьёва // Зоолог. Журнал. – 1998. – Т.77, №1. – С. 101–107.
7. Mc Kinney T. D. Estrus cycle in house mice: effects of grouping, preputial gland odors, and handling / T. D. Mc Kinney // J. Mammal. – 1972. – V. 53. –P. 391–393.
8. Patterson R. L. S. Identification of a 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -androsterone-16-en as a musk odour component of boar submaxillary salivary gland and its relationship to sex odour taint in pork meat / R. L. S. Patterson // J. Sci. Res Agriculture. – 1968. – V. 19. – P. 434–438.
9. Melrose D. R. Androgen steroids associated with boar odour as an aid to The detection of oestrus in pig artificial insemination / D. R. Melrose, H. C. B. Reed, R. L. S. Patterson // Brit. Vet. J. – 1971. – V.127. – P. 497–502.
10. Signoret J. P. Reproductive behaviour of pigs / J. P. Signoret // J. Reprod. Fert. Suppl. – 1970. – V.11. – P. 105–117.
11. Perry G. C. Submaxillary salivary gland involvement in porcine mating behaviour / G. C. Perry, R. L. S. Patterson, G. C. Stinson // Porc. Congress Int. Reprod. Anim. Insemination Artif., Ist. – 1972. – P. 396–399.
12. Сеин О. Б. Половые феромоны, их роль в химической коммуникации человека и животных / О. Б. Сеин // Мат-лы Всерос. науч.-практ. конф. посвящённой 120-летию ветеринарной службы Курской обл. –Курск. Из-во Планета, 2005. – С. 343–352.
13. Соколов В. Е. Влияние искусственного полового феромона хряка на воспроизводство свиней в условиях промышленной технологии. Химическая коммуникация животных. Теория и практика / В. Е. Соколов, Э. П. Зинкевич, В. А. Володин // Сб. научн. статей. М.: Наука, 1986. – С. 403–409.
14. Нарижный А. Г. Эффективность применения синтетического феромона хряка «Суидор» при различных условиях содержания свиноматок / А. Г. Нарижный, Г. С. Походня // Бюл. ВНИИ разведения и генетика с.-х. животных, 1987. – В. 94. – С.14–17.
15. Патент РФ №99179. – 2010. Ольфактометр для определения биологической активности половых феромонов хряка. Авт. Сеин О. Б., Сеин Д. О., Бабанин. Н. А.

## ROLE OF SEXUAL PEROMONES IN CHEMICAL COMMUNICATION OF PIGS

Sein O. B.<sup>1</sup>, Subbotina N. N.<sup>1</sup>, Mamaev A. V.<sup>1</sup>, Leshchukov K. A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kursk State Agricultural Academy named after I. I. Ivanova, Kursk, Russia

<sup>2</sup>Oryol State Agrarian University named after N. V. Parakhina, Oryol, Russia

E-mail: seina.v@yandex.ru

The aim of the work was to study the biological activity of sex pheromones in boars of different breeds and wild boars and to obtain a pheromonal drug to stimulate reproductive function in gilts. Three experiments were carried out. In the course of the first experiment using biological testing, it was found that the extracts of the tissues of the testes and accessory gonads, as well as urine obtained from sexually mature boars, had the highest biological activity. At the same time, the highest indicators of biological activity were observed in the study of material from wild boars. The results of the second experiment showed that the biological activity of sex pheromones contained in the urine of large white breeding boars had a positive correlation with the testosterone content in their blood. With a high level of testosterone, a higher indicator of the biological activity of sex pheromones was recorded. During the third experiment, a method was developed for obtaining a preparation of natural sex pheromones of a boar. The principle of the method was that after crushing the testes and bladders in the presence of polysorbate Tween-80, incubation was carried out at a temperature of 37–39 °C for 50–60 minutes. The resulting mass was added to the urine of sexually mature boars and using a rotary evaporator R-213B received a condensate, which is a preparation of natural sex pheromones of a boar. The results of industrial testing of the drug showed that after stimulation of immature gilts, puberty began on average at 173 days of age, in gilts stimulated with a synthetic analogue of boar sex pheromones *suidor*, sexual maturity was manifested at 180 days of age, and in control animals - from 188 days of age. In the gilts treated with sex pheromones, the heatwave proceeded with well-pronounced symptoms. Indicators of ovarian mass and the number of maturing follicles were higher compared to the control. The thickness of the mucous membrane of the uterus and the presence of uterine glands in it exceeded those in pigs exposed to stimulation with the synthetic analogue of sex pheromones *Suidor* and in control animals. The drug is recommended for widespread use in the practice of pig breeding.

**Keywords:** repair pigs, sexual pheromones, sexual hunting, sexual cycle, stimulation, reproductive organs.

### References

1. Ivanitskiy V. V. *Communication in animals: theory and facts, Sat. scientific. articles*. Animal and Human Behavior: Similarities and Differences, 77 (Pushchino, 1989).
2. Sokolov V.E., Zinkevich E.P. The main tasks of the study of chemical communication in mammals, *Chemical communication of animals. Theory and practice. Sat. scientific. Articles*, 213 (M.: Nauka, 1986).
3. Novikov S. N. *Pheromones and reproduction of mammals*, 169 s. (L.: Nauka, 1988).

4. Zinkevich E. P., Grinenko T. V. Influence of olfactory signals on behavior and physiological state of sheep, *Chemical communication of animals. Theory and practice. Sat. scientific. Articles*, 384 (M.: Nauka, 1986).
5. Novikov S. N., Daev E. V., Tsapygin R. I. Effect of volatile components of urine on the generative function of immature male house mice *Mus musculus* L., *Reports of the USSR Academy of Sciences*, **281**, 1506 (1985).
6. Surov A. V., Bodyak N. D., Solovyova A. V. Olfactory sex signals in mammals: analysis of approaches, *Zoologist. Magazine*, **77**, **1**, 101 (1998).
7. Mc Kinney T.D. Estrus cycle in house mice: effects of grouping, preputial gland odors, and handling. *J. Mammal.*, **53**, 391 (1972).
8. Patterson R. L. S. Identification of a 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -androst-16-en as a musk odour component of boar submaxillary salivary gland and its relationship to sex odour taint in pork meat, *J. Sci. Res Agriculture*, **19**, 434 (1968).
9. Melrose D. R., Reed H. C. B., Patterson R. L. S. Androgen steroids associated with boar odour as an aid to the detection of oestrus in pig artificial insemination, *Brit. Vet. J.*, **127**, 497 (1971).
10. Signoret J.P. Reproductive behavior of pigs, *J. Reprod. Fert. Suppl.*, **11**, 105 (1970).
11. Perry G. C., Patterson R. L. S., Stinson G. C. Submaxillary salivary gland involvement in porcine mating behavior, *Porc. Congress Int. Reprod. Anim. Insemination Artif., Ist.*, 396 (1972).
12. Sein O.B. *Sex pheromones, their role in chemical communication between humans and animals*, Ma-ly Vseros. scientific-practical conf. dedicated to the 120th anniversary of the veterinary service of the Kursk region, 343 (Kursk. From-in Planet, 2005).
13. Sokolov V. E., Zinkevich E. P., Volodin V. A. *Influence of boar artificial sex pheromone on pig reproduction under industrial technology*. Chemical communication of animals. Theory and practice, Sat. scientific. Articles, 403 (Moscow: Nauka, 1986).
14. Narizhny A. G., Walking G. S. The effectiveness of the use of the synthetic pheromone of the boar "Suidor" under different conditions of keeping sows, *Bul. All-Russian Research Institute of Breeding and Genetics of Agricultural Sciences animals*, **94**, 14 (1987).
15. RF patent No. 99179. 2010. Olfactometer for determining the biological activity of boar sex pheromones. Auth. Sein O. B., Sein D. O., Babanin N. A.

**УДК 591.111.1:591.111.2:637.04**

## **ВЛИЯНИЕ ПОДКИСЛИТЕЛЯ «БИСАЛТЕК» НА ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МЫШЦ, МОРФО–БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ЦЫПЛЯТ–БРОЙЛЕРОВ**

*Талдыкина А. А., Семенютин В. В., Безбородов Н. В.*

*ФГБОУ ВО Белгородский ГАУ, Белгород, Россия  
E-mail: polevodova89@mail.ru*

В статье представлены результаты проведенных исследований по включению в рацион кормления цыплят–бройлеров кросса «Hubbard F15» добавки–подкислителя «БиСалТек». Было сформировано 4 группы (I–К – контрольная, II, III и IV – опытные) по 50 голов в каждой. Птица всех групп получала основной рацион, а II, III и IV – дополнительно «БиСалТек» из расчёта 1,5; 2,0; 2,5 л/т воды курсами с 1 по 10 и с 34 по 38 сутки жизни. Наибольшие различия по химическому составу мышц относительно контрольной показаны в IV группе. В грудных мышцах увеличилось: сухое вещество – на 1,1 %; сырой протеин – на 0,9 %; азот – на 0,1 %; жир – на 0,3 %; триптофан – на 0,2 %; а в бедренных – на 4,9; 2,2; 0,4; 2,9; 0,3 % соответственно и зола – на 0,2 %. В крови цыплят IV группы показана большая концентрация гемоглобина – на 4,3 % и эритроцитов – на 5,6 %, общего белка – на 21,0 % и меньшее содержание лейкоцитов на 28,6 %. Применение подкислителя «БиСалТек» в дозе 2,5 л/т воды (IV группа) способствовало увеличению живой массы цыплят к концу выращивания на 8,1 % и сохранности поголовья на 4 %.

**Ключевые слова:** подкислитель, цыплята–бройлеры, химический состав мяса, морфо–биохимия крови, продуктивность.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Промышленное птицеводство России несёт большие экономические потери, связанные с ежегодным падежом сельскохозяйственной птицы. Среди причин отхода основное место занимают болезни желудочно–кишечного тракта, возбудителями которых является условно–патогенная микрофлора, которая присутствует в кормах и питьевой воде. Поэтому специалисты озадачены поиском методов и способов, которые могут активировать собственные защитные силы организма. Одним из таковых являются кормовые добавки.

В настоящее время кормовые добавки стали неотъемлемой частью рационов для птицы. В нашей стране производят пребиотики и пробиотики, некоторые ферменты и минералы, комплексы органических кислот, адсорбенты и другие продукты. На конец марта 2020 г. Россельхознадзор зарегистрировал 2955 кормовых добавок, из которых 605 (20 %) — отечественные. На рынке кормовых добавок России представлена продукция 160 отечественных и более 700 зарубежных производителей [1].

В перечень добавок входят подкислители. Они снижают величину рН питьевой воды и корма, а также препятствуют жизнедеятельности патогенной микрофлоры

[2, 3], для подавления которой до недавнего времени широко применяли антибиотики. Показанная замена обусловлена тем, что регулярное использование антибиотиков в субтерапевтических дозах приводит к развитию толерантности патогенной микрофлоры желудочно-кишечного тракта цыплят, способствует расстройству пищеварения и нарушает кишечный микробиоценоз [4, 5]. А рост, развитие и продуктивность птицы во многом зависит от формирования нормальной микрофлоры в кишечнике [6].

Добавки на основе органических кислот широко используют также и в качестве добавок к кормам для сохранения зерна [7]. Они минимизируют зародышевую активность в хранящихся кормах и уменьшают степень поражения их насекомыми.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Целью наших исследований явилось изучение влияния органических кислот на химический состав грудных и бедренных мышц, морфо-биохимические показатели крови и продуктивность цыплят-бройлеров.

Исследования проведены в условиях учебно-научной птицеводческой фабрики БелГАУ им. В.Я. Горина на цыплятах-бройлерах кросса Hubbard F15 в возрастной период 1–38 суток. По принципу пар-аналогов из цыплят одного возраста и партии вывода было сформировано 4 группы (n=50). Первая – контрольная группа получала основной рацион (ОР), а цыплятам II, III, IV опытных групп, дополнительно в ОР, был включен подкислитель «БиСАлТек». Добавка представляет собой комплекс органических кислот (муравьиной – 34,9 %, пропионовой – 24,1 %, уксусной – 23,9 %, катиона аммония – 5,4 %) и меди (0,16 %). Её введение осуществляли путём добавления в индивидуальные поилки курсами: с 1 по 10 и с 34 по 38 сутки из расчёта: II группе – 1,5; III – 2,0 и IV – 2,5 л на тонну воды.

Для исследования химического состава мяса цыплят-бройлеров у 3-х голов из каждой группы при убое отбирали грудные и бедренные мышцы. В мышечной ткани определяли – влагоёмкость – пресс-методом по Грау и Хаму; жир – по обезжиренному остатку – методом С. В. Рушковского; влагу – высушиванием вещества до постоянной массы; золу – методом сухого озоления; сырой протеин и общий азот – по методу Кьельдаля; триптофан – по методу Снайза и Чемберза в модификации Геллера (1958); оксипролин – по Ньюмену и Логану с применением кислотного гидролиза по Вербицкому; БПК – отношением триптофана к оксипролину.

Кровь для физиолого-биохимических исследований от 3 голов каждой группы получали на 38-е сутки через надрез яремной вены. В цельной крови определяли: гемоглобин – гемиглобин-цианидным методом; лейкоциты и эритроциты – подсчётом в камере Горяева; среднее содержание гемоглобина в эритроците (ССГЭ) – расчетным путём; скорость оседания эритроцитов (СОЭ) – микрометодом Панченкова. В сыворотке крови определяли: содержание общего белка – рефрактометрически; альбуминов и белковых фракций – методом электрофореза; активность АсАТ и АлАТ – динитрофенилгидрозоновым по Рейтману-Френкелю); щелочную фосфатазу – по гидролизу β-глицерофосфата (метод Бодански);

билирубин– по диазореакции (метод Ендрассика-Клеггорна–Грофа).

Учёт живой массы проводили каждые 7 суток.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования химического состава грудных и бедренных мышц при использовании подкислителя «БиСАЛТек» представлены в таблицах 1 и 2. Из таблицы 1 видно, что применение добавки повлияло на содержание сухого вещества в грудных мышцах. У птицы II и III групп, по отношению к I–К, показана тенденция к увеличению содержания сухого вещества, а в IV группе однонаправленные изменения достигли достоверных различий – 1,1 % ( $p < 0,01$ ).

Таблица 1.

#### Химический состав грудных мышц, %

Показатели	I–К	II	III	IV
Влага, %	74,13±0,85	73,87±0,70	73,80±0,33	73,07±0,05
Сухое вещество, %	25,87±0,06	26,13±0,54	26,20±0,14	26,93±0,21**
Сырой протеин, %	22,48±0,21	22,89±0,18	23,05±0,06	23,34±0,08*
Азот общий, %	3,60±0,05	3,66±0,03	3,69±0,01	3,73±0,01*
Азот небелковый, %	0,31±0,02	0,30±0,01	0,30±0,01	0,29±0,01
Жир, %	1,42±0,03	1,73±0,02**	1,73±0,09*	1,75±0,08*
Зола, %	1,18±0,08	1,21±0,10	1,30±0,03	1,34±0,02
Триптофан, %	1,02±0,04	1,02±0,03	1,23±0,05*	1,25±0,04*
Оксипролин, %	0,27±0,01	0,27±0,01	0,28±0,02	0,28±0,01
БПК, ед	3,73±0,01	3,79±0,07	4,36±0,31	4,44±0,31

Примечание: здесь и далее \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  – статистически значимые результаты в сравнении с контролем.

Все показатели, характеризующие содержание азота в грудных мышцах – общий и небелковый, а также показатель сырого протеина, весьма близки по своему значению между контролем и опытными группами. В тоже время, имелись некоторые различия по протеину. Во II и III группах он вырос, в сравнении с I группой, на 0,4 и 0,6 % ( $p > 0,05$ ), а в IV – на 0,9 % ( $p < 0,05$ ). Достоверные различия по концентрации общего азота, среди опытных групп в сравнении с контролем, имела лишь IV группа ( $p < 0,05$ ).

Использование подкислителя способствовало увеличению сырого жира (табл.1) в грудных мышцах цыплят. Во II, III и IV опытных группах данный показатель увеличился на 0,3 % при разной степени достоверности ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,05$  и  $p < 0,05$  соответственно), в сравнении с I–К. Объяснением этого факта может быть полученная нами достоверно большая переваримость протеина и БЭВ рациона на

фоне потребления «БиСАлТек» [8], так как из литературы известно, что из 100 г белка и крахмала образуется 26,2 и 25,2 г жира соответственно [9, 10].

Показатели зольности во всех опытных группах были выше контрольной на уровне тенденции.

Содержание триптофана в III и IV группах было выше на 0,2 % при  $p < 0,05$ , по сравнению с I–K.

Белковый показатель качества (БПК), характеризующий пищевую ценность мяса, представляет собой отношение содержания триптофана к оксипролину, частично отражая аминокислотную полноценность [11]. Чем больше соотношение триптофана к оксипролину, тем выше биологическая ценность белков мяса. По отношению триптофана к оксипролину и полноценных белков к неполноценным мясо цыплят–бройлеров превосходит мясо других сельскохозяйственных животных.

В нашем опыте БПК (табл. 1) грудных мышц в опытных группах увеличился, на уровне тенденции, по сравнению с контрольной на 1,6; 16,9; 19,0 % во II, III и IV группе соответственно.

Химический состав бедренных мышц приведен в таблице 2.

Таблица 2.

Химический состав бедренных мышц, %

Показатели	I–K	II	III	IV
Влага, %	70,86±0,24	69,79±0,55	67,94±0,42*	65,93±0,72*
Сухое вещество, %	29,14±0,23	30,21±0,06*	32,06±0,82*	34,07±1,38*
Сырой протеин, %	17,31±0,09	17,92±0,70	18,50±0,47	19,51±0,40**
Азот общий, %	2,77±0,02	2,87±0,01	2,96±0,08	3,12±0,02**
Азот небелковый, %	0,36±0,02	0,35±0,02	0,35±0,02	0,35±0,03
Жир, %	10,21±0,18	11,24±0,20*	12,14±0,21**	13,11±0,52**
Зола, %	0,94±0,03	0,99±0,02	1,03±0,08	1,11±0,07**
Триптофан, %	1,12±0,04	1,28±0,03	1,35±0,02**	1,38±0,03**
Оксипролин, %	0,32±0,02	0,34±0,01	0,36±0,01	0,36±0,02
БПК, ед	3,56±0,17	3,62±0,18	3,71±0,06	3,89±0,27

Из данных, приведенных в таблице 2 видно, по сравнению с I–K группой во II, III, IV группах увеличились показатели: сухого вещества – на 1,1; 2,9 и 4,9 % (при  $p < 0,05$ ); сырого протеина – на 0,6 ( $p > 0,05$ ); 1,1 ( $p > 0,05$ ); 2,2 % ( $p < 0,01$ ); общего азота – на 0,1 ( $p > 0,05$ ); 0,2 ( $p > 0,05$ ); 0,4 % ( $p < 0,01$ ); жира – на 1,0 ( $p < 0,05$ ); 1,9 ( $p < 0,01$ ) и 2,9 % ( $p < 0,01$ ); золы – на 0,1 ( $p > 0,05$ ); 0,1 ( $p > 0,05$ ); 0,2 % ( $p < 0,01$ ) соответственно.

Кроме того, в данных исследованиях, во II, III и IV группах мы наблюдали увеличение, по отношению к I группе, триптофана на 0,1 ( $p > 0,05$ ); 0,2 ( $p < 0,01$ ); 0,3 ( $p < 0,01$ ). При этом содержание оксипролина в бедренных мышцах не имело существенных различий между группами. В результате белковый показатель

качества бедренных мышц имел тенденцию к увеличению в опытных группах (II, III, IV) на 1,7; 4,2; 9,3 %, по сравнению с контрольной (табл. 2).

Количественные уровни морфологических и биохимических компонентов крови является основным информативным тестом, отражающим течение физиологических процессов, происходящих в организме. Их изменения на фоне потребления разных доз «БиСАлТек» приведены в таблице 3.

Из данных, приведенных в таблице 3 видно, что концентрация гемоглобина в I, II и III группах не имела различий, при этом в IV она достоверно превышала контроль на 4,3 % ( $p < 0,05$ ). Показанной разнице соответствовало и увеличение, относительно контроля, количества эритроцитов на 5,6 % ( $p < 0,05$ ). В то же время, среднее содержание гемоглобина в эритроците (ССГЭ) у цыплят не имело существенных межгрупповых различий.

Таблица 3.

**Показатели крови 38–суточных цыплят–бройлеров на фоне разных доз «БиСАлТек»**

Показатели	Группы			
	I–К	II	III	IV
Гемоглобин, г/л	101,33±0,90	101,40±1,52	102,00±1,00	105,67±0,4*
Эритроциты, млн/мкл	2,32±0,04	2,15±0,16	2,32±0,12	2,45±0,02*
ССГЭ, пг	43,68±1,14	47,16±4,21	43,97±2,71	43,13±0,52
Лейкоциты, тыс/мкл	63,00±2,31	60,33±3,93	56,33±4,34	45,00±4,52*
Общий белок, г/л	37,83±1,77	39,40±1,08	39,83±1,58	45,83±2,05*
Альбумины, %	50,75±0,50	48,74±1,84	48,60±0,24*	47,60±0,22**
Глобулины, %				
–α	49,25	51,26	51,40	52,40
–β	17,50±0,71	22,65±0,56*	18,18±1,70	18,33±0,95
–γ	11,06±1,01	11,00±0,58	11,20±0,20	12,97±0,47
	20,69±0,45	17,61±3,50	22,02±0,05*	21,10±1,87
Коэффициент А/Г	1,03	0,95	0,95	0,91

Количество лейкоцитов в крови цыплят всех групп превышало физиологическую норму (20–40 тыс/мкл). В I, II, III и IV группах на 36,5; 50,8; 40,8 и 12,5 % соответственно. Однако, относительно контрольной группы, нами показана тенденция к их снижению во II, III группах на 4,2 % и 10,6 %, и достоверная разница в IV – на 28,6 % ( $p < 0,05$ ). По нашему мнению, это может свидетельствовать о противовоспалительных свойствах подкислителя «БиСАлТек».

Противоположная направленность установлена для концентрации общего белка. Несмотря на то, что его содержание в крови было ниже физиологической нормы (43–59 г/л), во II и III группах прослеживалась тенденция к его увеличению относительно I – на 4,2%; 5,3 %, а в IV он стал достоверно выше на 21,0 %, ( $p < 0,05$ ). Это обусловлено, как показали исследования, лучшей переваримостью рациона [8].

Анализ белковых фракций показал снижение уровня альбуминов в опытных группах по отношению к контрольной во II, III и IV группах на 2,0 % ( $p>0,05$ ); 2,2 % ( $p<0,05$ ) и 3,2 % ( $p<0,01$ ) соответственно. При этом, мы наблюдали разнонаправленные изменения глобулиновых фракций.

Нами показано, что  $\alpha$ -глобулиновая фракция во II группе увеличилась по сравнению с I – на 5,2 % ( $p<0,05$ ), а в III и IV она осталась без изменений. Бета-глобулиновая фракция не имела различий между группами. Доля  $\gamma$ -глобулинов, относительно контроля, во II группе имела тенденцию к снижению, в III – была достоверно выше на 1,3 % ( $p<0,05$ ) и не имела различий в IV. Белковый коэффициент во всех группах соответствовал физиологической норме (0,9–1,4).

Применение подкислителя «БиСАлТек» способствовало увеличению живой массы цыплят (рис. 1).

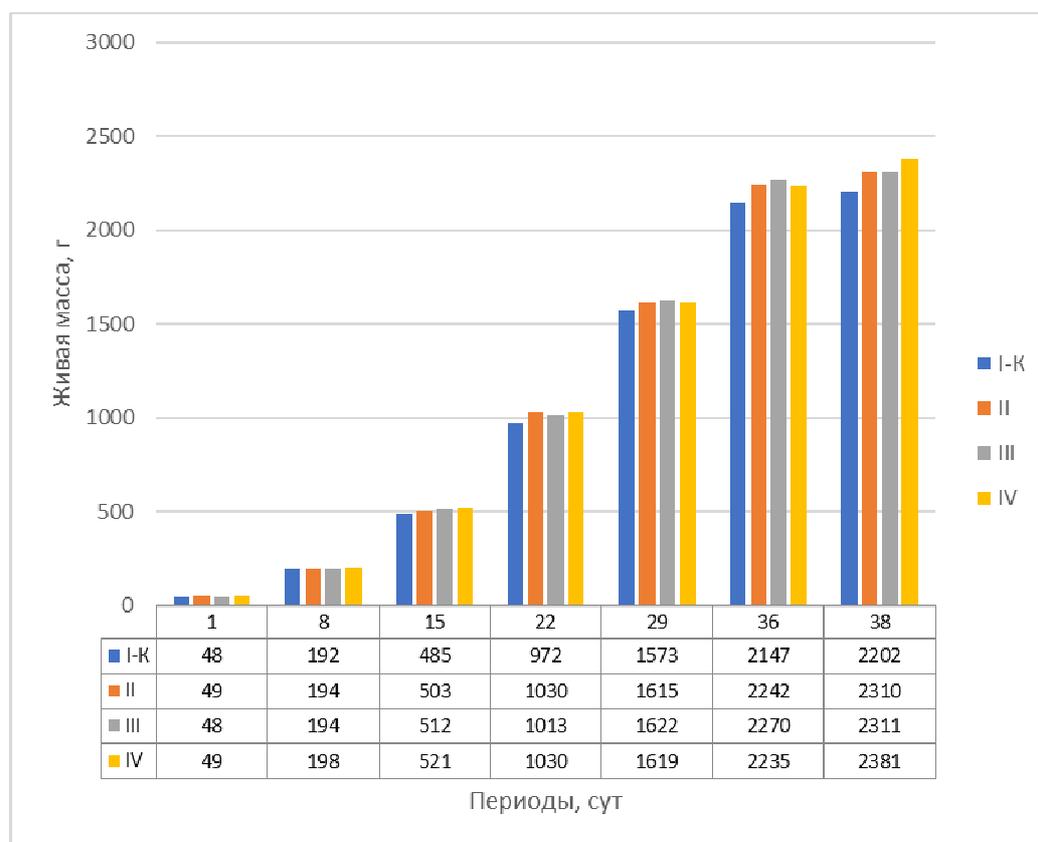


Рис. 1. Динамика изменения живой массы цыплят на фоне "БиСАлТек".

Наибольшая достоверная разница показана в IV группе при дозе введения «БиСАлТек» – 2,5 л/т воды.

На рисунке 1 представлена динамика изменения живой массы цыплят на протяжении всего периода выращивания.

Живая масса цыплят на 8-е сутки составила в I–K группе  $192,16 \pm 1,14$  г; а во II, III и IV –  $193,52 \pm 1,41$  ( $p > 0,05$ );  $193,88 \pm 1,44$  ( $p > 0,05$ );  $198,16 \pm 1,43$  ( $p < 0,01$ ) г соответственно, что на 0,7; 0,9; 3,1 % выше, чем в контрольной.

На 15-е сутки живая масса цыплят во II, III и IV опытных группах составила  $502,6 \pm 5,9$  ( $p > 0,05$ );  $512,3 \pm 3,1$  ( $p < 0,01$ ) и  $521,2 \pm 2,7$  г ( $p < 0,001$ ), что превысило аналогичный показатель контрольной группы ( $484,5 \pm 8,1$ ) на 3,7; 5,7; 7,6 %.

Живая масса цыплят на 22-е сутки во II, III и IV группах составила  $1030,1 \pm 14,1$ ;  $1013,1 \pm 15,1$  и  $1030,2 \pm 14,6$ , что на 5,9 ( $p < 0,05$ ); 4,2 ( $p > 0,05$ ); 6,0 % ( $p < 0,05$ ) превысила показатель контрольной группы ( $972,3 \pm 18,9$ ).

К концу выращивания, живая масса цыплят II, III и IV групп также превысила показатель контрольной на 4,9 ( $p > 0,05$ ); 4,9 ( $p < 0,01$ ) и 8,1 % ( $p < 0,01$ ) ( $2309,8 \pm 48,7$ ;  $2310,9 \pm 8,9$ ;  $2381,4 \pm 8,3$  против  $2381,4 \pm 8,3$  соответственно).

Применение комплексов органических кислот позволяет создать оптимальные условия pH среды для угнетения процесса размножения условно-патогенной микрофлоры в желудочно-кишечном тракте, оптимально развивающейся при pH 6–7. В тоже время развивается полезная микрофлора [12] и способствует, тем самым, повышению резистентности организма и сохранности птицы [7].

В нашем опыте использование «БиСалТек» в рационе цыплят способствовало повышению сохранности поголовья на 2, 4 и 4 % во II, III, IV опытных группах (98, 100 и 100 % против 96 %).

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог данных исследований, можно сказать, что применение добавки «БиСалТек» в дозе 2,5 л/т, способствовало увеличению в грудных мышцах: сухого вещества – на 1,1 %; сырого протеина – на 0,9 %; азота – на 0,1 %; жира – на 0,3 %; триптофана – на 0,2 %; а в бедренных – на 4,9; 2,2; 0,4; 2,9 и 0,3 % соответственно и золы – на 0,2 %.

Анализ крови позволили установить положительные изменения в организме опытных цыплят IV группы: увеличение концентрации гемоглобина – на 4,3 % и эритроцитов – на 5,6 %, общего белка – на 21,0 %; снижение лейкоцитов на 28,6 %.

Использование подкислителя способствовало увеличению живой массы цыплят IV группы к концу выращивания на 8,1 % и сохранности поголовья на 4 %.

#### Список литературы

1. Животноводство России. – 2020. – №6. – С. 7–9 [Электронный ресурс]. URL: <https://zsr.ru/zsr-2020-06-002>. (Дата обращения: 21.01.2021).
2. Джафаров А. Использование органических кислот в птицеводстве // Комбикорма. – 2010. – №5. – С. 67.
3. Samic K. P. Effect of organic acid salt on the performance and gult heath of broiler chicken / K. P. Samic, H. Gobinda, K. M. Manas, S. Gautam // J. Poultry Science. – 2007. – Vol. 44. – P. 389–395.
4. Бовкун Г. Дисбактериозы молодняка – проблема актуальная / Г. Бовкун, В. Трошин, В. Малик, Н. Малик // Птицеводство. – 2005. – №6. – С. 25–29.
5. Грозина А. А. Состав микрофлоры желудочно-кишечного тракта у цыплят-бройлеров при воздействии пробиотика и антибиотика (по данным T-RFLP-RT-PCR)\* / Грозина А. А. // Сельскохозяйственная биология. – 2014. – №6. – С. 46–58.

6. Гамко Л. Н. Использование подкислителей Аквасейф и Велегард при выращивании цыплят-бройлеров / Л. Н. Гамко, Т. А. Таринская // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. – 2020. – № 2. – С. 16–27.
7. Егоров И. А. Консерванты кормов – органические кислоты / Егоров И. А. // Птицеводство. – 2004. – №6. – С. 5–8.
8. Талдыкина А. А. Влияние добавки подкислителя питьевой воды для цыплят-бройлеров на переваримость питательных веществ и интенсивность роста / А. А. Талдыкина, В. В. Семенютин // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2021. – №1. – С. 95–100.
9. Агеев В. Н. Кормление сельскохозяйственной птицы / В. Н. Агеев, Ю. П. Квиткин, П. Н. Паньков, О. Д. Синцера. – М.: Россельхозиздат, 1982. – С. 21–22.
10. Кононский А. И. Биохимия животных. – 3-е изд., перераб. и доп. / Кононский А. И. – М.: «Колос», 1992. – 526 с.
11. Штеле А. Белок яиц и мяса бройлеров – эталон биологической ценности / Штеле А. // Птицеводство. – 2006. – №5. – С. 28–29.
12. Талдыкина А. А. Влияние органических кислот на микрофлору кишечника цыплят-бройлеров / А. А. Талдыкина, В. В. Семенютин // «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны»: материалы X международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных, (23–24 ноября 2021 года): СПб, 2021. – С. 351–352.

**THE EFFECT OF THE ACIDIFIER "BISALTEK" ON THE CHEMICAL COMPOSITION OF MUSCLES, MORPHO-BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD AND PRODUCTIVITY OF BROILER CHICKENS**

*Taldykina A. A., Semenyutin V. V., Bezborodov N. V.*

*Belgorod SAU, Belgorod, Russia  
E-mail: polevodova89@mail.ru*

Modern knowledge about the organization of rational feeding of poultry in industrial conditions can significantly increase productivity and unlock the genetic potential. However, one of the main causes of waste is still diseases of the gastrointestinal tract, the causative agents of which are conditionally pathogenic microflora, which is present in feed and drinking water.

Until recently, antibiotics were widely used to suppress pathogenic microflora, the regular use of which led to the development of tolerance, contributed to digestive disorders and disrupted intestinal microbiocenosis. Organic acids reduce the pH of drinking water and feed, which in turn inhibits the growth of gram-negative bacteria and stimulates the development of gram-positive. It also improves the work of enzymes secreted into the stomach that digest nutrients and increases the productivity of poultry. In addition, when using acidifiers, the habituation of pathogenic microflora is not produced.

The article presents the results of the conducted studies on the inclusion of the «BiSAlTeK» acidifier in the diet of broiler chickens of the Hubbard F15 cross. The additive, manufactured by TeknoFeed LLC (Russia), is a complex of organic acids (formic – 34.9 %, propionic – 24.1 %, acetic – 23.9 %, ammonium cation – 5.4 %) and copper (0.16 %). 4 groups were formed (I–K – control, II, III and IV – experimental) of 50 heads each. Poultry of all groups received the main diet, and II, III and IV – in addition to

it "BiSAITek" at the rate of 1.5; 2.0; 2.5 l / t of water courses from 1 to 10 and from 34 to 38 days of life.

To study the chemical composition of broiler chicken meat, pectoral and femoral muscles were selected from 3 heads from each group during slaughter. Blood for physiological and biochemical studies from 3 heads of each group was obtained on the 38th day through an incision of the jugular vein. Live weight accounting was carried out every 7 days.

The conducted studies allowed us to establish the positive effect of the «BiSAITek» supplement on the chemical composition of chicken muscles; morpho–biochemical blood parameters, as well as productivity. The greatest differences in the chemical composition of the muscles relative to the control are shown in group IV. In the pectoral muscles increased: dry matter – by 1.1 %; crude protein – by 0.9 %; nitrogen – by 0.1 %; fat – by 0.3 %; tryptophan – by 0.2 %; and in the femoral – by 4.9; 2.2; 0.4; 2.9 and 0.3 %, respectively, and ash – by 0.2 %. The blood of group IV chickens shows a high concentration of hemoglobin – by 4.3 % and erythrocytes – by 5.6 %, total protein – by 21.0 % and a lower content of leukocytes by 28.6 %. The use of the acidifier "BiSAITek" in a dose of 2.5 l / t of water (group IV) contributed to an increase in the live weight of chickens by 8.1 % by the end of cultivation and the safety of livestock by 4 %.

**Keywords:** acidifier, broiler chickens, chemical composition of meat, morpho-biochemistry of blood, productivity.

#### References

1. *Animal husbandry of Russia*, **6**, 7 (2020). [Electronic resource]. URL: <https://zsr.ru/zsr-2020-06-002> . (Date of reference: 21.01.2021).
2. Jafarov A. The use of organic acids in poultry farming, *Compound feed*, **5**, 67 (2010).
3. Samic K. P. Gobinda H., Manas K. M., Gautam S. Effect of organic acid salt on the performance and gult heath of broiler chicken, *J. Poultry Science*, **44**, 389 (2007).
4. Bovkun G. Troshin V., Malik V., Malik N. Dysbacteriosis young is a topical problem, *Poultry Farming*, **6**, 25 (2005).
5. Grozina A. A. Composition of the microflora of the gastrointestinal tract in broiler chickens under the influence of probiotic and antibiotic (according to T–RFLP–RT–PCR)\*, *Agricultural biology*, **6**, 46 (2014).
6. Gamko L. N., Tarinskaya T. A. The use of acidifying agents to Aquaseif and Velegard in growing broiler chickens, *Farm animal feeding and feed production*, **2**, 16 (2020).
7. Egorov I. A. Preservatives feed – organic acids, *Poultry farming*, **6**, 5 (2004).
8. Taldykina A. A., Semenyutin V. V. Influence of the acidifier additive of drinking water for broiler chickens on the digestibility of nutrients and the intensity of growth, *Problems of biology of productive animals*, **1**, 95 (2021).
9. Ageev V. N. Kvitkin Yu. P., Pankov P. N., Cincerova O. D. *The feeding of poultry*, 21 (Moscow: Rosselhozizdat, 1982).
10. Kononskij A. I. *Biochemistry of animals*. – 3rd ed., Rev. and additional, 526 p. (M.: "Kolos", 1992).
11. Stehle A. Protein eggs and broiler meat – the standard biological value, *Poultry farming*, **5**, 28 (2006).
12. Taldykina A. A., Semenyutin V. V. *Effect of organic acids on intestinal microflora of broiler chickens*, "Youth knowledge for the development of veterinary medicine and agriculture of the country": the materials of the X international scientific conference of students, postgraduates and young scientists, (23-24 Nov 2021), 351 (SPb, 2021).

**УДК 612.015.32: 616-008.9: 612.017-07**

## **ИНФОРМАТИВНОСТЬ ИЗМЕНЕНИЙ УРОВНЯ IGE К ИНСУЛИНУ ПРИ НАРУШЕНИЯХ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА**

*Телесманич Н. Р., Коновальчик М. А., Микашинович З. И.*

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ростовский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, Россия  
E-mail: mariya\_konovalchik@mail.ru*

Рассмотрена возможность ранней диагностики нарушений углеводного обмена на основе особенностей индукции к инсулину специфического иммуноглобулина E, при формировании предиабета и для выявления скрытого диабета, при ранних нарушениях углеводного обмена, которые не демонстрируют выраженных критериев сахарного диабета и являются трудно диагностируемыми. Настоящее исследование посвящено изучению уровня специфических IgE к инсулину у людей с нормальным уровнем глюкозы и гликозилированного гемоглобина (HbA1c) и у пациентов с сахарным диабетом разных типов и показана диагностическая значимость отношения показателей IgE к инсулину и уровню инсулина в разных возрастных категориях. Впервые дана сравнительная характеристика реакций IgE инсулин-специфического ответа у пациентов в норме и с нарушением гликемии натощак.

**Ключевые слова:** нарушение углеводного обмена, сахарный диабет, гликозилированный гемоглобин, инсулин, инсулинорезистентность, глюкоза, метаболический индекс.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Каскад метаболических и воспалительных процессов при нарушении углеводного обмена связан с нарушением секреции инсулина и инсулинорезистентностью или без нее, что приводит к гипергликемии. Нарушение в системах синтеза и секреции инсулина, дисфункция  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, приводит к дефициту инсулина или к гиперинсулинемии и десенситизации его рецепторов. Отмечают, что триггерами нарушений углеводного обмена, приводящих к сахарному диабету разных типов, являются инфекционные агенты, что активирует иммуноопосредованные реакции. Отмечают обратную связь между IgE-опосредованной аллергизацией и сахарным диабетом 1 типа, что запускает каскад факторов воспаления [1]. Развитие субклинического воспаления, характерно и при сахарном диабете 2 типа. Изучение взаимосвязи тучных клеток и IgE людей с диабетическим статусом [2] показывает, что такая обычная функция IgE как активация тучных клеток играет критическую роль в возникновении СД 2. Предполагается, что уровень активности протеазы тучных клеток и IgE могут служить факторами риска при нарушении уровня глюкозы натощак [3].

Вопрос о роли реагинов, в частности общего IgE, в патогенезе разных форм нарушений углеводного обмена остается практически открытым. Биохимическое

строение низкоаффинного рецептора IgE-CD23, или Fc-ε-RII показывает, что он является гликопротеином, лектиновым рецептором типа C, содержит домен, характерный для Ca-зависимых углеводсвязывающих белков, содержит 1 потенциальный сайт N-гликозилирования [2, 4]. Несмотря на то, что общий IgE является самостоятельным диагностическим параметром при атопии, анализ этого показателя при других патологических состояниях находится на стадии изучения. Кортизол, инсулиноподобный фактор роста 1, они действуют как сигналы для переключения В-лимфоцитов на синтез IgE [5].

Очевидно, что IgE к инсулину связан с продукцией самого инсулина как у людей с нормальным уровнем глюкозы так и при нарушении углеводного обмена. Известно, что отличие IgE от антител других классов заключается в том, что он способен распознавать конформационные эпитопы, тогда как все остальные антитела распознают только линейные эпитопы белков [6]. В практике клинико-диагностических лабораторий определение общего и специфического IgE проводится с целью их использования в качестве самостоятельных диагностических показателей. Количественное определение специфических IgE антител позволяет оценить взаимосвязь между уровнем антител к инсулину и клиническими проявлениями аллергии. Принято считать, что аллергическая реакция на инсулин – это реакция иммунной системы организма человека на введение аллергена с образованием специфических антител (IgE) и запуском процесса сенсибилизации. Вместе с тем молекулярные характеристики IgE к инсулину продолжают оставаться не изученными, не исследованы его конформационные трансформации и метаболические процессы, которые могут быть связаны с уровнем его продукции.

Лабораторный анализ на общий IgE применяют при комплексной диагностике аллергии немедленного типа, как совокупный показатель специфических IgE. Известно, что у 30 % больных атопическими заболеваниями, уровень общего IgE находится в пределах значений нормы. Некоторые больные атопией могут иметь повышенную чувствительность только к одному специфическому аллергену (специфический IgE).

Границы нормы, определенные для европейцев не могут быть применимы для представителей зон эндемичных по гельминтозам и специфическими климатическими условиями [7].

Задачей данного исследования явилось изучение уровня специфических IgE к инсулину у людей с нормальным уровнем глюкозы и гликозилированного гемоглобина (HbA1c) разных возрастных и расовых групп, при нарушении гликемии натощак, предиабете и сахарном диабете разных типов.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В исследовании участвовали 156 человек, которые были разбиты на 7 основных групп по возрасту, расовому признаку, уровню глюкозы, HbA1c. 1 группа здоровых молодых людей (n=24) в возрасте от 17 до 30 лет; 2 группа здоровых молодых людей из Нигерии (n=7) в возрасте от 17 до 22 лет; 3 группа здоровых молодых людей, средние показатели группы 1+ группы 2 (n=31) в возрасте от 17 до 30 лет; 4 группа здоровых взрослых людей (n=19) в возрасте от 38 до 65 лет; Группа 5 –

взрослые люди с нарушением углеводного обмена (нарушение гликемии натощак) (n=30) в возрасте от 31 до 90 лет; Группа 6 – молодые люди с СД1 типа (n=13), принимающие инсулин в возрасте от 19 до 34 лет; Группа 7 – взрослые люди с выраженным нарушением толерантности к глюкозе (n=35) в возрасте от 43 до 78 лет. Из исследования были исключены: гемолизированная, липемичная сыворотки; наличие IgE-антител, характерных для аллергических атопических, анафилактических заболеваний; индивиды с положительными результатами на яйца глист.

Биохимические показатели: концентрацию глюкозы в сыворотке крови определяли с помощью энзиматического колориметрического метода без депротеинизации. Процентное содержание HbA1c определяли с помощью метода, основанного на аффинной хроматографии в микроколонке гликированной и негликированной фракции гемоглобина гемолизата крови. Определение количества специфического инсулина в сыворотке крови осуществляли с помощью метода твердофазного одностадийного ИФА (иммуноферментного анализа) «сэндвич»-типа (Merckodia Insulin ELISA). Показатели нормы в соответствии с инструкцией по применению – 2–25 мкЕ/мл. Содержание аллерген-специфического IgE к инсулину в сыворотке крови человека определяли методом твердофазного неконкурентного непрямого ИФА. Показатели нормы в соответствии с инструкцией по применению – 0–50 КЕ/л.

Далее рассчитывали – IgE-инсулиновый индекс (IgEинс/инс) для этого показатель уровня специфических IgE к инсулину разделили на показатель концентрации самого инсулина и получили индекс отношения [8].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием стандартного программного пакета STATISTICA версии 13.0.

Верификацию, диагноз заболевания и степень компенсации углеводного обмена осуществляли квалифицированные специалисты МУЗ г. Ростова-на-Дону согласно рекомендациям ВОЗ (1999) и «Национальным стандартам оказания медицинской помощи больным сахарным диабетом».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки информативности изменения уровня IgE к инсулину и уровня инсулина применился анализ отношения этих показателей [8]. Так 1 группа здоровых молодых людей (n=24) в возрасте от 17 до 30 лет со средним значением глюкозы  $5,06 \pm 0,07$  ммоль/л и HbA1c  $5,4 \pm 0,06$  % имела средний уровень IgE к инсулину  $151,0 \pm 12,2$  кЕ/л, уровень инсулина составил  $7,0 \pm 2,2$  мкЕ/мл. Соответственно, средний показатель отношения IgE-инсулинового индекса (IgEинс/инс) для этой группы – 22 (Таблица 1).

Таблица 1

**Группа 1 – молодые люди – европейцы с нормальным уровнем глюкозы и гликозилированного гемоглобина**

Группа	N, кол-во людей	Возраст, лет	Глюкоза (ммоль/л)	HbA1c, %	IgE к инсулину (кЕ/л)	Инсулин (мкЕ/мл)	IgEинс/инс
1	24	17-30	5,06±0,07	5,4±0,06	151±12,2	7,3±2,2	22

2 группа здоровых молодых людей из Нигерии (n=7) в возрасте от 17 до 22 лет со средним значением глюкозы 5,1±0,03 ммоль/л и HbA1c 5,1±0,12 %, средний уровень IgE к инсулину составил 283,0±118,2 кЕ/л, уровень инсулина 2,9±0,8 мкЕ/мл. Соответственно, вычисленный показатель отношения IgEинс/инс составил 97 (Таблица 2), что указывает на наличие расовых особенностей.

Таблица 2

**Группа 2 – молодые люди из Нигерии с нормальным уровнем глюкозы и гликозилированного гемоглобина**

Группа	N, кол-во людей	Возраст, лет	Глюкоза (ммоль/л)	HbA1c, %	IgE к инсулину (кЕ/л)	Инсулин (мкЕ/мл)	IgEинс/инс
2	7	17-22	5,1±0,03	5,1±0,12	283±118,2	2,9±0,8	97

Если мы соединим эти две группы, то получим показатели для здоровых молодых людей разных расовых принадлежностей – 3 группа (средние показатели группы 1+ группы 2 в возрасте от 17 до 30 лет) (n=31) со средним значением глюкозы 5,08±0,02 ммоль/л и HbA1c 5,25±0,15 %. Средний уровень IgE к инсулину составил 217,0±66,0 кЕ/л, уровень инсулина 5,1±2,2 мкЕ/мл. Соответственно, средний показатель отношения IgEинс/инс для этой группы – 42 (Таблица 3).

Таблица 3

**Группа 3 - молодые люди с нормальным уровнем глюкозы и гликозилированного гемоглобина, средние показатели группы 1 + группы 2**

Группа	N, кол-во людей	Возраст, лет	Глюкоза (ммоль/л)	HbA1c, %	IgE к инсулину (кЕ/л)	Инсулин (мкЕ/мл)	IgEинс/инс
3	31	17-30	5,08±0,02	5,25±0,15	217±66	5,1±2,2	42

4 группа здоровых взрослых людей (n=19) в возрасте от 38 до 65 лет со средним значением глюкозы  $5,03 \pm 0,07$  ммоль/л и HbA1c  $5,2 \pm 0,06$  %, средний уровень IgE к инсулину составил  $100,0 \pm 34,4$  кЕ/л, уровень инсулина  $7,8 \pm 2,6$  мкЕ/мл. Соответственно, определенное отношение IgEинс/инс – 13 (Таблица 4).

Таблица 4

**Группа 4 - взрослые люди с нормальным уровнем глюкозы и гликозилированного гемоглобина**

Группа	N, кол-во людей	Возраст, лет	Глюкоза (ммоль/л)	HbA1c, %	IgE к инсулину (кЕ/л)	Инсулин (мкЕ/мл)	IgEинс/инс
4	19	38-65	$5,03 \pm 0,07$	$5,2 \pm 0,06$	$100 \pm 34,4$	$7,8 \pm 2,6$	13

Таким образом, в группах 1–4 продемонстрированы граничные параметры IgE-инсулинового индекса нормы для здоровых людей разного возраста (Таблица 5). Как видно из таблицы 5, с возрастом у практически здоровых людей понижается значение продукции IgE специфичного к инсулину и повышается уровень инсулина, что обуславливает уменьшение индекса отношения IgEинс/инс.

Таблица 5

**Параметры IgE-инсулинового индекса для людей разного возраста с нормальным уровнем глюкозы и гликозилированного гемоглобина**

Группы / Показатели	1 группа	2 группа	3 группа (1 группа + 2 группа)	4 группа
	Здоровые молодые люди европейцы (n=24) в возрасте 17–30 лет	Здоровые молодые люди из Нигерии (n=7) в возрасте 17–22 лет	Здоровые молодые люди (n=31) в возрасте 17–30 лет	Здоровые взрослые люди (n=19) в возрасте 38–65 лет
1	2	3	4	5
Глюкоза (4,2-6,1 ммоль/л)	$5,06 \pm 0,07$	$5,1 \pm 0,03$	$5,08 \pm 0,02$	$5,03 \pm 0,07$
Специфический IgE к инсулину (0-50 кЕ/л)	$151 \pm 12,2$	$283,0 \pm 118,2$	$217,0 \pm 66,0$	$100,0 \pm 34,4$
Инсулин (2-25 мкЕ/мл)	$7,0 \pm 2,2$	$2,9 \pm 0,8$	$5,1 \pm 2,2$	$7,8 \pm 2,6$
IgEинс/инс	22	97	42	13

В группу 5 вошли взрослые люди с нарушением углеводного обмена (нарушение гликемии натощак) (n=30) в возрасте от 31 до 90 лет со средним уровнем глюкозы  $6,5 \pm 0,13$  ммоль/л и HbA1c  $6,1 \pm 0,07$  %, средний уровень IgE к инсулину составил  $48,3 \pm 14,3$  кЕ/л, уровень инсулина  $13,0 \pm 2,2$  мкЕ/мл. Соответственно, отношение IgEинс/инс – 3,7 (Таблица 6). Таким образом, на начальных этапах нарушения углеводного обмена у взрослых людей регистрируется уровень IgE к инсулину в 2 раза ниже по отношению к группе практически здоровых людей и при этом средний уровень инсулина повышается в 2 раза. В итоге, индекс отношения IgEинс/инс становится ниже контрольных величин.

Интересным является тот факт, что в выборке практически здоровых людей, представленных разными возрастными группами с нормальными значениями углеводного обмена и не имеющих атопических показателей, уровень IgE к инсулину значительно превышает показатели нормы по инструкции по применению к набору для определения твердофазного неконкурентного непрямого ИФА.

**Таблица 6**

**Группа 5 – взрослые люди с нарушением углеводного обмена (нарушение гликемии натощак)**

Группа	N, кол-во людей	Возраст, лет	Глюкоза (ммоль/л)	HbA1c, %	IgE к инсулину (кЕ/л)	Инсулин (мкЕ/мл)	IgEинс/инс
5	30	31–90	$6,5 \pm 0,13$	$6,1 \pm 0,07$	$48,3 \pm 14,3$	$13,0 \pm 2,2$	3,7

Группа 6 – это молодые люди с СД1 типа (n=13), в возрасте от 19 до 34 лет, принимающие инсулин со средним уровнем глюкозы  $9,0 \pm 1,5$  ммоль/л и HbA1c  $7,6 \pm 0,8$  %. Средний уровень IgE к инсулину составил  $135,6 \pm 56,0$  кЕ/л, а уровень инсулина  $46,0 \pm 13,7$  мкЕ/мл. Соответственно, отношение IgEинс/инс для этой группы составило лишь 2,9, что ниже контрольной группы 3 (здоровых молодых людей) в 55 раз (Таблица 7).

**Таблица 7**

**Группа 6 – молодые люди с сахарным диабетом 1 типа**

Группа	N, кол-во людей	Возраст, лет	Глюкоза (ммоль/л)	HbA1c, %	IgE к инсулину (кЕ/л)	Инсулин (мкЕ/мл)	IgEинс/инс
6	13	19–34	$9,0 \pm 1,5$	$7,6 \pm 0,8$	$135,6 \pm 56$	$46 \pm 13,7$	2,9

Учитывая то, что эта категория пациентов принимает инъекции инсулина, уровень специфического IgE к инсулину в данном исследовании отражает действительный аллергический статус этого контингента (влияние инсулина).

Несмотря на то, что уровень IgE к инсулину повышен, он находится в пределах нормы по отношению к группе практически здоровых людей. Однако, индекс соотношения IgЕинс/инс снижается из-за повышенного уровня инсулина.

Группа 7 – это взрослые люди в возрасте от 43 до 78 лет с сахарным диабетом 2 типа, с выраженным нарушением толерантности к глюкозе (n=35) со средним уровнем глюкозы  $10,9 \pm 0,13$  ммоль/л и HbA1c  $8,4 \pm 0,07$  %, средний уровень IgE к инсулину составил  $28,8 \pm 3,47$  кЕ/л, уровень инсулина  $19,2 \pm 0,9$  мкЕ/мл. Соответственно, отношение IgЕинс/инс – 1,5.

В отличие от представителей с СД1 при СД2 уровень IgE к инсулину снижается почти в 5 раз, а уровень инсулина находится почти на уровне значений группы с нарушением гликемии натощак ( $19,2 \pm 0,9$  мкЕ/мл и  $13,0 \pm 2,2$  мкЕ/мл соответственно). Выявленное снижение индекса отношения IgЕинс/инс свидетельствует о нарушении толерантности к глюкозе и о сахарном диабете.

Таблица 8

Группа 7 – взрослые люди с сахарным диабетом 2 типа

Группа	N, кол-во людей	Возраст, лет	Глюкоза (ммоль/л)	HbA1c, %	IgE к инсулину (кЕ/л)	Инсулин (мкЕ/мл)	IgЕинс/инс
7	35	43-78	$10,9 \pm 0,13$	$8,4 \pm 0,07$	$28,8 \pm 3,47$	$19,2 \pm 0,9$	1,5

Таким образом из таблиц 1–8 видно, что наблюдается взаимосвязь между величиной снижения индекса отношения IgЕинс/инс и степенью нарушения углеводного обмена (Рис. 1), связанных с изменением индукции IgE специфического к инсулину. Выявленная информативность изменения индекса может рассматриваться как дополнительный диагностический критерий для выявления ранних нарушений углеводного обмена, предшествующих развитию сахарного диабета.

Эффективность предложенного нами способа можно оценить с помощью математического моделирования, включающего:

$$\text{чувствительность} = \frac{\text{истинно положительные}}{\text{истинно положительные} + \text{ложно отрицательные}} * 100\%;$$

$$\text{специфичность} = \frac{\text{истинно отрицательные}}{\text{истинно положительные} + \text{ложно положительные}} * 100\%;$$

$$\text{диагностическая ценность} = \frac{\text{истинно положительные}}{\text{истинно положительные} + \text{ложно положительные}} * 100\%.$$

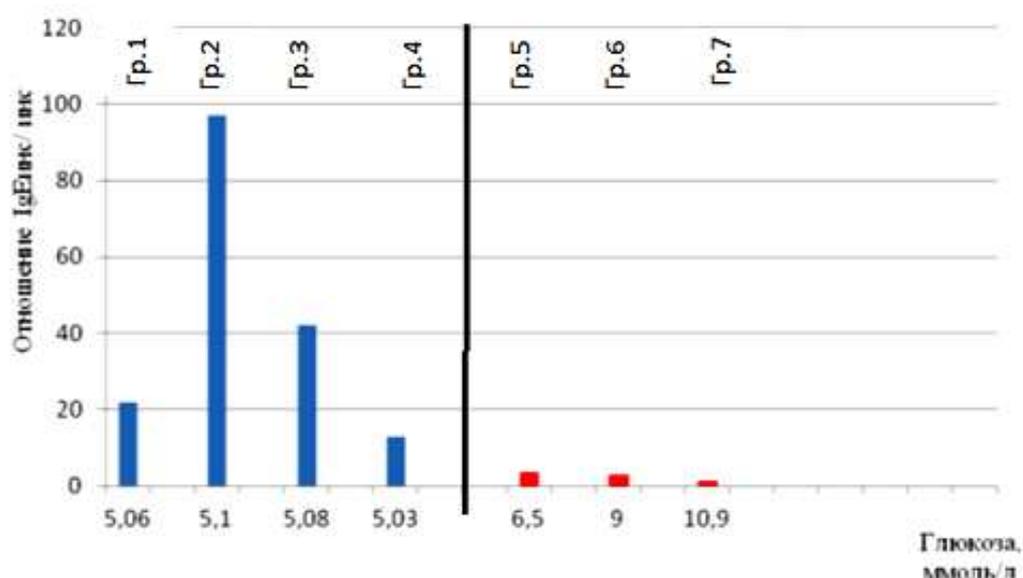


Рис. 1. Сравнение групп 1-7 по отношению IgE к инсулину / инсулину (IgEинс/инс).

Для этого необходимо определить какой контингент относится к истинно положительным; ложноположительным; истинно отрицательным; ложноотрицательным с помощью предлагаемого индекса. Так, истинно положительные – это пациенты с глюкозой более 6,3 ммоль/л, HbA1c более 6,5 %, имеющие IgE-инсулиновый индекс ниже 3,7 (n=59). Истинно отрицательные – это здоровые люди с глюкозой ниже 6,3 ммоль/л, HbA1c ниже 6,2–6,5 %, IgEинс/инс индекс выше 5,4 (n=36). Ложноотрицательные – глюкоза ниже 6,3ммоль/л, HbA1c ниже 6,2–6,5 %, IgEинс/инс индекс ниже 3,7 (n=15), что может указывать на предрасположенность к сахарному диабету. Ложноположительные – глюкоза выше 6,1–6,6 ммоль/л, HbA1c выше 6,2–6,4 %, IgEинс/инс индекс выше 5,4–10,0 (n=15), что может быть при повышении уровня глюкозы, например при приеме пищи.

Результаты расчета специфичности, чувствительности и диагностической ценности метода отражены в формулах:

$$\text{чувствительность} = \frac{59}{59+15} * 100 \% = 80 \%;$$

$$\text{специфичность} = \frac{36}{59+15} * 100 \% = 49 \%;$$

$$\text{диагностическая ценность} = \frac{59}{59+15} * 100 \% = 80 \%.$$

Ранние нарушения углеводного обмена, которые не соответствуют критериям необходимым для диагностики сахарного диабета, являются трудно распознаваемыми [9]. Прогностически не выявленный предиабет, включая латентный аутоиммунный диабет (LADA) [10], растянутый во времени, приводит к развитию сахарного диабета 2 типа и инсулинорезистентности, в основе которого лежит гиперинсулинемия. Таким образом, формирование диагностических принципов, связанных с выявлением нарушения углеводного обмена на ранних стадиях является актуальным и может определять характер будущих осложнений [11]. Очевидно, что сбой в работе рецепторного аппарата приводит к искажению передачи сигнала в клетку, в результате нарушается каскад реакций фосфорилирования, в котором принимают участие иммуноглобулины и цитокины [12], что запускает цепь патобиохимических сдвигов.

Изменение уровня инсулина и IgE к инсулину может быть связано с нарушением передачи сигнала в клетку и обозначать ранние признаки нарушения углеводного обмена, которые путем "мягкой" коррекции могут предотвратить развитие диабета.

Показано, что индексы соотношения между метаболитами являются эффективными показателями при диагностике и контроле лечения. Так, является парадигмой, что при сахарном диабете соотношение инсулин/глюкагон снижено [13]. Известен индекс HOMA IR, отражающий отношение глюкозы натощак (ГНТ)/инсулин. Повышение этого индекса является эффективным показателем признаков сахарного диабета [14]. Отмечают [15], что индексы соотношения между цитокинами являются эффективными показателями состояния больного. Так при оптимизации аллергического статуса соотношения И-4/ IFN $\gamma$  увеличивался от 4,2 до 8,0.

В практике клинико-диагностических исследований количественное определение специфических IgE позволяет оценить взаимосвязь между уровнем антител к инсулину и клиническими проявлениями аллергии. Однако, физиологические уровни IgE к эндогенному инсулину не были ранее изучены. При взаимодействии иммуноглобулина E со специфическим для него аллергеном, в данном случае инсулином, образуется комплекс (IgE-инсулин), что сопровождается изменениями IgE и инсулина, поступлением ионов Ca в клетку-мишень, перестройкой в ней биохимических процессов, активацией ПОЛ, выбросом гистамина и других веществ из тучных клеток, базофилов и эозинофилов, на мембране которых фиксированы IgE, которые могут сами работать как рецепторные структуры.

Известно, что отличие IgE от других антител (рецепторов В-лимфоцитов) заключается в том, что он способен распознавать конформационные эпитопы [6]. Тем самым IgE предназначен для удаления из организма малых концентраций антигенов [16]. Показано, что уровень инсулина, при наличии антител к рецепторам повышается в 5–50 раз.

Существует мнение, что важным компонентом формирования аутоиммунных процессов при нарушениях углеводного обмена являются антитела к рецепторам инсулина, что может приводить к «нейтрализации инсулина», следовательно, к инсулинорезистентности. Считают, что идентификация антител к этим рецепторам

позволит объяснить механизмы формирования резистентности к инсулину, что в свою очередь обеспечит совершенствование прогностического и диагностического процессов.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

1. Найдено, что отношение уровня продукции инсулина и выработка к нему специфических IgE отражает степень нарушения углеводного обмена и может иметь прогностическое значение при выявлении предрасположенности к возникновению сахарного диабета.
2. Установлено, что у контингентов разных возрастных групп и расовой принадлежности с различными показателями углеводного обмена, имеет место информативное изменение уровня IgE к инсулину и инсулина.
3. Показано, что при нарушении углеводного обмена, характеризующегося гликемией натощак, индекс средних параметров соотношения IgEинс/инсулину составлял менее 3,7, при СД 1 – 2,9, а при СД 2 – 1,5. В то время как самые высокие показатели соотношения IgEинс/инсулину характерны для практически здоровых молодых людей – 42, значительно превышая этот показатель при выявлении расовых особенностей, но снижаясь с возрастом – 13.
4. Предложенный IgE-инсулиновый индекс (IgEинс/инс) может быть использован для выявления нарушений углеводного обмена на ранних стадиях и выявления скрытого диабета на фоне нормальных показателей глюкозы и гликозилированного гемоглобина.

#### **Список литературы**

1. Klamt S. Association between IgE mediated allergies and diabetes mellitus type 1 in children and adolescents / S. Klamt, M. Vogel, A. Niemisch, F. Prensler, S. Zachariae, U. Ceglari, I. Thiery, W. Kiess // *Pediatric Diabetes*. – 2015. – Vol. 16. – P. 493–503.
2. Телесманич Н. Р. Анализ уровня общего иммуноглобулина E(IGE) в сыворотке крови людей с различными типами нарушений углеводного обмена и группами крови 0(I), A(II), B(III) / Н. Р. Телесманич, М. А. Коновальчик, З. И. Микашинович // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2017. – Т. 62, № 8. – С. 476–481.
3. Wang Z. Immunoglobulin E and mast cell proteases are potential risk factors of human pre-diabetes and diabetes mellitus / Z. Wang, H. Zhang, X. Shen, K. Jin, G. Ye, L. Qian, Y. Zhang, G. Shi // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 16, № 6(12). – e28962. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028962>
4. Хаитов Р. М. Система маркерных антигенов CD / Р. М. Хаитов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 280 с.
5. Lee J. K. Genome-wide multilocus analysis for immune-mediated complex diseases / J. K. Lee, C. Park, K. Kimm, M. S. Rutherford // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2002. – Vol. 95. – P. 771–773.
6. Bogh K.L. IgE versus IgG4 epitopes of the peanut allergen Ara h 1 in patients with severe allergy / K. L. Bogh, H. Nielsen, T. Eiweqer, C. B. Madsen, E. N. Mills, N. M. Rigby // *Mol. Immunol*. – 2014. – Vol. 58, № 2. – P. 169–176.
7. Зайцева О. В. Синдром гиперIgE / О. В. Зайцева // *Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского*. – 2016. – Т. 95, № 4. – С. 116–123.
8. Пат. 2695073 Российская Федерация, МПК G01N 33/50 (2006.01). Способ ранней диагностики нарушения углеводного обмена / Телесманич Н. Р., Коновальчик М. А., Микашинович З. И., Криволапова Э. Г., Ромашенко А. В. Заявитель и патентообладатель Телесманич Н. Р., Коновальчик М. А., Микашинович З. И., Криволапова Э. Г., Ромашенко А. В. – № 2018121386/04; заявл. 08.06.2018; опубл. 19.07.2019, Бюл. №20.

9. Недогода С. В. Преддиабет: основные причины, симптомы, профилактика и лечение / С. В. Недогода, И. Н. Барыкина, А. С. Саласюк, В. О. Смирнова, Е. А. Попова // Лекарственный вестник. – 2018. – Т. 12, № 2 (70). – С. 3–13.
10. Саприна Т. В. Взаимосвязь иммунологических и метаболических факторов в развитии и прогрессировании микроангиопатий при латентном аутоиммунном диабете взрослых (LADA) / Т. В. Саприна, Т. С. Прохоренко, Ф. Э. Лазаренко, И. Н. Ворожцова, Н. В. Рязанцева // Бюллетень Сибирской медицины. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 73–78.
11. Саприна Т. В. Роль Th1/Th2 дисбаланса иммунного ответа в детерминации клинических особенностей аутоиммунного сахарного диабета взрослых / Т. В. Саприна, Ф. Э. Лазаренко, Т. С. Прохоренко, Н. В. Рязанцева, И. Н. Ворожцова // Сахарный диабет. – 2011. – Т. 2. – С. 12–17.
12. Данилова Л. А. Биохимия: учебник для вузов / Л. А. Данилова, И. В. Вольхина, Е. Г. Батоцыренова – Санкт-Петербург: СпецЛит, 2020. – 333 с.
13. Северин Е. С. Биологическая химия / Е. С. Северин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 624 с.
14. Ройтберг Г. Е. Возможности применения нового метаболического индекса при оценке инсулинорезистентности в клинической практике / Г. Е. Ройтберг, Ж. В. Дорош, О. О. Шархун [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2014. – Т. 10, № 3. – С. 264–274.
15. Гайдук И. М. Изменение иммунологических показателей при проведении сублингвальной аллерген-специфической иммунотерапии у детей с поллинозом / И. М. Гайдук, Д. С. Коростовцев, Н. Л. Шапорова, Д. В. Брейкин, О. В. Трусова, И. А. Камаева // Медицинская иммунология. – 2013. – Т. 15, № 1. – С. 51–54.
16. Зубаткина О. В. Значимость уровня лептина при оценке состояния адаптивного иммунитета / О. В. Зубаткина, Л. К. Добродеева, А. А. Попов // Экологическая физиология. – 2015. – № 12. – С. 16–20.

## INFORMATIVENESS OF CHANGES IN THE LEVEL OF IGE TO INSULIN IN CASES OF CARBOHYDRATE METABOLISM DISORDERS

*Telesmanich N. R., Konoval'chik M. A., Mikashinovich Z. I.*

*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Rostov State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Rostov-on-Don, Russian Federation  
E-mail: mariya\_konovalchik@mail.ru*

The possibility of early diagnosis of disorders of carbohydrate metabolism based on the peculiarities of induction of specific immunoglobulin E to insulin, during the formation of pre-diabetes and to identify latent diabetes, in case of early disorders of carbohydrate metabolism, which do not demonstrate pronounced criteria for diabetes mellitus and are difficult to diagnose, is considered. The present study is devoted to the study of the level of specific IgE to insulin in people with normal glucose and glycosylated hemoglobin (HbA1c) levels and in patients with different types of diabetes mellitus, and the diagnostic significance of the ratio of IgE to insulin and insulin levels in different age groups is shown. For the first time, a comparative characteristic of the reactions of IgE insulin-specific response in patients with normal conditions and with impaired fasting glycemia is given. To assess the informativeness of the IgE level to insulin and the level of insulin, we applied the approach of studying the ratio of these indicators. The study involved 156 people who were divided into 7 main groups by age, race, glucose level, HbA1c.

Demonstrated the boundary parameters of the IgE-insulin index of the norm for healthy people of different ages. It was found that, with age, in practically healthy people, the value of insulin-specific IgE production decreases and the insulin level rises, which causes a decrease in the IgEins / ins ratio index and is, on average, above 13.

At the initial stages of impaired carbohydrate metabolism in adults, IgE to insulin decreases by 2 times in relation to the group of practically healthy people and the average level of insulin rises by 2 times. This determines a decrease in the index of the IgEins / ins ratio and averages 3.7.

It has been shown that the category of patients receiving insulin injections has an elevated level of IgE to insulin of  $135.6 \pm 56$  kU / L, but is within the normal range in relation to the group of practically healthy people,  $151 \pm 12.2$  kU / L. However, the index of the IgEins / ins ratio progressively decreases due to the increased insulin level and averages 2.9.

In contrast to representatives with type 1 diabetes, with type 2 diabetes, the level of IgE to insulin decreases by almost 5 times,  $28.8 \pm 3.47$  kE / l, and the level of insulin is almost at the level of the values of the group with impaired fasting glucose. However, an active decrease in the IgEins / ins ratio indicates impaired glucose tolerance and diabetes mellitus.

Our study demonstrated a progressive decrease in the IgEins / ins ratio, depending on age and the degree of carbohydrate metabolism disorders. Thus, based on the change in the IgE-insulin index of the IgEins / ins ratio, we can talk about the degree of carbohydrate metabolism disorders associated with changes in the induction of insulin-specific IgE, which has prognostic value and can be presented as an additional diagnostic feature for detecting early disorders of carbohydrate metabolism. preceding the development of diabetes mellitus.

It has been shown that the indices of the ratio between metabolites are effective indicators in the diagnosis and control of treatment. So, it is a paradigm that in diabetes mellitus the ratio of insulin / glucagon is reduced. Known index HOMA IR, reflecting the ratio of fasting glucose (GNT) / insulin. An increase in this index is an effective indicator of the signs of diabetes mellitus. It is noted that the indices of the ratio between cytokines are effective indicators of the patient's condition.

**Keywords:** violation of carbohydrate metabolism, diabetes mellitus, glycosylated hemoglobin, insulin, insulin resistance, glucose, metabolic index.

## References

1. Klamt S., Vogel M., Hiemisch A., Prensel F., Zachariae S., Ceglari U., Thiery I., Kiess W. Association between IgE mediated allergies and diabetes mellitus tupe 1 in children and adolescents, *Pediatric Diaderes*, **16**, 493 (2015).
2. Telesmanich N. R., Konovalchik M. A., Mikashinovich Z. I. Analysis of the level of total immunoglobulin e (IgE) in the serum people with different types of violations of carbohydrate metabolism and blood group 0(I), A(II), B(III). *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, **62(8)**, 476 (2017). (in Russian)
3. Wang Z., Zhang H., Shen X-H., Jin K-L, Ye G-F, Qian L., Zhang Y-H, Shi G-P Immunoglobulin E and mast cell proteases are potential risk factors of human pre-diabetes and diabetes mellitus, *PLoS One*, **16**, e28962 (2011). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028962>

4. Haitov R. M. *System of marker CD antigens.[Sistema markernykh antigenov CD]*. 280 p. (M.: GEOTAR-Media, 2013). (in Russian)
5. Lee J. K., Park C., Kimm K., Rutherford M. S. Genome-wide multilocus analysis for immune-mediated complex diseases, *BiochemBiophys Res Commun*, **95**, 771 (2002).
6. Bogh K. L., Nielsen H., Eiweqger T., Madsen C. B., Mills E. N., Rigby N. M. IgE versus IgG4 epitopes of the peanut allergen Ara h 1 in patients with severe allergy, *Mol. Immunol*, **58**, 169 (2014)
7. Zaitseva O. V. HyperIgE syndrome. *Pediatriya. Zhurnal im. G. N. Speranskogo*, **95**, 116 (2016). (in Russian)
8. Patent 2695073 Russian Federation, МПК G01N 33/50 (2006.01). Method for early diagnosis of carbohydrate metabolism disorders, Telesmanich N. R., Konovalchik M. A., Mikashinovich Z. I., Krivolapova E. G., Romashenko A. V. Applicant and patent holder Telesmanich N. R., Konovalchik M. A., Mikashinovich Z. I., Krivolapova E. G., Romashenko A. V. – № 2018121386/04; application. 08. 06. 2018; publ. 19. 07. 2019, Bul. No. 20.
9. Nedogoda S. V., Barykina I. N., Salasyuk A. S., Smirnova V. O., Popova E. A. Prediabetes: the main causes, symptoms, prevention and treatment, *Medicinal Bulletin*, **12**, 3 (2018).
10. Saprina T. V., Prokhorenko T. S., Lazarenko F. E., Vorozhtsova I. N., Ryazantseva N. V. Immunological and metabolic factors interaction in the development and progression of microvascular complications in latent autoimmune diabetes of adults (LADA), *Bulletin of Siberian Medicine*, **13**, 73 (2014). (in Russian)
11. Saprina T. V., Lazarenko F. E., Prokhrenko T. S., Ryazantseva N. V., Vorozhova I. N. The role of Th1/Th2 imbalance in the immune response in determining the clinical features of autoimmune diabetes of adults, *Diabetes mellitus*, **2**, 12 (2011) (in Russian).
12. Danilova L. A., Vol'khina I. V., Batsyrenova E. G. *Biochemistry: textbook for universities*, 333 p. (Sankt-Petersburg: SpetsLit, 2020). (in Russian)
13. Severin E.S. *Biological chemistry*, 624 p. (M.: GEOTAR-Media, 2011).
14. Roytberg G. E., Dorosh J. V., Sharkhun O. O. et al. New metabolic index use potentialities in evaluation of insulin resistance in clinical practice, *Rational pharmacotherapy in cardiology*, **10**, 264 (2014). (In Russ.)] <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2014-10-3-264-274>.
15. Gaiduk I. M., Korostovtsev D. S., Shaporova N. L., Breykin D. V., Trusova O. V., Kamaeva I. A. Changes of immune indexes during sublingual allergen-specific immunotherapy in children with hay fever, *Medical Immunology*, **15**, **1**, 51 (2013) (In Russ.) DOI:10.15789/1563-0625-2013-1-51-54
16. Zubatkina O. V., Dobrodeeva L. K., Popov A. A. Significance of leptin level in assessment of adaptive immunity, *Ecologiya cheloveka [Human Ecology]*, **12**, 16 (2015).

**УДК 574.589**

**ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДА ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ –  
МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ МИКРОБНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ  
САНИТАРНО-ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ**

*Филиппова Ю. Ю., Нохрин Д. Ю., Девятова Е. В., Андреева С. В.*

*ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия  
E-mail: andreeva\_sv81@mail.ru*

В работе с помощью метода газовой хроматографии – масс-спектрометрии микробных маркеров (ГХМС ММ) проведена оценка численности некоторых представителей микробиоты в воде 4 озёр Челябинской области с разной антропогенной нагрузкой. Обнаружено 28 таксонов микроорганизмов, из которых 13 (46,4 %) были идентифицированы до вида, а остальные 15 (53,6 %) – до рода. Показано, что метод ГХМС ММ может быть применен для оценки санитарно значимых показателей качества воды. Кроме того, он также может быть использован для определения численности и структуры сообщества микробиоты, которые способны отражать уровень антропогенной нагрузки на водоём.

**Ключевые слова:** микробные сообщества, метод газовой хроматографии – масс-спектрометрии микробных маркеров, озера, санитарно-экологические показатели качества воды.

**ВВЕДЕНИЕ**

Микроорганизмы повсеместно распространены во всех типах озёр разного трофического состояния. Они играют ключевую роль в пресноводных экосистемах, участвуя в глобальных потоках энергии и биогеохимических циклах (С, N, P, S и другие элементы) [1–3]. Кроме того, бактерии выступают важными индикаторами загрязнённости водоёмов питьевого и рекреационного назначения [4], а благодаря способности к разложению органических соединений, микробные сообщества способствуют их самоочищению [5].

Изучение санитарно-эпидемиологических показателей в водах питьевого и рекреационного назначения традиционно основывается на классическом культуральном бактериологическом методе [6–7]. Несмотря на широкую распространённость, метод имеет определенные ограничения и недостатки, прежде всего, высокую трудоемкость и длительность исследования (5–7 дней), а также низкую чувствительность и трудности в культивировании и идентификации анаэробных микроорганизмов [8].

Разработка и применение молекулярных методов исследования предоставили новые инструменты для изучения микробиоты, особенно образцов проб из окружающей среды [9].

Методы детекции микроорганизмов с помощью количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) или ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) позволяют определить наличие и относительное количество ДНК конкретного

микроорганизма, или нескольких сразу (мультиплексные техники). Преимуществами методов ПЦР являются короткое время исследования, относительно низкая стоимость оборудования и реактивов, высокая чувствительность и точность, но они не предназначены для оценки микробного разнообразия (показатель Общее микробное число – ОМЧ) и структуры сообщества [9–11].

Внедрение в практику методов геномики, прежде всего, клонирования и высокопроизводительного секвенирования, напротив, дало возможность проводить максимально широкий таксономический и филогенетический анализ и определять относительную структуру сообществ, т.к. методы являются полуколичественными [9, 12]. Метод ДНК-биочипов, помимо обнаружения эпидемиологически значимых патогенов, позволяет быстро проводить количественную оценку и функциональный анализ сообщества бактерий. Однако внедрение методов геномики в практику идет медленно, т.к. они трудоёмки, требуют наличия дорогостоящего оборудования, реактивов, и высококвалифицированного персонала, особенно в области анализа данных [9].

В данной работе для определения санитарно-экологических показателей (санитарно значимых микроорганизмов и структуры сообщества) в пробах воды нами предложено использовать метод газовой хроматографии – масс-спектрометрии микробных маркеров (ГХМС ММ), разработанный профессором Осиповым Г. А. [13]. Метод основан на детектировании специфических жирных кислот (ЖК), альдегидов, спиртов и стеринов клеточной стенки микроорганизмов непосредственно в пробе, без получения чистой культуры. Липиды бактерий очень разнообразны по своей структуре и обладают большой таксономической ценностью [14]. Поэтому метод сходен с генетическим анализом, состав ЖК детерминирован в ДНК, а стабильность набора ЖК, составляющих клетки микроорганизмов, подтверждается исследованиями в области бактериальной палеонтологии [15, 16]. В отличие от молекулярно-генетического анализа на основе 16s рНК, ГХМС ММ позволяет одновременно выявлять и проводить количественную оценку более 50 родов/видов микроорганизмов в одном образце. Преимуществами метода также являются высокая скорость получения результата (анализ одного образца занимает около 2,5 часов) [8], относительно низкая стоимость оборудования и реактивов, и отсутствие стадии биоинформационного анализа данных, для которого требуется дополнительное обучение персонала. Всё вышеперечисленное позволило внедрить метод в клиническую практику, где он применяется для исследования пристеночной микробиоты тонкого кишечника здоровых людей [17], дисбактериозов [18], сепсиса [19], заболеваний кожи [20] и некоторых нейропсихических состояний [21, 22].

Кроме того, к настоящему времени существуют обширные библиотеки ЖК бактерий (подобные библиотекам белков для технологии MALDI-TOF спектрометрии), что позволяет расширить спектр определяемых микроорганизмов, включив в анализ показатели, значимые для конкретного исследуемого образца, например, маркёры цианобактерий для проб воды [23].

Среди объектов окружающей среды применение метода было апробировано на пробах почв [24], но не водных объектах, поэтому, **цель исследования:** оценить

возможность применения метода ГХМС ММ для оценки санитарно-экологических характеристик микробных сообществ водоёмов питьевого и рекреационного назначения.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отбор проб воды проводился на 4 водоёмах Челябинской области. Пробы отбирали с 3 горизонтов (поверхностного, среднего и придонного). Глубина в точках отбора проб варьировала от 1,7 до 7,3 м и составила в среднем 3,7 м. Температура воды варьировала от 0,6 до 8,7 и составила в среднем 4,2 °С. Забор воды производили с помощью батометра в стерильные полипропиленовые бутылки с учетом требований асептики. Отобранные пробы воды маркировали и доставляли в лабораторию в контейнерах-холодильниках при температуре 4–10 °С в течение 2–6 ч после отбора.

Для обнаружения санитарно значимых микроорганизмов и особенностей структуры бактериального сообщества применяли метод ГХМС ММ. Мембрану, полученную после концентрации проб воды методом мембранных фильтров, высушивали в метаноле, подвергали кислотному метанолизу, экстрагировали гексаном и обрабатывали N,O-бис(триметилсилил)-трифторацетамидом. Полученную смесь эфиров анализировали с помощью газового хромато-масс-спектрометра Маэстро (ООО «Интерлаб», Россия) на капиллярной колонке HP-5ms (Hewlett-Packard, США). Условия хроматографического разделения: начальная температура 130 °С, выдержка в течении 0,5 мин, нагрев 70 °С/мин до 320 °С, выдержка при конечной температуре 6 мин. Режим – селективных ионов, газ-носитель – гелий, поток – 1,2 мл/мин в режиме без деления потока. В результате получали хроматограммы веществ липидной природы, содержащихся в образце воды. Интерпретацию результатов хроматографии и сопоставление липидных маркёров с содержанием конкретного микроорганизма проводили с помощью программы, прилагаемой к прибору, с применением внутреннего стандарта – дейтерометилового эфира тридекановой кислоты [21]. Чувствительность метода –  $1 \times 10^4$  КОЕ/мл.

В ходе статистического анализа полученных данных использовали методы описательной статистики, выборочных сравнений и многомерную технику визуализации данных. Для всех операционных таксономических единиц (ОТЕ) рассчитывали среднее геометрическое значение для водоёма с 95 %-ными доверительными интервалами (95 % ДИ). Для этого сначала концентрации в КОЕ/мл логарифмировали по основанию 10. Далее, в случае выборок с полными наблюдениями (в которых не было проб с концентрациями ниже предела обнаружения), вычисляли средние значения логарифмов с 95 % ДИ, рассчитанными техникой непараметрического бутстрепа (метод процентилей,  $n=9999$ ) в пакете PAST (version 4.05 [25]). В случае наличия в выборке цензурированных наблюдений типа «менее чем» средние значения логарифмов находили методом Каплана-Мейера, а 95 % ДИ для них – бутстрепом (метод процентилей,  $n=9999$ ) для метода Каплана – Мейера в пакете Scout 2008 (version 1.00.01 [26]). На последнем этапе полученные таким образом средние значения логарифмов и границ ДИ

ретрансформировали в исходную шкалу путём возведения 10 в эти степени [27] и выражали в единицах  $\times 10^5$  КОЕ/мл. Для сравнения водоёмов по концентрациям микроорганизмов использовали ранговый *H*-критерий Краскела – Уоллиса с попарными апостериорными сравнениями методом Данна в пакете PAST. Для визуализации относительных величин концентраций микроорганизмов, а также для одновременной оценки сходства и водоёмов, и микроорганизмов, строили кластерную тепловую карту [28]. При этом для группировки строк и столбцов матрицы данных применяли иерархический кластерный анализ с использованием в качестве меры сходства коэффициента корреляции Спирмена, а в качестве агломеративного алгоритма – метода Уорда [29]. Расчёты выполнены в пакете rheatmap [30] программно-статистической среды R [31].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Определение концентрации микроорганизмов в водной среде методом ГХМС ММ

Для оценки универсальности метода ГХМС ММ и возможности его применения для детекции санитарно значимых микроорганизмов в пробах воды нами был проведён анализ бактериальных сообществ трёх озёр (Смолино, Первое, Чебаркуль) и водохранилища (Шершнёвское) (рис. 1.), испытывающих разный уровень антропогенной нагрузки: от умеренного до сильного.

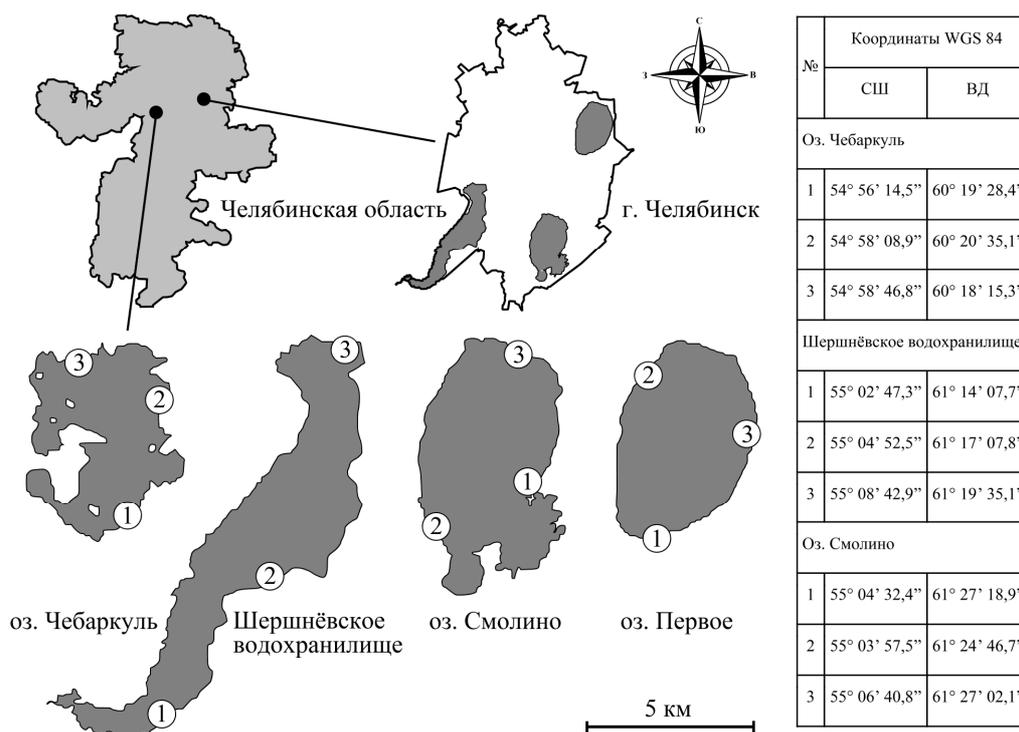


Рис. 1. Точки отбора проб воды на водоёмах Челябинской области.

В результате работы из 55 таксономических единиц, которые можно было обнаружить с помощью метода ГХМС ММ, в исследуемых пробах нами было найдено 28 таксонов микроорганизмов. Общий вид хроматограммы с маркерами некоторых бактерий представлен на рис. 2. Из 28 родов/видов 13 (46,4 %) были идентифицированы до вида, а остальные 15 (53,6 %) – до рода. Полученные данные представлены в табл. 1.

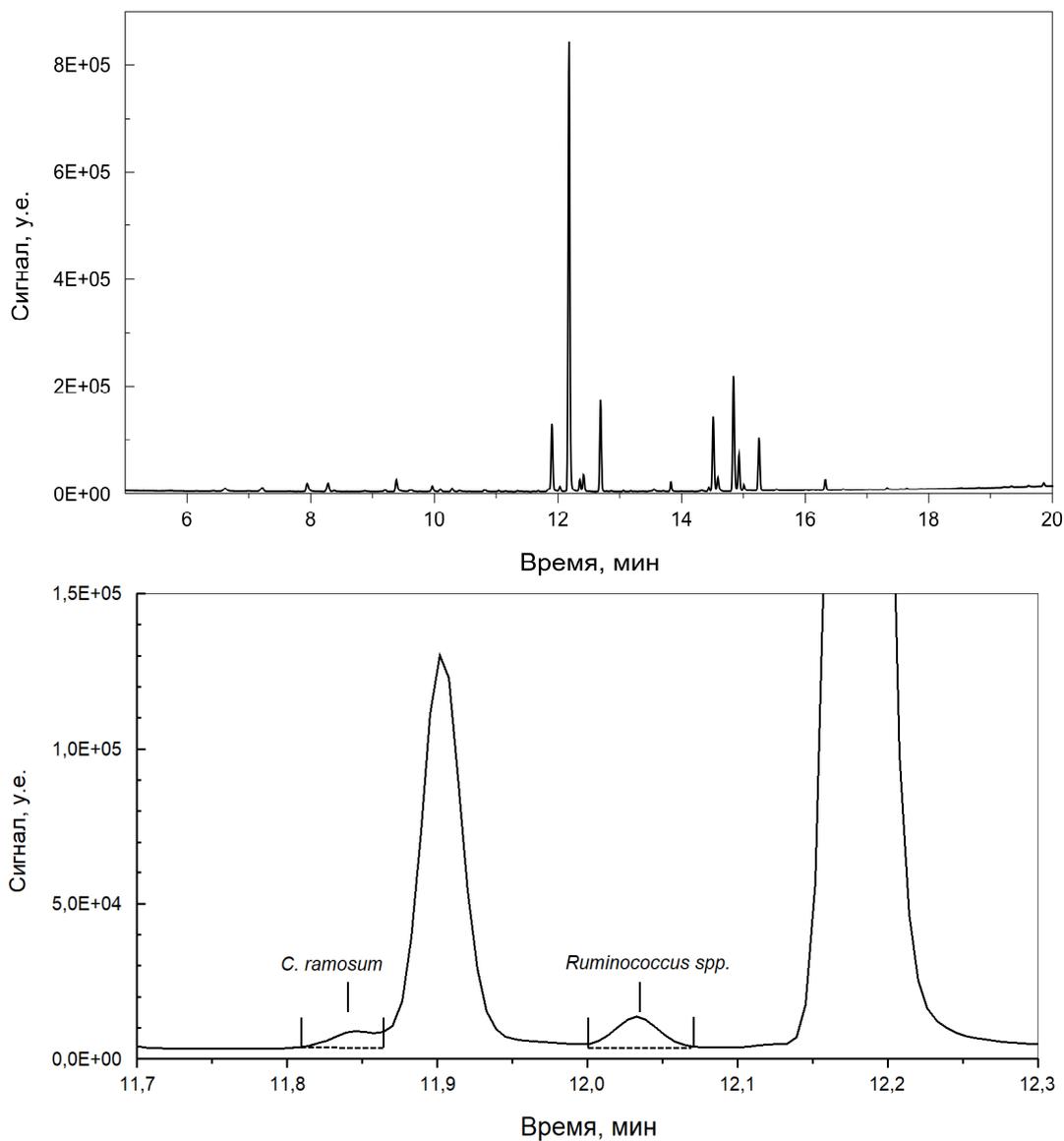


Рис. 2. Определение микроорганизмов методом ГХ-МСММ. Общий вид хроматограммы пробы воды Шершневого водохранилища (вверху) и участок с пиками микроорганизмов (внизу).

**ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДА ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ...**

Выявленные микроорганизмы относились к 5 основным типам бактерий (*Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*) и царству грибов (табл. 1). Среди них были идентифицированы микроорганизмы, включенные в санитарно-эпидемиологические показатели, прежде всего, бактерии группы кишечной палочки (*Escherichia coli*) и *Enterococcus spp.* – показатели свежего фекального загрязнения; *Clostridium perfringens* – показатели давнего фекального загрязнения; условно-патогенные бактерии, такие как *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* и неферментирующие грамотрицательные бактерии (*Moraxella spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*).

**Таблица 1**  
**Средние концентрации микроорганизмов в водоёмах Челябинской области,**  
**10<sup>5</sup> КОЕ/мл [95 % ДИ]**

Микроорганизм	Смолино	Первое	Шершни	Чебаркуль	$\frac{H}{P}$
<b><i>Bacteroidetes</i></b>					
<i>Bacteroides fragilis</i>	5,0 [4,3; 6,4]	4,6 [3,7; 5,8]	4,6 [4,0; 5,8]	12,4 [10,2; 15,1]	19,50 <0,001
<i>Prevotella spp.</i>	49,0 [41,6; 57,4]	13,9 [11,1; 18,0]	18,1 [13,7; 22,6]	40,2 [33,6; 47,7]	25,5 <0,001
<b><i>Firmicutes</i></b>					
<i>Eubacterium spp.</i>	28393 [24876; 32971]	10046 [3436; 27796]	28920 [22879; 36690]	1424 [1221; 1640]	15,57 0,001
<i>Bacillus cereus</i>	159 [123; 210]	55,1 [46,7; 64,0]	77,8 [47,6; 154]	107 [78,2; 148]	14,95 0,002
<i>Bacillus megaterium</i>	25,5 [15,3; 45,3]	14,3 [11,0; 19,1]	20,2 [11,0; 40,7]	16,6 [12,2; 27,7]	3,23 0,357
<i>Blautia coccooides</i>	<72,8	<1	<129	<1	4,63 0,201
<i>Clostridium spp.</i>	1227 [855; 1724]	403 [232; 774]	553 [296; 1059]	256 [181; 365]	11,46 0,009
<i>Clostridium hystolyticum</i>	<1	<83	79,1 [65,6; 137,4]	89,8 [44,0; 394]	8,72 0,033
<i>Clostridium perfringens</i>	1,2 [1,0; 2,0]	1,4 [1,1; 1,7]	1,9 [1,2; 5,0]	3,9 [2,3; 6,7]	11,54 0,009
<i>Clostridium ramosum</i>	<1	<1	1287 –	<1	9,19 0,027
<i>Enterococcus spp.</i>	36,6 [24,3; 64,4]	15,5 [7,3; 34,5]	3,0 [1,2; 14,4]	5,9 [3,0; 13,7]	7,31 0,063
<i>Streptococcus spp.</i>	625 [474; 770]	331 [262; 416]	227 [147; 531]	351 [263; 486]	12,03 0,007

Продолжение таблицы 1

<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	678 [402; 938]	727 [524; 955]	590 [399; 1097]	713 [431; 1054]	5,67 0,129
<i>Ruminococcus spp.</i>	<349 –	139 [99,7; 313]	437 [237; 1550]	688 [226; 1385]	15,31 0,002
<i>Staphylococcus aureus</i>	78,3 [62,4; 102]	40,5 [28,8; 53,2]	74,4 [39,3; 185]	68,1 [41,0; 116]	6,22 0,101
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4,4 [2,7; 7,9]	2,1 [2,0; 3,0]	4,8 [1,8; 21,2]	24,4 [15,2; 53,2]	7,55 0,056
<b>Actinobacteria</b>					
<i>Actinomyces spp.</i>	174 [130; 276]	121 [91,6; 150]	134 [73,6; 335]	183 [81,4; 398]	3,70 0,296
<i>Eggerthella lenta</i>	<1	<1	<97,6	64,2 [57,0; 167]	8,07 0,045
<i>Propionibacterium spp.</i>	83,3 [59,9; 133]	90,2 [63,5; 123]	75,3 [40,3; 131]	162,8 [140; 189]	10,17 0,017
<i>Corynebacterium spp.</i>	<3	9,9 [6,1; 21,0]	9,1 [5,9; 21,0]	11,2 [5,2; 47,5]	4,908 0,179
<i>Pseudonocardia spp.</i>	44,7 [37,5; 54,6]	35,9 [28,9; 47,8]	62,5 [28,8; 160]	80,9 [47,1; 143]	5,21 0,157
<i>Rhodococcus spp.</i>	56,6 [45,7; 70,5]	57,5 [39,9; 97,7]	80,0 [39,3; 203]	79,8 [66,1; 245]	4,10 0,251
<i>Streptomyces spp.</i>	14,4 [7,3; 25,2]	15,8 [12,6; 21,2]	3,8 [3,0; 8,0]	18,7 [17,0; 27,0]	11,47 0,009
<b>Proteobacteria</b>					
<i>Moraxella spp./ Acinetobacter spp.</i>	32,5 [28,1; 38,2]	16,0 [10,6; 23,8]	34,2 [16,1; 81,8]	33,1 [25,9; 40,6]	5,69 0,128
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24,8 [16,2; 51,3]	8,1 [6,3; 10,0]	70,8 [23,7; 219]	15,3 [12,1; 19,2]	19,43 <0,001
<i>Escherichia coli</i>	6,4 [5,0; 31,4]	8,8 [7,3; 13,0]	24,4 [14,3; 40,6]	<1	20,84 <0,001
<b>Fungi</b>					
<i>Aspergillus spp.</i>	31,3 [25,1; 39,6]	12,5 [3,9; 41,0]	13,5 [8,8; 24,9]	5,2 [4,4; 6,9]	11,62 0,009
<i>Candida spp.</i>	<54,2	3,6 [1,4; 20,7]	<86,5	59,2 [26,6; 133]	11,33 0,010

Таким образом, полученные результаты позволяют нам предложить метод ГХМС ММ в качестве альтернативного бактериологическому при оценке качества питьевой воды.

**Особенности статистического анализа данных, полученных методом ГХМС ММ.**

Как и любой хроматографический метод, метод ГХМС ММ позволяет получать количественные данные в шкале отношений, представляющие собой концентрации: сначала жирных кислот, а после пересчёта – микроорганизмов. В связи с этим в ходе статистического анализа возможны две проблемы, связанные, во-первых, с особенностями анализа микробиологических данных, а во-вторых – с присутствием в выборке цензурированных наблюдений.

Известно, что численности микроорганизмов имеют асимметричные распределения, близкие к логарифмически нормальному. Поэтому при описании таких данных используют либо порядковые статистики (медиана и квартили), либо чаще геометрическое среднее вместо арифметического [32–34]. Последнее можно рассчитать как напрямую (корень  $n$ -ной степени из произведения  $n$  усредняемых значений), так и путём трёхэтапной процедуры: 1) логарифмического преобразования данных (обычно по основанию 10), 2) расчёта среднего арифметического значения логарифмов, 3) нахождения антилогарифма полученного среднего. Нами был использован второй способ, т.к. он позволяет на этапе 2 рассчитать также 95 % ДИ, а на этапе 3 ретрансформировать его границы в исходную шкалу [32].

Более серьёзную проблему для анализа представляют присутствующие в выборках неполные наблюдения – цензурированные наблюдения (ЦН), когда значение определяемого показателя оказывается ниже границ чувствительности метода (все химико-аналитические процедуры) или ниже клинически значимых границ (в микробиологии – обычно  $10^5$  КОЕ/мл). В этом случае нередко используемые на практике процедуры замены ЦН нулём, пороговым значением, либо его половиной не являются корректными, т.к. приводят, соответственно, к занижению, завышению, либо смещению среднего значения [35, 36]. Корректный анализ предполагает использование специальных методов учёта ЦН, основанных на разных статистических моделях и обладающих разной точностью в зависимости от характеристики данных (распределение показателя, объём выборки, доля ЦН в выборке). В данной работе нами использовался метод Каплана-Мейера, в сочетании с ресемплинг-техникой бутстрепа [36–38]. Перед его применением все концентрации микроорганизмов (в КОЕ/мл) выше предела обнаружения логарифмировали по основанию 10, а ЦН помечали предусмотренным в пакете Scout способом [39]. Далее, с помощью реализованной в программе процедуры Каплана – Мейера, получали оценки среднего значения с 95 % ДИ для него (выбирали бутстреп, метод процентилей). И наконец, путём возведения 10 в полученные значения эти средние с ДИ ретрансформировали в исходную шкалу (КОЕ/мл) и пересчитывали на  $10^5$  КОЕ/мл.

Таким образом, использованные нами методы анализа обеспечили единый подход к обработке асимметричных распределений микроорганизмов в выборках, содержащих как полные наблюдения, так и цензурированные: во всех случаях были рассчитаны средние геометрические значения с 95 % ДИ, полученными техникой непараметрического бутстрепа (метод процентилей,  $n=9999$ ).

### Определение особенностей микробных сообществ водоёмов с разной антропогенной нагрузкой с использованием метода ГХМС ММ

Помимо санитарно значимых микроорганизмов, метод ГХМС ММ позволяет определить численность некоторых представителей аутохтонной и аллохтонной микробиоты, тем самым может быть проведена оценка общей антропогенной нагрузки на водоем и его адаптационного резерва.

Сравнение сообществ микробиоты озёр: Смолино, Первое, Чебаркуль, и Шершнёвского водохранилища показало наличие статистически значимых различий по 17 ОТЕ (табл. 1).

Для визуализации обнаруженных различий, а также для выделения сходства водоёмов по структуре сообщества микроорганизмов и антропогенной нагрузке, была построена кластерная тепловая карта, представленная на рис. 3.

Как и все подобные изображения, она сочетает двойную кластеризацию объектов – по строкам и столбцам матрицы данных – с цветовой индикацией положения их стандартизованного значения в строке или столбце, что выбирается при построении карты. В данном случае использовалась стандартизация по строкам матрицы данных, т.е. по водоёмам. Данная процедура осуществляется следующим образом: 1) вычисляется среднее значение и стандартное значение концентрации микроорганизма во всех водоёмах, 2) из каждого значения для водоёма вычитается среднее значение, а разность делится на стандартное отклонение с получением Z-оценки, т.е. осуществляется процедура статистической стандартизации, 3) ячейка окрашивается тем интенсивнее, чем более положительным (красный цвет) или отрицательным (синий цвет) является стандартизованное значение. Таким образом красный цвет ячейки указывает на относительно высокую концентрацию данного микроорганизма в водоёме, синий цвет – на низкую (рис. 3).

**Водоёмы.** Верхняя дендрограмма сходства указывает на близость структуры микробиоты озёр Смолино и Первое. Несмотря на то, что оз. Первое не выделялось высокими концентрациями микроорганизмов, их ранжирование для вычисления корреляции Спирмена было сходным с таковым для оз. Смолино (рис 3). Данные водоёмы расположены в черте г. Челябинска и имеют сходство в солевом составе и несколько повышенной минерализации воды. Меньшим сходством отличалась пара водоёмов, попавших во второй кластер: Шершнёвское водохранилище и оз. Чебаркуль (рис. 3). Эти водоёмы отличает низкая техногенная нагрузка и сходство химического состава воды. Таким образом, группировка водоёмов по структуре микроорганизмов представляется логичной и, вероятно, отражает как гидрохимические особенности, так и степень антропогенной нагрузки.

**Микроорганизмы.** Во всех исследованных водоёмах в высоких концентрациях были выявлены представители рода *Eubacterium* (табл. 1) – грамположительные ацетогенные бактерии (ацетогены), способные к автотрофному росту с исходными одноуглеродными субстратами, такими как монооксид углерода (СО) или диоксид углерода (СО<sub>2</sub>) с водородом (Н<sub>2</sub>) [40]. *Eubacterium* используют путь Вуда-Льонгдала для превращения СО<sub>2</sub> в ацетат, который считается наиболее эффективным из всех механизмов фиксации углерода [41, 42], поскольку соответствует двум требованиям для поддержания жизни: сохранению энергии и производству биомассы. Благодаря

этим физиологическим особенностям ацетогены, которые играют важную роль в углеродном цикле – генерируют большие количества ацетата из атмосферы [40–43]. Метаболическая гибкость *Eubacterium* дает этим бактериям экологическое преимущество: они повсеместно распространены в природе и обнаруживаются как в щелочной, так и в кислой, и в высокосолевого среде, в глубоких подземных впадинах, в почве, а также в пресноводных и морских отложениях [41]. Кроме того, имеются существенные доказательства того, что некоторые виды, например *E. limosum* являются важным компонентом микробиома кишечника человека [44, 45] и различных животных [46, 47].

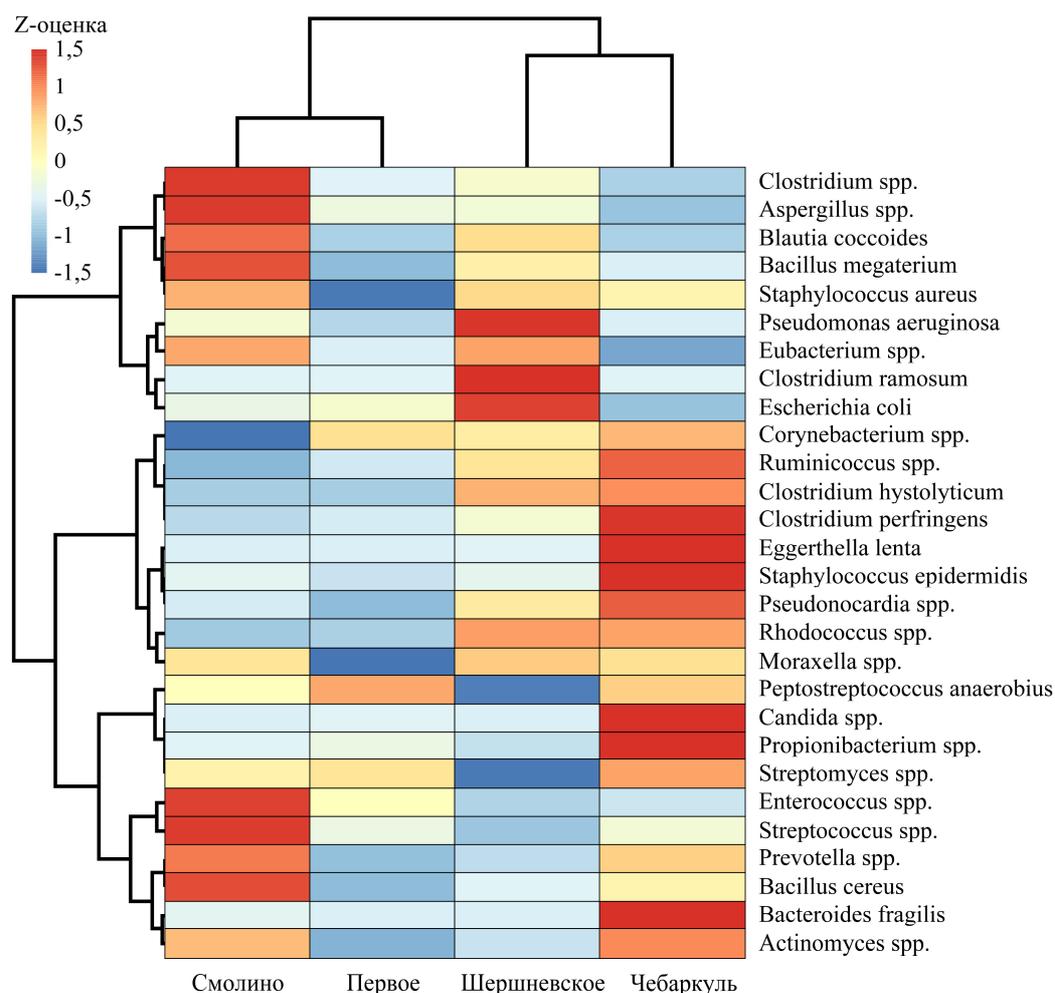


Рис. 3. Группировки водоёмов и микроорганизмов на кластерной тепловой карте.

Наибольшие различия в численности микроорганизмов были характерны для озера Чебаркуль, которое было расположено вне города Челябинска и обладало большим количеством микроорганизмов – биоремедиаторов: представителей родов *Bacillus*, *Clostridium* и *Actinomyces* (рис. 3). Так, различные виды *Bacillus* используют тяжелые металлы для образования спор, тем самым снижая концентрацию тяжелых металлов в воде водоёмов [48, 49]. *Bacillus* можно применять для борьбы с накоплением тяжелых металлов в аквакультуре [49]. Представители рода *Clostridium* увеличивают свою численность в водоёмах с большим количеством органических веществ [50], поскольку основная роль этих организмов в природе заключается в разложении органического материала на кислоты, спирты, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> и минералы. Способность образовывать споры, устойчивые к различным стрессовым воздействиям, делает клостридии вездесущими биоремедиаторами. Большинство видов облигатно анаэробны, что ограничивает среду их обитания анаэробными областями или областями с низким содержанием кислорода. Растущие и делящиеся клостридии обычно не обнаруживаются в поверхностных слоях озёр и рек, однако, споры клостридий в них присутствуют с высокой вероятностью [51]. Представители рода *Actinomyces* считаются типичными обитателями почвенных и пресноводных сред обитания [52], которые могут разлагать органические полимеры [53–55]. такие как лигнин, или поглощать аминокислоты путем метаболизма N-содержащих ароматических полимеров, таких как хитин [54, 55].

Все перечисленные выше свойства микроорганизмов–биоремедиаторов позволяют им поддерживать на гомеостатическом уровне как аутохтонную микробиоту озера, так и биогеохимический круговорот в целом. Наличие указанных видов свидетельствует о потенциальной способности исследованных водоёмов к самоочищению.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использованный в работе метод ГХМС ММ позволяет эффективно и быстро проводить одномоментную детекцию численности и структуры около 50 таксонов, в том числе и санитарно-показательных микроорганизмов, в пробах воды.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Челябинской области в рамках научного проекта № 20-44-740003.*

## Список литературы

1. Reed A. J. Microbial ecology of Lake Superior Bacteria and Archaea: An overview / A. J. Reed, R. E. Hicks // Aquatic Ecosystem Health & Management. – 2011. – Vol. 14(4). – P. 386–395 (doi: 10.1080/14634988.2011.630282).
2. Liu L. M. Response of the eukaryotic plankton community to the cyanobacterial biomass cycle over 6 years in two subtropical reservoirs / L. M. Liu, H. H. Chen, M. Liu, J. R. Yang, P. Xiao, D. M. Wilkinson, J. Yang // The ISME Journal. – 2019. – Vol. 13(9). – P. 2196–2208 (doi: 10.1038/s41396-019-0417-9).

3. Savvichev A. S. Sharp water column stratification with an extremely dense microbial population in a small meromictic lake, Trekhtzvetnoe / A. S. Savvichev, V. V. Babenko, O. N. Lunina, M. A. Letarova, D. I. Boldyreva, E. F. Veslopolova, N. A. Demidenko, N. M. Kokryatskaya, E. D. Krasnova, V. A. Gaisin, E. S. Kostryukova, V. M. Gorlenko, A. V. Letarov // *Environ. Microbiol.* – 2018. – Vol. 20(10). – P. 3784–3797 (doi: 10.1111/1462-2920.14384).
4. Sagova-Mareckova M. Expanding ecological assessment by integrating microorganisms into routine freshwater biomonitoring / M. Sagova-Mareckova, J. Boenigk, A. Bouchez, K. Cermakova, T. Chonova, T. Cordier, U. Eisendle, T. Elersek, S. Fazi, T. Fleituch, L. Frühe, M. Gajdosova, N. Graupner, A. Haegerbaeumer, A. M. Kelly, J. Kopecky, F. Leese, P. Nöges, S. Orlic, K. Panksep, T. Stoeck // *Water research.* – 2021. – Vol. 191. – P. 116767 (doi: 10.1016/j.watres.2020.116767).
5. Phulpoto I. Effect of natural microbiome and culturable biosurfactants-producing bacterial consortia of freshwater lake on petroleum-hydrocarbon degradation / I. Phulpoto, B. Hu, Y. Wang, F. Ndayisenga, J. Li, Z. Yu // *Science of The Total Environment.* – 2021. – Vol. 751. – P. 141720 (doi:10.1016/j.scitotenv.2020.141720).
6. ГОСТ 18963-73 Вода питьевая. Методы санитарно-бактериологического анализа. – Москва: Стандартинформ, 2008. – 20 с.
7. МУК 4.2.1884-04 Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов. Дата введения 2004–03–03. [Электронный ресурс]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200039680> (дата обращения: 19.11.2021).
8. Струкова Е. Г. Определение микрoэкологического статуса и диагностика инфекций организма человека с использованием метода хромато-масс-спектрометрии / Е. Г. Струкова, А. А. Ефремов, А. А. Гонтова, Г. А. Осипов, Н. И. Сарматова // *Journal of Siberian Federal University. Chemistry.* – 2009. – Т. 4, вып. 2. – С. 351–358.
9. Douterelo I. Methodological approaches for studying the microbial ecology of drinking water distribution systems / I. Douterelo, J. B. Boxall, P. Deines, R. Sekar, K. Fish, C. Biggs // *Water Research.* – 2014. – Vol. 65. – P. 134–156 (doi: 10.1016/j.watres.2014.07.008).
10. Botes M. Application of quantitative PCR for the detection of microorganisms in water / M. Botes, M. de Kwaadsteniet, T. E. Cloete // *Anal Bioanal Chem.* – 2013. – Vol. 405(1). – P. 91–108 (doi: 10.1007/s00216-012-6399-3).
11. Ferone M. Microbial detection and identification methods: Bench top assays to omics approaches / M. Ferone, A. Gowen, S. Fanning, AGM. Scannell // *Compr Rev Food Sci Food Saf.* – 2020. – Vol. 19(6). – P. 3106–3129 (doi: 10.1111/1541-4337.12618).
12. Zhang J. Microbial profiles of a drinking water resource based on different 16S rRNA V regions during a heavy cyanobacterial bloom in Lake Taihu, China / J. Zhang, C. Zhu, R. Guan, Z. Xiong, W. Zhang, J. Shi, Y. Sheng, B. Zhu, J. Tu, Q. Ge, T. Chen, Z. Lu // *Environ Sci Pollut Res Int.* – 2017. – Vol. 24(14). – P. 12796–12808 (doi: 10.1007/s11356-017-8693-2).
13. Osipov G. A. Comparative gas chromatography-mass spectrometry study of the composition of microbial chemical markers in feces / G. A. Osipov, N. B. Boiko, N. F. Fedosova, S. A. Kasikhina, K. V. Lyadov // *Microbial Ecology in Health and Disease.* – 2009. – Vol. 21(3–4). – P. 159–171 (doi: 10.3109/08910600903462657).
14. Ding S. Lipidomics of Environmental Microbial Communities. II: Characterization Using Molecular Networking and Information Theory / S. Ding, N. J. Bale, E. C. Hopmans, L. Villanueva, M. G. I. Arts, S. Schouten, J. S. Sinninghe Damsté // *Front Microbiol.* – 2021. – Vol. 12 (doi:10.3389/fmicb.2021.659315).
15. Осипов Г. А. Клиническое значение исследования микроорганизмов слизистой оболочки кишечника культурально-биохимическим и хромато-масс-спектрометрическим методами / Г. А. Осипов, А. И. Парфенов, Н. В. Верховцева, И. Н. Ручкина // *Эксперим. и клинич. гастроэнтерология.* – 2003. – №4. – С. 59–62.
16. Larsson L. Determination of microbial chemical markers by gas chromatography-mass spectrometry – potential for diagnosis and studies on metabolism in situ / L. Larsson // *APMIS.* – 1994. – Vol. 102(1–6). – P. 161–169 (doi: 10.1111/j.1699-0463.1994.tb04861.x).
17. Родионов Г. Г. Оценка пристеночной микробиоты кишечника здоровых людей методом газовой хромато-масс-спектрометрии / Г. Г. Родионов, И. И. Шантырь, Е. В. Светкина, Э. С. Сарьян,

- Т. В. Вавилова // Трансляционная медицина. – 2017. – Т. 4 – №6. – С. 34–42 (doi: 10.18705/2311-4495-2017-4-6-34-42).
18. Платонова А. Г. Хромато-масс-спектрометрическое исследование микробных жирных кислот в биологических жидкостях человека и их клиническая значимость / А. Г. Платонова, Г. А. Осипов, Н. Б. Бойко, Н. В. Кириллова, Г. Г. Родионов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – Т. 60, №12. – С. 46–55.
  19. Федосова Н. Ф. Новые подходы к анализу инфекционных, послеоперационных и посттравматических осложнений / Н. Ф. Федосова, К. В. Лядов, Г. А. Осипов // Инфекции в хирургии. – 2010. – Т.8, № 2. – С. 56–62.
  20. Малинина Н. В. Атопический дерматит у детей и микробиота кишечника. Исследование методом масс-спектрометрии микробных маркеров / Н. В. Малинина, Г. А. Осипов, Н. Б. Бойко // Педиатр. – 2010. – Т.1, №1. – С. М51.
  21. Филиппова Ю. Ю. Когнитивная ось старости: воспаление – микробиота тонкого кишечника / Ю. Ю. Филиппова, А. Л. Бурмистрова // Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии. – 2017. – №5. – С. 3–9.
  22. Бурмистрова А. Л. Микробный консорциум и окситоцин в социальном поведении детей с расстройствами аутистического спектра / А. Л. Бурмистрова, Ю. Ю. Филиппова, А. В. Тимофеева // Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии. – 2018. – №4. – С. 62–67.
  23. Dalavai V. Gas chromatography – mass spectrometric determination of fatty acid methyl esters of four marine cyanobacterial species / V. Dalavai, P. B. Gundala, J. Kannali, P. Charantheja, G. S. Kumari, P. Chinthala // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2016. – Vol. 7(5). – P. 1420.
  24. Шумилова Л. П. Изучение микробного сообщества городских почв методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии / Л. П. Шумилова, Н. Г. Куимова // Бюл. физ. и пат. дых. – 2013. – №50. – С. 121–125.
  25. Hammer Ø. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis / Ø. Hammer, D. A. T. Harper, P. D. Ryan // Palaeontologia Electronica. – 2001. – № 1. – P. 1–9.
  26. Nocerino J. Scout Version 1.0. User Guide Part I / J. Nocerino, A. Singh, R. Maichle, N. Armbya, A. K. Singh // Washington: U.S. Environmental Protection Agency. – 2008. – 244 p.
  27. FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations World Health Organization]. Statistical Aspects of Microbiological Criteria Related to Foods. A Risk Managers Guide. Microbiological Risk Assessment Series no 24. Rome. – 2016. – 120 p.
  28. Wilkinson L. The history of the cluster heat map / L. Wilkinson, M. Friendly // The American Statistician. – 2009. – Vol. 63(2). – P. 179–184 (doi: 10.1198/tas.2009.0033).
  29. Ким Д. О. Факторный, дискриминантный и кластерный анализ / Д. О. Ким, Ч. У. Мюллер, У. Р. Клекка [Пер. с англ. под ред. И.С. Енюкова]. – М. : Финансы и статистика, 1989. – 215 с.
  30. Kolde R. Package ‘pheatmap’: Pretty Heatmaps Version 1.0.12, 2018. [Электронный ресурс]. URL: <https://cran.r-project.org/web/packages/pheatmap/pheatmap.pdf> (дата обращения: 19.11.2021).
  31. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Austria, Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2016. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.R-project.org> (дата обращения: 19.11.2021).
  32. Levine A. D. Collecting, exploring, and interpreting microbiological data associated with reclaimed water systems: a guidance manual / A. D. Levine, V. J. Harwood, G. A. Fox // Alexandria, VA: WateReuse Foundation. – 2009. – P. 76.
  33. Duarte A. S. R. The interpretation of quantitative microbial data: meeting the demands of quantitative microbiological risk assessment / A. S. R. Duarte // Denmark: National Food Institute. – 2013. – P. 158.
  34. Jarvis B. Statistical aspects of the microbiological examination of foods / B. Jarvis // Elsevier B. V. – 2016. – P. 306 (doi: 10.1016/C2015-0-00103-4).
  35. Wendelberger J. Non-detect data in environmental investigations / J. Wendelberger, K. Campbell // US Los Alamos National Lab. – 1994. – 12 p.
  36. Shoari N. Toward improved analysis of concentration data: embracing nondetects / N. Shoari, J. S. Dubé // Environmental Toxicology and Chemistry. – 2018. – Vol. 37(3). – P. 643–656 (doi: 10.1002/etc.4046).

37. Shumway R. H. Statistical approaches to estimating mean water quality concentrations with detection limits / R. H. Shumway, R. S. Azari, M. Kayhanian // *Environ. Sci. Technol.* – 2002. – Vol. 36(15). – P. 3345–3353 (doi: 10.1021/es0111129).
38. Helsel D. R. Nondetects and data analysis: statistics for censored environmental data / D. R. Helsel // New York: John Wiley and Sons. – 2004. – 268 p.
39. Nocerino J. Scout 2008 Version 1.0. User Guide Part I / J. Nocerino, A. Singh, R. Maichle, N. Armbya, A. K. Singh // Washington: U.S. Environmental Protection Agency. – 2008. – 244 p.
40. Shin J. Genome Engineering of *Eubacterium limosum* Using Expanded Genetic Tools and the CRISPR-Cas9 System / J. Shin, S. Kang, Y. Song, S. Jin, J. S. Lee, J. K. Lee, D. R. Kim, S. C. Kim, S. Cho, B. K. Cho // *ACS syntheticbiology.* – 2019. – Vol. 8(9). – P. 2059–2068 (doi: 10.1021/acssynbio.9b00150).
41. Schuchmann K. Autotrophy at the thermodynamic limit of life: a model for energy conservation in acetogenic bacteria / K. Schuchmann, V. Müller // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2014. – Vol. 12(12). – P. 809–821 (doi: 10.1038/nrmicro3365).
42. Fast A. G. Stoichiometric and energetic analyses of non-photosynthetic CO<sub>2</sub>-fixation pathways to support synthetic biology strategies for production of fuels and chemicals / A. G. Fast, E. T. Papoutsakis // *Curr. Opin. Chem. Eng.* – 2012. – Vol. 1(4). – P. 380–395 (doi: 10.1016/j.coche.2012.07.005).
43. Schuchmann K. Basic principles of bioconversions in anaerobic digestion and methanogenesis / K. Schuchmann, V. Müller [S. S. Sofer, O. R. Zaborsky, Eds.]. – US, Boston, Springer, 2014. – P. 277–296.
44. Kountz D. J. MtcB, a member of the MttB superfamily from the human gut acetogen *Eubacterium limosum*, is a cobalamin-dependent carnitine demethylase / D. J. Kountz, E. J. Behrman, L. Zhang, J. A. Krzycki // *The Journal of biological chemistry.* – 2020. – Vol. 295(34). – P. 11971–11981 (doi: 10.1074/jbc.ra120.012934).
45. Bunesova V. Mucin Cross-Feeding of Infant Bifidobacteria and *Eubacterium hallii* / V. Bunesova, C. Lacroix, C. Schwab // *Microbiol. Ecol.* – 2018. – Vol. 75(1). – P. 228–238 (doi: 10.1007/s00248-017-1037-4).
46. Hur H. Biotransformation of the isoflavonoids biochanin A, formononetin, and glycitein by *Eubacterium limosum* / H. Hur, F. Rafii // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2000. – Vol. 192(1). – P. 21–25 (doi: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb09353.x).
47. Genthner B. R. Features of rumen and sewage sludge strains of *Eubacterium limosum*, an ethanol- and H<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>-utilizing species / B. R. Genthner, C. L. Davis, M. P. Bryant // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1981. – Vol. 42. – P. 12.
48. Zhao S. Bioremediation of reclaimed wastewater used as landscape water by using the denitrifying bacterium *Bacillus cereus* / S. Zhao, N. Hu, Z. Chen, B. Zhao, Y. Liang // *Bulletin of environmental contamination and toxicology.* – 2009. – Vol. 83(3). – P. 337–340 (doi: 10.1007/s00128-009-9684-x).
49. Hlordzi V. The use of *Bacillus* species in maintenance of water quality in aquaculture: A review / V. Hlordzi, F. K. A. Kuebutornye, G. Afriyie, E. D. Abarike, Y. Lu, S. Chi, M. A. Anokye // *Aquaculture Reports.* – 2020. – Vol. 18. – P. 100503 (doi: 10.1016/j.aqrep.2020.100503).
50. Cao X. Adaptive variations of sediment microbial communities and indication of fecal-associated bacteria to nutrients in a regulated urban river / X. Cao, Y. Wang, Y. Xu, G. Duan, M. Huang, J. Peng // *Water.* – 2020. – Vol. 12(5). – P. 1344 (doi: 10.3390/w12051344).
51. Rainey F. A. Genus *Clostridium*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed. / F. A. Rainey, B. J. Hollen, A. Small [P. De Vos, G. M. Garrity, D. Jones, N. R. Krieg, W. Ludwig, F. A. Rainey, K.-H. Schleifer, W. B. Whitman, Eds.]. Springer: New York, NY, USA, 2009. – Vol. 3. – P. 738–828.
52. Warnecke F. Actinobacterial 16S rRNA genes from freshwater habitats cluster in four distinct lineages / F. Warnecke, R. Amann, J. Pernthaler // *Environ. Microbiol.* – 2004. – Vol. 6. – P. 242–253 (doi: 10.1111/j.1462-2920.2004.00561.x).
53. Ghai R. Key roles for freshwater Actinobacteria revealed by deep metagenomic sequencing / R. Ghai, C. M. Mizuno, A. Picazo, A. Camacho, F. Rodriguez-Valera // *Mol. Ecol.* – 2014. – Vol. 23(24). – P. 6073–6090 (doi: 10.1111/mec.12985).
54. Salcher M. M. Spatiotemporal distribution and activity patterns of bacteria from three phylogenetic groups in an oligomesotrophic lake / M. M. Salcher, J. Pernthaler, T. Posch // *Limnol. Oceanogr.* – 2010. – Vol. 55(2). – P. 846–856 (doi: 10.4319/lo.2010.55.2.0846).

55. Eckert E. M. Rapid successions affect microbial N-acetyl-glucosamine uptake patterns during a lacustrine spring phytoplankton bloom / E. M. Eckert, Salcher, M. M. Posch, T. B. Eugster, J. Pernthaler // *Environ. Microbiol.* – 2012. – Vol. 14(3). – P. 794–806 (doi: 10.1111/j.1462-2920.2011.02639.x).

**GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY OF MICROBIAL MARKERS METHOD POSSIBILITIES FOR ASSESSMENT OF THE SANITARY AND ECOLOGICAL STATE OF WATER BODIES**

*Filippova Yu. Yu., Nokhrin D. Yu., Devyatova E. V., Andreeva S. V.*

*Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia  
E-mail: andreeva\_sv81@mail.ru*

Microorganisms are important indicators of the water bodies' pollution for drinking and recreational purpose. Currently, the detection of the sanitary and epidemiological state of water bodies is carried out using the classic bacteriological method, which has a number of disadvantages, such as duration and laboriousness of the study. As an alternative, the paper proposes the method of gas chromatography-mass spectrometry of microbial markers (GCMS MM). This method is based on the determination of specific fatty acids (FA), aldehydes, alcohols and sterols in the cell wall of microorganisms directly in the sample, without the extraction of pure cultures. GCMS MM allows the simultaneous detection and quantification of more than 50 genus/species in one sample. The advantages of the method are: high speed of obtaining the results (about 2.5 hours), and relatively low cost of equipment and reagents. To test the method, we estimated the abundance of several specimen of the water microbiota of 4 lakes in the Chelyabinsk region with different anthropogenic load. In each reservoir, samples were taken at 3 points from 3 levels (surface, middle, and bottom), taking into the account the requirements of asepsis. The concentration of the water samples was taken using membrane filter method. The extraction of lipid substances (including FAs of microorganisms) was carried out using acid methanolysis. Chromatographic separation and identification of the extracted compounds were performed on a gas chromatograph using a mass-selective detector "Maestro". To interpret the results and connect lipid markers with a specific microorganism, we used a program developed by G.A. Osipov. In statistical analysis, for all bacteria, the geometric mean of their concentration in each body of water with 95% confidence intervals (95 % CI) have been calculated. In the samples with censored observations of the "less than" type, the mean values of the logarithms were calculated by using the Kaplan–Meier method and 95 % CI for them, using the bootstrap method (percentile method, n=9999). The reservoirs were compared by concentration of microorganisms, using the Kruskal–Wallis rank test and post-hoc pairwise comparisons Dunn method. To visualize the relative values of the concentrations of microorganisms, as well as to simultaneously assess the similarity of water bodies and microorganisms, a cluster heat map was built. In this case, for grouping the rows and columns of the data matrix, hierarchical cluster analysis was used with the Spearman's correlation coefficients as the similarity measure and the Ward's method as the agglomerative algorithm. As a result of work using the GCMS MM method, 28 taxa of microorganisms belonging to 5

main phyla of bacteria (*Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*) and the kingdom of fungi were found in water samples from all lakes. 13 (46.4 %) taxa were identified up to the species level and 15 (53.6 %) up to the genus level. 9 species/genus of the specimen belonged to the sanitary and epidemiological indicators were used to determine the quality of drinking and recreational water. Among them are indicators of fresh fecal contamination (bacteria of the *Escherichia coli* group and *Enterococcus spp.*), indicators of long-standing fecal contamination (*Clostridium perfringens*) and opportunistic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Moraxella spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*). Comparison of the microbiota community of lakes with different anthropogenic load (Smolino, Pervoe, Chebarkul lakes, and Shershnevsky reservoir) showed statistically significant differences in 17 taxa. Water bodies with a high anthropogenic load – lakes Pervoe and Smolino had a relatively low number of bacterial communities. On the contrary, Lake Chebarkul, located outside of the city Chelyabinsk and subject to low anthropogenic impact and is characterized by a high number of microorganisms, especially bioremediation bacteria: specimen of the genera *Bacillus*, *Clostridium* and *Actinomyces*. Thus, the results allow us to propose the GCMS MM method as an express method for assessing the sanitary and ecological state of water bodies. In addition, it can also be used to determine the abundance and structure of the microbiota community, which may reflect the level of anthropogenic load on a water body. Nevertheless, the method has two limitations: 1) relatively low sensitivity –  $1 \times 10^4$  CFU/ml; 2) due to the high diversity of microbial communities in natural environments, some lipid markers can be characteristic of several species / genus of bacteria at the same time.

**Keywords:** microbial communities, gas chromatography – mass spectrometry of microbial markers method sanitary and ecological indicators of water quality.

*The research was funded by Russian Foundation for Basic Research (RFBR) and Chelyabinsk Region (project No. 20-44-740003).*

### References

1. Reed A. J. and Hicks R. E. Microbial ecology of Lake Superior Bacteria and Archaea: An overview, *Aquatic Ecosystem Health & Management*, **14**(4), 386 (2011). doi: 10.1080/14634988.2011.630282.
2. Liu L. M., Chen H. H., Liu M., Yang J. R., Xiao P., Wilkinson D. M. and Yang J. Response of the eukaryotic plankton community to the cyanobacterial biomass cycle over 6 years in two subtropical reservoirs, *ISME J*, **13**, 2196 (2019). doi: 10.1038/s41396-019-0417-9.
3. Savvichev A. S., Babenko V. V., Lunina O. N., Letarova M. A., Boldyreva D. I., Veslopolova E. F., Demidenko N. A., Kokryatskaya N. M., Krasnova E. D., Gaisin V. A., Kostryukova E. S., Gorlenko V. M. and Letarov A. V. Sharp water column stratification with an extremely dense microbial population in a small meromictic lake, Trekhztvetnoe, *Environ. Microbiol*, **20**(10), 3787 (2018). doi: 10.1111/1462-2920.14384.
4. Sagova-Mareckova M., Boenigk J., Bouchez A., Cermakova K., Chonova T., Cordier T., Eisendle U., Elersek T., Fazi S., Fleituch T., Frühe L., Gajdosova M., Graupner N., Haegerbaeumer A., Kelly A. M., Kopecky J., Leese F., Nöges P., Orlic S., Panksep K. and Stoeck T. Expanding ecological assessment by integrating microorganisms into routine freshwater biomonitoring, *Water research*, **191**, 116767. (2021). doi: 10.1016/j.watres.2020.116767.

5. Phulpoto I., Hu B., Wang Y., Ndayisenga F., Li J. and Yu Z. Effect of natural microbiome and culturable biosurfactants-producing bacterial consortia of freshwater lake on petroleum-hydrocarbon degradation, *Science of The Total Environment*, **751**, 141720 (2021). doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141720.
6. GOST 18963-73 Drinking water. Methods of sanitary and bacteriological analysis, *Standartinform*, 20 (2008). (in Russ.).
7. MUK 4.2.1884-04 Sanitary-microbiological and sanitary-parasitological analysis of water of surface water bodies. Date of introduction 2004-03-03. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200039680> (Accessed November 19, 2021). (in Russ.).
8. Strukova E. G., Efremov A. A., Gontova A. A., Osipov G. A. and Sarmatova N. I. Determination of the microenvironmental status and diagnosis of human infections using chromatography-mass spectrometry method, *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*, **4**(2), 351 (2009). (in Russ.).
9. Douterelo I., Boxall J. B., Deines P., Sekar R., Fish K. and Biggs C. Methodological approaches for studying the microbial ecology of drinking water distribution systems, *Water Research*, **65**, 134 (2014). doi: 10.1016/j.watres.2014.07.008.
10. Botes M., de Kwaadsteniet M. and Cloete T. E. Application of quantitative PCR for the detection of microorganisms in water, *Anal Bioanal Chem*, **405**(1), 91 (2013). doi: 10.1007/s00216-012-6399-3.
11. Ferone M., Gowen A., Fanning S. and Scannell A. G. M. Microbial detection and identification methods: Bench top assays to omics approaches, *Compr Rev Food Sci Food Saf*, **19**(6), 3106 (2020). doi: 10.1111/1541-4337.12618.
12. Zhang J., Zhu C., Guan R., Xiong Z., Zhang W., Shi J., Sheng Y., Zhu B., Tu J., Ge Q., Chen T. and Lu Z. Microbial profiles of a drinking water resource based on different 16S rRNA V regions during a heavy cyanobacterial bloom in Lake Taihu, China, *Environ Sci Pollut Res Int*, **24**(14), 12796 (2017). doi: 10.1007/s11356-017-8693-2.
13. Osipov G. A., Boiko N. B., Fedosova N. F., Kasikhina S. A. and Lyadov K. V. Comparative gas chromatography-mass spectrometry study of the composition of microbial chemical markers in feces, *Microbial Ecology in Health and Disease*, **21**(3-4), 159 (2009). doi: 10.3109/08910600903462657.
14. Ding S., Bale N. J., Hopmans E. C., Villanueva L., Arts M. G. I., Schouten S. and Sinninghe Damsté J. S. Lipidomics of Environmental Microbial Communities. II: Characterization Using Molecular Networking and Information Theory, *Front Microbiol.*, **12**, (2021). doi:10.3389/fmicb.2021.659315.
15. Osipov G. A., Parfenov A. I., Verkhovtseva N. V. and Ruchkina I. N. Clinical significance of examination of intestinal mucosa microorganisms by culture-biochemical and chromato-mass spectrometric methods, *Experimental and Clinical Gastroenterology*, **4**, 59 (2003). (in Russ.).
16. Larsson L. Determination of microbial chemical markers by gas chromatography-mass spectrometry – potential for diagnosis and studies on metabolism in situ, *APMIS*, **102**(1-6), 161 (1994). doi: 10.1111/j.1699-0463.1994.tb04861.x.
17. Rodionov G. G., Shantyr I. I., Svetkina E. V., Saryan E. S. and Vavilova T. V. Evaluation of the wall intestinal microbiota of healthy people by gas chromatography - mass spectrometry method, *Translational Medicine*, **4**(6), 34 (2017) doi: 10.18705/2311-4495-2017-4-6-34-42. (in Russ.).
18. Platonova A. G., Osipov G. A., Boyko N. B., Kirillova N. V. and Rodionov G. G. Chromato-mass-spectrometric study of microbial fatty acids in human biological fluids and their clinical significance, *Clinical Laboratory Diagnostics*, **60**(12), 46 (2015). (in Russ.).
19. Fedosova N. F., Lyadov K. V. and Osipov G. A. New approaches to the analysis of infectious, postoperative and posttraumatic complications, *Infections in Surgery*, **8**(2), 56 (2010).
20. Malinina N. V., Osipov G. A. and Boyko N. B. Atopic dermatitis in children and gut microbiota. A study by mass spectrometry of microbial markers, *Pediatr*, **1**(1), M51 (2010). (in Russ.).
21. Filippova Y. Y. and Burmistrova A. L. Cognitive axis of old age: inflammation - small intestine microbiota, *Journal of Microbiology Epidemiology and Immunobiology*, **5**, 3 (2017). (in Russ.).
22. Burmistrova A. L. Filippova Y. Y. and Timofeeva A. V. Microbial consortium and oxytocin in the social behavior of children with autism spectrum disorders, *Journal of Microbiology Epidemiology and Immunobiology*, **4**, 62, (2018). (in Russ.).
23. Dalavai V., Gundala P. B., Kannali J., Charantheja P., Kumari G. S. and Chinthala P. Gas chromatography – mass spectrometric determination of fatty acid methyl esters of four marine cyanobacterial species, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, **7**(5), 1420 (2016).

24. Shumilova L. P. and Kuimova N. G. Study of the microbial community of urban soils by gas chromatography-mass spectrometry, *Bulletin of physiology and pathology of respiration*, **50**, 121 (2013). (in Russ.).
25. Hammer Ø., Harper D. A. T and Ryan P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis, *Palaeontologia Electronica*, **1**, 1 (2001).
26. Nocerino J., Singh A., Maichle R., Armbya N. and Singh A. K. Scout Version 1.0. User Guide Part I, p. 244 (U.S. Environmental Protection Agency, Washington, 2008).
27. FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization]. *Statistical Aspects of Microbiological Criteria Related to Foods. A Risk Managers Guide. Microbiological Risk Assessment Series, no 24*. Rome, 120 (2016).
28. Wilkinson L. and Friendly M. The history of the cluster heat map, *The American Statistician*, **63**(2), 179 (2009). doi: 10.1198/tas.2009.0033.
29. Kim J.-O., Mueller C. W. and Klekka W. R. *Factor, Discriminant and Cluster Analysis* [Russian translation], p. 215 (Finance and Statistics, Moscow, 1989). (in Russ.).
30. Kolde R. Package 'pheatmap': Pretty Heatmaps Version 1.0.12, (2018). URL: <https://cran.r-project.org/web/packages/pheatmap/pheatmap.pdf> (Accessed November 19, 2021).
31. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Austria, Vienna: R Foundation for Statistical Computing, (2016). URL: <https://www.R-project.org> (Accessed November 19, 2021).
32. Levine A. D., Harwood V. J. and Fox G. A. Collecting, exploring, and interpreting microbiological data associated with reclaimed water systems: a guidance manual, *Alexandria, VA: WateReuse Foundation*, 76 (2009).
33. Duarte A. S. R. The interpretation of quantitative microbial data: meeting the demands of quantitative microbiological risk assessment, *Denmark: National Food Institute*, 158 (2013).
34. Jarvis B. Statistical aspects of the microbiological examination of foods, *Elsevier B.V.*, 306 (2016). doi: 10.1016/C2015-0-00103-4.
35. Wendelberger J. and Campbell K. Non-detect data in environmental investigations, *US Los Alamos National Lab*, 12 (1994).
36. Shoari N. and Dubé J.-S. Toward improved analysis of concentration data: embracing nondetects, *Environ., Toxicol. and Chem.*, **37**(3), 643 (2018). doi: 10.1002/etc.4046.
37. Shumway R. H., Azari R. S. and Kayhanian M. Statistical approaches to estimating mean water quality concentrations with detection limits, *Environ. Sci. Technol.*, **36**(15), 3345 (2002). doi: 10.1021/es0111129.
38. Helsel D. R., *Nondetects and data analysis: statistics for censored environmental data*, p. 268 (John Wiley and Sons, New York, 2004).
39. Nocerino J., Singh A., Maichle R., Armbya N. and Singh A. K. *Scout 2008 Version 1.0. User Guide Part I*, p. 244 (U.S. Environmental Protection Agency, Washington, 2008).
40. Shin J., Kang S., Song Y., Jin S., Lee J. S., Lee J. K., Kim D. R., Kim S. C., Cho S. and Cho B. K. Genome Engineering of *Eubacterium limosum* Using Expanded Genetic Tools and the CRISPR-Cas9 System, *ACS synthetic biology*, **8**(9), 2059 (2019). doi: 10.1021/acssynbio.9b00150.
41. Schuchmann K. and Müller V. Autotrophy at the thermodynamic limit of life: a model for energy conservation in acetogenic bacteria, *Nat. Rev. Microbiol.* **12**(12), 809 (2014). doi: 10.1038/nrmicro3365.
42. Fast A. G. and Papoutsakis E. T. Stoichiometric and energetic analyses of non-photosynthetic CO<sub>2</sub>-fixation pathways to support synthetic biology strategies for production of fuels and chemicals, *Curr. Opin. Chem. Eng.*, **1**(4), 380 (2012). doi: 10.1016/j.coche.2012.07.005.
43. Schuchmann K. and Müller V. *Basic principles of bioconversions in anaerobic digestion and methanogenesis*, [S. S. Sofer, O. R. Zaborsky, Eds.], p. 277 (Springer, Boston, 2014).
44. Kountz D. J., Behrman E. J., Zhang L. and Krzycki J. A. MtcB, a member of the MttB superfamily from the human gut acetogen *Eubacterium limosum*, is a cobalamin-dependent carnitine demethylase, *The Journal of biological chemistry*, **295**(34), 11971 (2020). doi: 10.1074/jbc.ra120.012934.
45. Bunesova V., Lacroix C. and Schwab C. Mucin Cross-Feeding of Infant Bifidobacteria and *Eubacterium hallii*, *Microbial ecology*, **75**(1), 228 (2018). doi: 10.1007/s00248-017-1037-4.
46. Hur H. and Ruffin F. Biotransformation of the isoflavonoids biochanin A, formononetin and glycitein by *Eubacterium limosum*, *FEMS Microbiol. Lett.* **192**(1), 21 (2000). doi: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb09353.x

47. Genthner B. R., Davis C. L. and Bryant M. P. Features of rumen and sewage sludge strains of *Eubacterium limosum*, amethanol- and H<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>-utilizing species, *Appl. Environ. Microbiol.*, **42**, 12 (1981).
48. Zhao S., Hu N., Chen Z., Zhao B. and Liang Y. Bioremediation of reclaimed wastewater used as landscape water by using the denitrifying bacterium *Bacillus cereus*, *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, **83**(3), 337 (2009). doi: 10.1007/s00128-009-9684-x.
49. Hlordzi V., Kuebutornye F. K. A., Afriyie G., Abarike E. D., Lu Y., Chi S. and Anokyewaa M. A. The use of *Bacillus* species in maintenance of water quality in aquaculture: A review, *Aquaculture Reports*, **18**, 100503 (2020). doi: 10.1016/j.aqrep.2020.100503.
50. Cao X., Wang, Y., Xu Y., Duan G., Huang M. and Peng J. Adaptive variations of sediment microbial communities and indication of fecal-associated bacteria to nutrients in a regulated urban river, *Water*, **12**(5), 1344 (2020). doi: 10.3390/w12051344.
51. Rainey F. A., Hollen B. J. and Small A. *Genus Clostridium*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed., [De Vos P., Garrity G. M., Jones D., Krieg N. R., Ludwig W., Rainey F. A., Schleifer K.-H., Whitman W.B. Eds.], p. 738 (Springer, New York, 2009).
52. Warnecke F., Amann R. and Pernthaler J. Actinobacterial 16S rRNA genes from freshwater habitats cluster in four distinct lineages, *Environ. Microbiol.*, **6**, 242 (2004). doi: 10.1111/j.1462-2920.2004.00561.x.
53. Ghai R., Mizuno C. M., Picazo A., Camacho A. and Rodriguez-Valera F. Key roles for freshwater Actinobacteria revealed by deep metagenomic sequencing, *Mol. Ecol.*, **23**(24), 6073 (2014). doi: 10.1111/mec.12985.
54. Salcher M. M., Pernthaler J. and Posch T. Spatiotemporal distribution and activity patterns of bacteria from three phylogenetic groups in an oligomesotrophic lake, *Limnol. Oceanogr.*, **55**(2), 846 (2010). doi: 10.4319/lo.2010.55.2.0846.
55. Eckert E. M., Salcher M. M., Posch T., Eugster B. and Pernthaler J. Rapid successions affect microbial N-acetyl-glucosamine uptake patterns during a lacustrine spring phytoplankton bloom, *Environ. Microbiol.* **14**(3), 794 (2012). doi: 10.1111/j.1462-2920.2011.02639.x.

УДК 615.214.3(07)

## АДАПТОГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА СИЛИПЛАНТ НА *TRITICUM AESTIVUM* L. В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО ДЕФИЦИТА

Чмелёва С. И., Джелдубаева Э. Р., Туманянц К. Н., Ярмолук Н. С.

*Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение)  
ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь,  
Республика Крым, Россия  
E-mail: chmeleva-s@mail.ru*

Приведены доказательства стимулирующего влияния регулятора роста Силиплант на энергию прорастания, лабораторную всхожесть, длину надземной части, длину корневой системы, показатели водного баланса растений *Triticum aestivum* L. сорта Бунчук при недостаточном водообеспечении. Подобрана оптимальная концентрация синтетического регулятора роста, оказывающая адаптогенное влияние на *Triticum aestivum* L. сорта Бунчук, в условиях осмотического стресса. Впервые установлено, что предпосевная обработка 0,3 % раствором препарата Силиплант в течение четырех часов оказывает положительное влияние на показатели водного режима растений пшеницы. У опытных растений, выращенных из семян прошедших предпосевную обработку регулятором роста, восстанавливается водный обмен за счет увеличения интенсивности транспирации и снижения водного дефицита, по сравнению с контрольными растениями.  
**Ключевые слова:** Силиплант, регулятор роста, адаптогенное действие, пшеница, осмотический стресс.

### ВВЕДЕНИЕ

В наше время в современной биотехнологии актуальной является проблема применения физиологически активных веществ для регуляции роста и развития растений. Обширное применение регуляторов роста растений представляет собой важный фактор эффективности технологий сельского хозяйства [1, 2]. Немаловажным также есть раскрытие роли биологически активных соединений в регуляции основных функций жизнедеятельности растений, в повышении устойчивости их к неблагоприятным факторам окружающей среды (высоким и низким температурам, засухе, засолению почвы, различным заболеваниям и др.), а также в увеличении урожайности [3, 4].

При помощи регуляторов роста совершенствуются агротехнические приемы выращивания различных сельскохозяйственных культур. Их применение становится с каждым годом все более разнообразным и многофункциональным. Они оказывают многообразное действие на растение, контролируя такие процессы как: деление клеток, влияют на основные процессы жизнедеятельности (дыхание, фотосинтез), регулируют физиологическую и морфологическую корреляцию органов и тканей растения, участвуют в процессах регенерации утраченных частей растения [5].

На сегодняшний день наиболее актуальным является комплексный подход к применению регуляторов роста растений, обладающих как рострегулирующим, так

и антистрессовым и иммуностимулирующим действием. Применение регуляторов роста в сельском хозяйстве, является новым направлением химизации, которое основано на современных достижениях физиологии растений, молекулярной биологии, биохимии и др. [6].

Показано, что применение синтетического регулятора роста Силиплант вызывает широкий спектр биологического действия, повышает засухоустойчивость, способствует усвоению всех видов удобрений, повышает урожайность, качественные показатели продукции и повышает сопротивляемость к заболеваниям [7]. Влияние данного препарата на рост и развитие злаковых культур, в частности пшеницы, изучено недостаточно, поэтому представляет неоспоримый интерес как в теоретическом, так и в практическом отношении.

В связи с этим, целью данной работы являлось выявление адаптогенного действия препарата Силиплант на *Triticum aestivum* L. в условиях водного дефицита.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть проводилась на базе кафедры ботаники и физиологии растений и биотехнологий КФУ имени В.И. Вернадского, в период 2018-2021 гг.

Объектом исследования явилась пшеница мягкая (*Triticum aestivum* L.) – однолетнее травянистое растение высотой 60–180 см. Культура достаточно требовательна к обеспечению водой, особенно в период выхода в трубку – налива зерна. Засуха значительно снижает урожайность пшеницы [8].

Опыты проводились с семенами и растениями пшеницы на начальных этапах онтогенеза. Семена пшеницы были отобраны по среднему размеру. Семена промывали в проточной воде, замачивали в слабом растворе  $KMnO_4$  (15 минут), затем промывали 3 раза дистиллированной водой. Согласно экспериментальному плану семена в марлевых мешочках замачивали в различных концентрациях растворов синтетического регулятора роста Силиплант.

Растения выращивали в лабораторных условиях при температуре от +22 до +24 °С на протяжении 3 недель при двух уровнях влажности почвы: оптимальный – 70 % от общей влагоемкости поля (ППВ) и сухой – 30–35 % от ППВ. В соответствии с этим использовались два контрольных варианта: контроль 1 – семена замачивали в отстоянной водопроводной воде и высевали на субстрате с оптимальной увлажненностью; контроль 2 – семена замачивали в отстоянной водопроводной воде и высевали на субстрате с низким уровнем увлажненности до конца эксперимента.

#### Схема опыта.

1. Контроль № 1 – отстоянная водопроводная вода;
2. Контроль № 2 – водный дефицит;
3. Препарат Силиплант, 0,1 %-ный раствор;
4. Препарат Силиплант, 0,2 %-ный раствор;
5. Препарат Силиплант, 0,3 %-ный раствор;
6. Препарат Силиплант, 0,4 %-ный раствор.

Для проращивания семена были помещены в термостат типа ТС-80-М-2 на трое суток в темноте при температуре +20 °С. В соответствии с требованиями стандарта для сельскохозяйственных культур 12038-84 для мягкой пшеницы, энергия прорастания определяется на 3-и сутки, а всхожесть семян – на 7-е сутки. Энергия прорастания семян характеризует дружность появления нормальных проростков. Всхожесть – количество нормально проросших семян в образце, взятом для анализа, выраженное в процентах [ГОСТ 12038– 84].

Для определения сухой, сырой массы растений пшеницы были отобраны 5 параллельных проб по 10 типичных и однородных экземпляров. Время между отборами 7 дней.

Для определения содержания сухого вещества растительный материал высушивали в термостате при температуре 105 °С, до постоянной массы и взвешивали.

По результатам эксперимента были выделены следующие группы устойчивости семян (табл. 1).

**Таблица 1.**

**Группы семян по засухоустойчивости**

Группы засухоустойчивости	Процент всхожести семян соответственно группе
I – высокоустойчивые	> 80 %
II – устойчивые	61–80 %
III – среднеустойчивые	41–60 %
IV – слабоустойчивые	21–40 %
V – очень слабоустойчивые	< 20 %

**Определение водного дефицита.** Для определения водного дефицита срезали 2–3 листа, делали 20 высечек сверлом диаметром 8 мм, при этом не попадали на крупные жилки листа.

Высечки взвешивались на аналитических весах (M1), помещались на поверхность воды в закрытые чашки Петри и оставались для насыщения тканей водой на 1–2 ч. Далее тургесцентные высечки доставались из воды, осторожно и быстро обсушивались снаружи фильтровальной бумагой и взвешивались (M2). Для контроля высечки вновь помещались в воду и через 30 мин взвешивание повторялось. В случае, если масса ткани не меняется, значит она полностью насыщена водой. Далее высечки необходимо было поместить в бюксы, высушить в сушильном шкафу в течение 1 часа при температуре 100–105 °С, взвесить и определить массу абсолютно сухой ткани (M3). На основании полученных данных вычислялся показатель водного дефицита по формуле:

$$Wg = (((M_2 - M_3) - (M_1 - M_3)) / (M_2 - M_3)) * 100,$$

где Wg – водный дефицит, %; (M<sub>2</sub>–M<sub>3</sub>) – количество воды, насыщающее листья, г; (M<sub>1</sub>–M<sub>3</sub>) – исходное содержание воды в листьях, г.

**Определение интенсивности транспирации.** Определение интенсивности транспирации проводилось методом быстрого взвешивания, предложенным Л. А. Ивановым.

Отдельный лист растения срезают и дважды взвешивают с промежутком не более 3 мин, так как при более длительной экспозиции может начаться завядание листьев, которое снизит транспирацию. Установленное этим методом уменьшение массы листьев соответствует количеству испаренной воды.

Интенсивность транспирации  $IT$  ( $г/м^2*ч$ ) вычисляли по формуле:

$$IT = \pi * 10\ 000 * 60 / (S * t),$$

где  $\pi$  – количество испарившейся воды, г;  $S$  – площадь,  $см^2$ ;  $t$  – экспозиция, мин; 10000 – коэффициент перевода  $см^2$  в  $м^2$ ; 60 – коэффициент перевода минут в часы.

Площадь листа вычислить по пропорции  $a/b = c/S$ , где  $a$  – масса квадрата,  $b$  – масса бумажной фигуры,  $c$  – площадь квадрата,  $S$  – площадь листа. Для определения поверхности листа – взвешивали на торсионных весах квадрат миллиметровой бумаги площади ( $1\ см^2$ ), и бумажный шаблон, точно соответствующий площади листа [9].

**Определение свободного пролина.** Для определения свободного пролина брали три пробы листьев по 1 г каждая. Мелко их нарезали, заливали 10 мл 3 %-го раствора сульфосалициловой кислоты и растирали в течение 5 мин в ступках до получения однородной массы, растертую массу переносили на фильтр. Затем брали 2 мл фильтрата и проводили дальнейшее определение как при построении калибровочной кривой. Концентрация пролина определялась по калибровочному графику. Результаты расчета выражали в миллиграмм–процентах на сухое вещество, предварительно определив, сколько сухого вещества содержится в 1 г сырых листьев в контроле и при недостатке воды [10].

Статистическую обработку полученных данных осуществляли, рассчитывая среднюю арифметическую и стандартную ошибку средней арифметической, стандартное отклонение, критерий достоверности Стьюдента для сравнения двух выборок.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Действие регулятора роста Силиплант на прорастание семян *Triticum aestivum* L. при недостаточном водообеспечении.**

Результаты исследования выявили, что Силиплант оказывает стимулирующие влияние на энергию прорастания и всхожесть семян пшеницы при обработке их различными концентрациями препарата.

При предпосевной обработке семян пшеницы 0,1 % раствором регулятора роста Силиплант, энергия прорастания составила 70,6 %, а всхожесть 91,7 %, что на 3 и 1,8 % соответственно ниже, чем в контрольных вариантах опыта.

При концентрации 0,2 % энергия прорастания составила 81,2 %, а всхожесть 95,8 %, что на 7,6 и 2,3 % выше, чем в контрольном варианте. Концентрация 0,3 % регулятора роста Силиплант оказала наибольший эффект на семена пшеницы. С применением данной концентрации энергия прорастания составила 96,4 %, а всхожесть 96,8 %, что превысило контрольные варианты на 22,8 и 3,3 %, соответственно. Ингибирующее действие оказала концентрация 0,4 %, при этом энергия прорастания составила 53,3 %, а всхожесть 67,1 %, что в свою очередь на 20,3 и 26,4 % ниже, чем контрольные варианты опыта (табл. 2).

**Таблица 2.**  
**Влияние предпосевной обработки препаратом Силиплант на посевные качества семян *Triticum aestivum* L.**

Варианты опыта	Посевные качества семян ( $\bar{x} \pm Sx$ )	
	энергия прорастания, %	лабораторная всхожесть, %
Контроль 1	73,6 ± 0,02	93,5 ± 0,03
Силиплант 0,1 %	74,6 ± 0,02	93,7 ± 0,02
Силиплант 0,2 %	81,2 ± 0,03*	95,8 ± 0,03*
Силиплант 0,3 %	96,4 ± 0,03**	96,8 ± 0,03*
Силиплант 0,4 %	53,3 ± 0,02*	67,1 ± 0,02*

*Примечание:* отмечены достоверные различия по сравнению с контролем при \*P≤0,05, \*\*P≤0,01, \*\*\*P≤0,001.

Таким образом, анализируя полученные нами данные по изучению влияния синтетического регулятора роста Силиплант на всхожесть семян пшеницы, можно сделать вывод, что оптимальной концентрацией препарата для стимуляции процессов прорастания пшеницы является 0,3 %.

Очень важное значение при обработке семян различных культурных растений регуляторами роста имеет время обработки. В результате того, что производители синтетических стимуляторов рекомендуют среднее количество времени для замачивания семян различных культур, важен подбор времени в часах для определенного препарата и сорта пшеницы. В табл. 3 показаны данные по влиянию различного времени экспозиции семян в регуляторе роста 0,3 % концентрации. В этой концентрации были установлены максимальные показатели, как для энергии прорастания семян, так и для всхожести.

Для определения оптимального времени замачивания семян в регуляторе роста Силиплант в концентрации 0,3 %, мы совершили замачивание на следующие промежутки времени: 60, 120, 180, 240 и 300 минут.

Показано, что при замачивании семян пшеницы сорта Бунчук в препарате Силиплант в концентрации 0,3 % на 60 минут, энергия прорастания составила 67,3 %, а всхожесть 83,5 %. При увеличении времени замачивания в два раза (120 мин) энергия прорастания составила 72,3 %, а всхожесть 84,6 %. Замачивание семян в стимуляторе роста на 180 минут не оказало сильного стимулирующего действия, энергия прорастания составила 71,4 %, а всхожесть 84,1 %. При

увеличении времени замачивания до 240 минут, было выявлено максимальное стимулирующее действие для семян пшеницы – энергия прорастания составила 96,4 %, а всхожесть – 96,8 %. На семена, которые замачивались на 300 минут, было оказано ингибирующее действие – энергия прорастания составила 66,7 %, а всхожесть 82,4 %.

**Таблица 3.**  
**Влияние времени обработки регулятором роста Силиплант на всхожесть**  
*Triticum aestivum* L. ( $x \pm S_x$ )

Вариант опыта	Экспозиция, мин	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %
Контроль	60	58,3±0,02	77,4±0,03
Силиплант 0,3 %	60	67,3±0,02*	83,5±0,03
Контроль	120	63,5±0,03	81,1±0,02
Силиплант 0,3 %	120	72,3±0,02	84,6±0,02
Контроль	180	60,3±0,02	82,1±0,03
Силиплант 0,3 %	180	71,4±0,04*	84,1 ±0,03
Контроль	240	73,6±0,02	90,3±0,02
Силиплант 0,3 %	240	96,4±0,04**	96,8±0,03
Контроль	300	55,3±0,01	81,0±0,03
Силиплант 0,3 %	300	66,7±0,02*	82,4±0,03

Примечание: звездочками отмечены достоверные различия по сравнению с контролем при \*P≤0,05, \*\*P≤0,01, \*\*\*P≤0,001; н/д - разница не достоверна.

Таким образом, оптимальное время для замачивания семян, при котором опытные варианты максимально превышают контрольные, является 240 мин.

**Влияние регулятора роста Силиплант на морфометрические показатели растений *Triticum aestivum* L.**

В результате проведенных нами исследований было установлено, что применение предпосевного замачивания семян в синтетическом регуляторе роста *Triticum aestivum* L. стимулирует прирост массы сырого и сухого вещества 4-дневных проростков, наблюдается увеличение показателей линейного роста растений.

Оптимальной концентрацией синтетического регулятора роста Силиплант для *Triticum aestivum* L. установлена 0,3 %. Так, например, если длина 4-дневных контрольных проростков достигала в среднем 5,8 см, а длина 4-дневных проростков выращенных в условиях водного дефицита – 4,1 см, то при использовании оптимальной концентрации препарата Силиплант, исследуемый показатель превышал вариант с дефицитом увлажненности на 34,1 % и достигал в среднем 5,5 см (табл. 3).

Показано, что применение для предпосевной обработки более высокой концентрации регулятора роста Силиплант также оказывают стимулирующее действие на ростовые параметры исследуемого сорта пшеницы, однако в меньшей

степени. Так, например, при концентрации препарата Силиплант 0,4 % средняя длина 4-дневных проростков составила 5,2 см, что на 0,06 см меньше, чем в контрольном варианте.

**Таблица 4.**  
**Влияние препарата Силиплант на формирование 4-дневных проростков**  
*Triticum aestivum* L. ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Вариант опыта	Длина, см		Биомасса 100 шт. coleoptилей, г	
	coleoptиль	корней	сырая	сухая
Контроль 1	5,8±0,01	5,5±0,02	2,8±0,07	0,20±0,007
Контроль 2	4,1±0,01	3,6±0,01	1,8±0,08	0,15±0,006
Силиплант 0,1 %	3,8±0,01	3,7±0,01	2,1±0,07	0,16±0,006
Силиплант 0,2 %	4,2±0,01*	4,8±0,02*	2,4±0,05*	0,18±0,006*
Силиплант 0,3 %	5,5±0,02**	5,2±0,02**	2,7±0,08**	0,20±0,009**
Силиплант 0,4 %	5,2±0,02*	5,0±0,02*	1,6±0,06*	0,16±0,005

*Примечание:* достоверные различия по сравнению с контролем при \*P≤0,05, \*\*P≤0,01, \*\*\*P≤0,001.

При этом применение регулятора роста в минимальной концентрации (0,1 %) оказывает ингибирующий эффект на проростки пшеницы. Опытные 4-дневные проростки пшеницы, выращенные из семян, прошедших предпосевную обработку в растворе с данной концентрацией Силиплант, достигают 3,8 см.

Рост растений, а также накопление ими органических веществ, являются конечными результатами взаимодействия с факторами окружающей среды, результатом сложных, часто взаимоисключающих процессов, происходящих в клетках, тканях и органах. Ускоряя рост растений путем предпосевной обработки регуляторами роста, можно контролировать процессы, протекающие в организме растений [11].

При изучении влияния синтетического регулятора роста Силиплант на накопление сырой массы растений пшеницы сорта Бунчук были получены следующие результаты, представленные в таблице 5.

Выявлено, что исследуемый регулятор роста оказал стимулирующее влияние на накопление массы сырого вещества растений пшеницы. Наилучшие результаты были получены в вариантах, в которых применялась предпосевная обработка семян в 0,3 %-ном растворе препарата Силиплант. Так, например, у 7-ми дневных растений масса сырого вещества надземной части на 6,5 % превышает массу сырого вещества у растений, выращенных в условиях почвенной засухи (контроль 2). У 14-ти дневных растений опытные варианты превышают контрольные на 4,9 %, а у 21-дневных – на 4,9 % соответственно (табл. 5).

Результаты демонстрируют, что концентрации изучаемого препарата (0,1 %, 0,2 % и 0,4 %) оказывают достоверное стимулирующее влияние на накопление массы сырого вещества растений пшеницы сорта Бунчук в меньшей степени, чем

оптимальная концентрация (0,3 %). Так, например, у 7-дневных растений пшеницы, обработанных 0,01 %-ным раствором регулятора роста, масса сырого вещества составила 52,1, что на 1,8 % выше, чем у растений, выращенных при дефиците влаги. При применении 0,02 %-ого регулятора роста, разница между обработанными и необработанными препаратом растениями по накоплению массы сырого вещества составляет 4,2 %.

**Таблица 5.**  
**Влияние препарата Силиплант на накопление массы сырого вещества растений *Triticum aestivum* L.**

Варианты опыта	Масса сырого вещества, % от контроля 1 ( $\bar{x} \pm S_x$ )					
	надземная часть			корни		
	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки
Контроль 1	57,5±0,25	58,2±0,35	59,0±0,24	56,2±0,34	57,5±0,44	58,0±0,35
Контроль 2	50,3±0,26	52,6±0,44	53,3±0,45	51,2±0,34	51,6±0,25	52,1±0,45
Силиплант 0,1 %	52,1±0,35	53,2±0,30	53,9±0,41	52,8±0,35	53,3±0,53	53,7±0,36
Силиплант 0,2 %	54,5±0,44	55,1±0,35	55,9±0,25	53,4±0,44	54,1±0,56	54,9±0,37
Силиплант 0,3 %	56,8±0,35	57,5±0,34	58,2±0,45	57,2±0,46	58,0±0,35	58,8±0,56
Силиплант 0,4 %	53,8±0,20	54,2±0,25	55,0±0,36	54,3±0,35	54,9±0,47	55,3±0,35

*Примечание:* разница средних значений контроля и опыта достоверна при  $P \leq 0,01$  для всех вариантов.

Выявлено, что предпосевное замачивание пшеницы сорта Бунчук в различных концентрациях синтетического регулятора роста Силиплант, оказывает стимулирующее действие на накопление массы сухого вещества надземной части растений на начальных этапах онтогенеза. Так, например, 7-дневные опытные растения, обработанные 0,01 %-ным раствором Силиплант накапливают на 5,5 % больше сухого вещества, чем растения, выращенные в условиях водного дефицита.

Обработка растений пшеницы синтетическим регулятором роста Силиплант в концентрации 0,02 % также оказывает положительное действие на накопление массы сухого вещества, 7-дневные опытные растения накапливают на 6,9 % больше сухого вещества, чем в варианте с дефицитом влаги.

Предпосевная обработка растений пшеницы препаратом Силиплант в концентрации 0,03 % оказывает наибольшее влияние на накопление массы сухого вещества, в сравнении со всеми применяемыми концентрациями. На 7-е сутки выращивания побеговая система опытных растений на 11,8 % отличается от контрольных по содержанию массы сухого вещества. У 14-ти дневных растений разница между опытными и контрольными растениями по изучаемому параметру достигает 13 %, а у 21-дневных – 12,9 %.

Установлено, что оптимальной концентрацией, которая стимулирует накопление массы сухого вещества корней растений пшеницы в условиях пониженной почвенной влажности, является 0,03 %-ная. При использовании данной дозы препарата Силиплант масса сухого вещества корней уже на 7-й день после предпосевного замачивания у опытных растений превышает данный показатель у контрольных растений на 6,4 %. Данный эффект влияния Силипланта сохраняется и на 14-й день. Масса сухого вещества корней опытных растений на 5,9 % превышает массу сухого вещества корней контрольных растений.

Изучение других концентраций препарата Силиплант показало, что 0,1 % и 0,2 %-ные дозы регулятора роста положительно влияют на накопление массы сухого вещества корней 7–21-дневных растений пшеницы сорта Бунчук.

Таким образом, в результате проведенных нами исследований по влиянию различных концентраций препарата Силиплант на увеличение массы сырого и сухого вещества растений пшеницы сорта Бунчук, выращенных в условиях пониженной почвенной влажности, нами установлено стимулирующее влияние различных доз препарата. При этом оптимальной концентрацией является 0,03 %.

Рост – процесс преобразования элементов структуры организма, включающий в себя увеличение размеров растений, прибавку в массе и нарастание листовой поверхности. Засоление негативно влияет на рост растения.

При действии длительного осмотического стресса на ранних этапах онтогенеза части *Triticum aestivum* L., морфометрические параметры проростков существенно снижаются, это можно объяснить тем, что водный дефицит оказывает подавляющее действие на процессы митотического цикла, это и обуславливает замедление развития растений. Что касается надземных органов, то в стебле наиболее подвержены воздействию стрессового фактора (недостатку влаги) клетки проводящей системы.

Так, при искусственно созданом дефиците влаги, наблюдается полное ингибирование роста *Triticum aestivum* L. Такую реакцию растения можно объяснить тем, что данная культура, а именно *Triticum aestivum* L. (сорт Бунчук), относится к не засухоустойчивым сельскохозяйственным растениям.

Наши исследования по оценке влияния препарата Силиплант на длину надземной части *Triticum aestivum* L. на фоне воздействия водного дефицита представлены на рис. 1. Наибольшее стимулирующее действие на длину надземной части растений пшеницы оказала концентрация 0,3 % препарата Силиплант, в сравнении с контрольным вариантом.

При использовании концентрации 0,3 % препарата Силиплант исследуемый параметр – высота побега, на 7-е сутки привысил контроль 2 (водный дефицит) в среднем на 2,3 %.

Другие концентрации регулятора роста Силиплант, такие как 0,2 и 0,4 % также оказала положительное влияние на длину надземной части растений *Triticum aestivum* L.

Применение синтетического регулятора роста Силиплант в концентрации 0,1 % оказала наименьшее влияние на высоту надземной части растений *Triticum aestivum* L., в сравнении с контрольным вариантом.

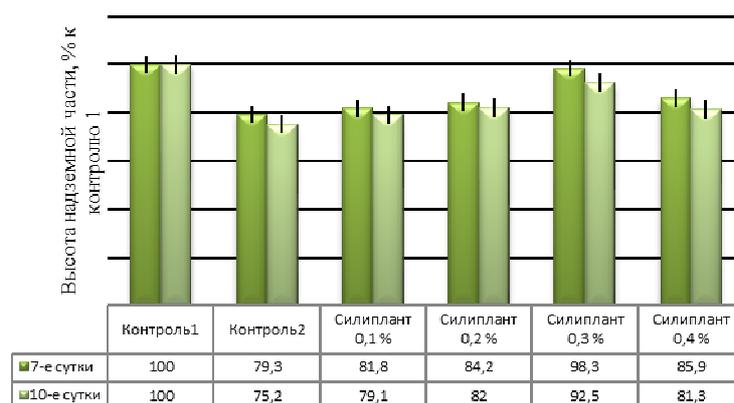


Рис. 1. Влияние препарата Силиплант на высоту надземной части *Triticum aestivum* L.

На рисунке 2 изображено влияние синтетического регулятора роста Силиплант на длину корневой системы. Показано, что наибольшее стимулирующее действие на длину подземной части растений *Triticum aestivum* L. оказала концентрация 0,3 % препарата Силиплант, в сравнении с контрольным вариантом.

При использовании концентрации 0,1 % препарата Силиплант исследуемый параметр – длина корневой системы, на 7-е сутки привысил контроль 2 (водный дефицит) всего на 3,4 %, тем самым оказал наименьшее стимулирующее действие.

Применение регулятора роста Силиплант в концентрациях 0,2 и 0,4 %, также оказали положительное влияние на длину корневой системы, в сравнении с контрольным вариантом 2 (дефицит влаги).

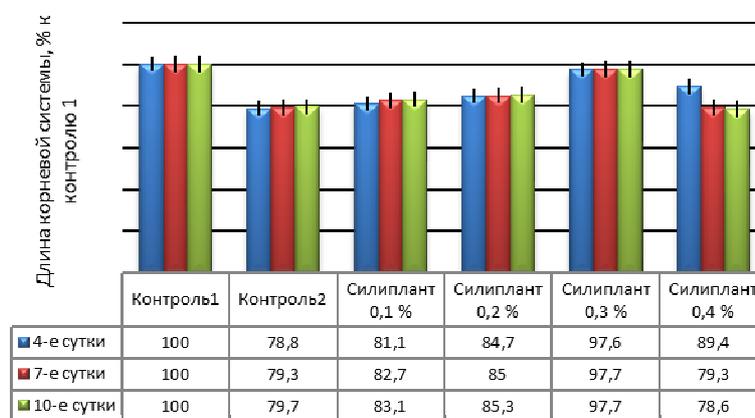


Рис. 2. Влияние препарата Силиплант на длину корневой системы *Triticum aestivum* L.

**Влияние регулятора роста Силиплант на интенсивность транспирации.** Одним из главных показателей водного режима, имеющим большое значение при анализе адаптационных особенностей растений к условиям среды, является интенсивность транспирации [12].

Измерения показали, что интенсивность транспирации растений, выращенных на фоне дефицита воды, уменьшается. Полученные данные можно объяснить тем, что в условиях недостатка влаги растения активируют накопление АБК в листьях, что приводит к закрытию устьиц и, как следствие, к снижению транспирации.

Установлено, что применение синтетического регулятора роста Силиплант, приводит к повышению уровня транспирации у растений *Triticum aestivum* L.

Наиболее оптимальной концентрацией является 0,3 % (рис. 3). Так, при оптимальной концентрации Силипланта (0,3 %), уровень транспирации составил 91,8, что на 27,6 % выше, чем в контрольном варианте с дефицитом влаги.

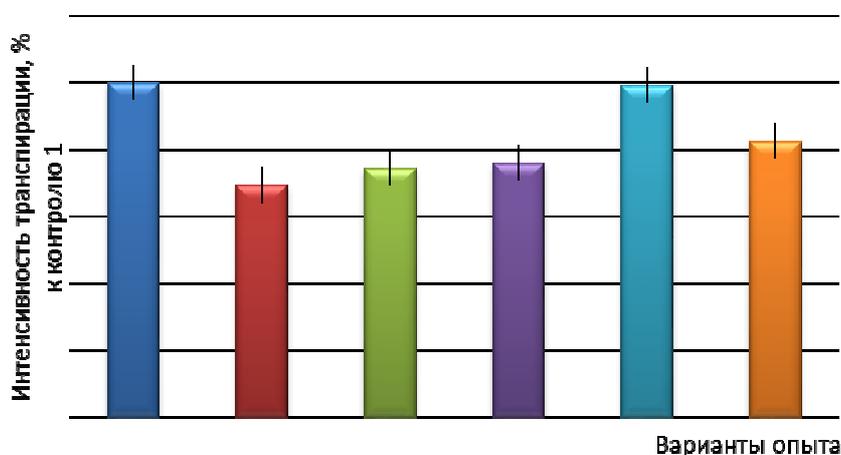


Рис. 3. Влияние препарата Силиплант на интенсивность транспирации *Triticum aestivum* L.

При применении концентраций регулятора роста Силиплант 0,1 и 0,2 % можно наблюдать минимальную интенсивность транспирации.

Концентрация 0,4 % также оказывает положительное влияние на интенсивность транспирации *Triticum aestivum* L. по сравнению с контрольным вариантом с дефицитом влаги.

**Влияние синтетического регулятора роста Силиплант на водный дефицит растений *Triticum aestivum* L.** Проведенные нами исследования выявили резкое снижение водного дефицита в листьях растений пшеницы под влиянием препарата Силиплант в сравнении с растениями, выращенными в условиях недостатка влаги.

Так, при применении оптимальной концентрации синтетического регулятора роста Силиплант водный дефицит составил – 7,37 %, что на 11,3 % ниже, чем в

варианте с водным дефицитом.

Иные концентрации регулятора роста, такие как 0,1; 0,2 и 0,4 % также оказали положительный эффект на уровень водного дефицита растений *Triticum aestivum* L. по сравнению с вариантом с дефицитом влаги.

**Влияние регулятора роста Силиплант на содержание свободного пролина в листьях *Triticum aestivum* L.** В результате проведенных экспериментов установлено, что под влиянием водного дефицита в листьях растений пролин накапливается в значительных количествах, превышающих контрольный вариант, в котором растения выращивались при нормальных условиях водообеспечения.

У опытных растений в условиях водного дефицита содержание пролина превышает в 4,5 раз его содержание у растений, выращенных при оптимальном водообеспечении. Увеличение содержания пролина наблюдали у растений, выращиваемых в условиях недостатка влаги. Установлено, что синтетический регулятор роста оказывает ингибирующее действие на накопление пролина в листьях пшеницы в условиях пониженной увлажненности. Так, при применении оптимальной концентрации Силипланта 0,3 % содержание пролина уменьшилось в сравнении с вариантом, выращенным в условиях водного дефицита.

Таким образом, показано стимулирующее влияние регулятора роста Силиплант на энергию прорастания, лабораторную всхожесть, длину надземной части, длину корневой системы, показатели водного баланса растений *Triticum aestivum* L., сорта Бунчук при недостаточном водообеспечении.

Подобрана оптимальная концентрация синтетического регулятора роста, оказывающая адаптогенное влияние на *Triticum aestivum* L., сорта Бунчук в условиях осмотического стресса. Так, предпосевная обработка 0,3 % раствором препарата Силиплант в течение 4 часов оказывает положительное влияние на показатели водного режима растений пшеницы. У опытных растений, выращенных из семян, прошедших предпосевную обработку регулятором роста, восстанавливается водный обмен за счет увеличения интенсивности транспирации и снижения водного дефицита, по сравнению с контрольными растениями.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлено положительное влияние регулятора роста Силиплант на прорастание и ростовые процессы *Triticum aestivum* L., сорт Бунчук как в оптимальных условиях, так и в условиях водного дефицита.
2. Показано, что оптимальной концентрацией синтетического регулятора роста является 0,3 %. У 4-дневных опытных проростков, семена которых предварительно обрабатывались в течение 240 мин в растворе препарата данной концентрации, масса сырого вещества увеличивается в среднем на 50 %, масса сухого вещества – на 33 %, длина coleoptиле – на 34 %, длина корневой системы – на 44 % по сравнению с контрольными в условиях водного дефицита.
3. Установлено положительное влияние синтетического регулятора роста Силиплант на морфометрические показатели *Triticum aestivum* L., сорт Бунчук. Высота побега достоверно увеличивается в среднем на 22 %, длина корней – на

23 %, масса сырого вещества – на 9–13 %, масса сухого вещества – на 14–25 % у опытных растений по сравнению с контрольными в условиях недостаточного водообеспечения.

4. Показано, что предпосевная обработка семян *Triticum aestivum* L., регулятором роста в оптимальной концентрации способствует возрастанию интенсивности транспирации в среднем на 43 % и снижению водного дефицита на 56 % у опытных растений по сравнению с контрольными в условиях водного дефицита.

Статья выполнена в рамках темы № АААА-А21-121011990099-6 «Физиологические механизмы биологического действия факторов различной природы и силы» на базе ЦКП «Экспериментальная физиология и биофизика» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского».

#### Список литературы

1. Калмыкова Е. В. Повышение адаптивности растений томата к абиотическим факторам стресса при применении регуляторов роста / Е. В. Калмыкова, Н. Ю. Петров, О. В. Калмыкова // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. – 2021. – № 1 (61). – С. 63–73.
2. Рябчикова Н. Б. Сравнительная оценка фолларных обработок растений арбуза столового водорастворимыми одобрениями и регуляторами роста / Н. Б. Рябчикова, М. В. Быкова, И. Н. Бочерова // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 2021. – Вып. 139. – С. 12–135.
3. Chmeleva S. I. Adaptogenic Effect of Low-Intensity Millimeter-Wave Electromagnetic Radiation on Glycine max L. under Osmotic Stress / S. I. Chmeleva, K. N. Tumanyants, A. I. Sidiyakin // XIV International Conference Space and Biosphere (Space and Biosphere 2021) 25th–28th May 2021, Simferopol, Crimea. – 853 – 012018.
4. Chmeleva S. I. Influence of low-Intensity Electromagnetic Radiation of the Millimeter Range on the Antioxidant System of Juvenile Glycine max L. Plants under Osmotic Stress / S. I. Chmeleva, K. N. Tumanyants, N. S. Yarmolyuk // XIV International Conference Space and Biosphere (Space and Biosphere 2021) 25th–28th May 2021, Simferopol, Crimea. – Sci. 853 – 012017.
5. Машкин И. А. Изменение морфобиометрических и физиолого-биохимических параметров сеянцев сосны (*Pinus Sylvestris* L.) при обработке защитно-стимулирующими составами / И. А. Машкин, В. П. Шуканов, Е. В. Мельникова, Л. А. Корытько, С. Н. Полянская // Труды БГТУ. Серия 1: Лесное хозяйство, природопользование и переработка возобновляемых ресурсов – 2021. – Сер. 1, № 2. – С. 73–80.
6. Полевой В. В. Физиология растений / В. В. Полевой. – М.: Высшая школа, 1989. – 526 с.
7. Сидельников Н. И. Влияние регуляторов роста и микроудобрений на урожайность эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* L.) в зависимости от погодных условий / Н. И. Сидельников, О. А. Быкова, Р. Р. Тхаганов // Масличные культуры. – 2021. – Вып. 3 (187). – С. 35–42.
8. Физиология растений : электрон. учеб.-метод. комплекс дисциплины / В. М. Гольд [и др.]; Сиб. федерал. ун-т. – Версия 1.0. – Красноярск : ИПК СФУ, 2008. – 256 с.
9. Строганов Б. П. Физиологические основы солеустойчивости растений / Б. П. Строганов. – М.: ФН СССР, 1962. – 336 с.
10. Джавадиан Н. Вызванные холодом изменения активности ферментов и содержания пролина, углеводов и хлорофиллов у пшеницы / Н. Джавадиан, Г. Каримзаде, С. Мафузи, Ф. Ганати // Физиология растений. – 2010. – Т. 57, № 4. – С. 580–588.
11. Кузнецов В. В. Физиология растений / В. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева. – М.: Высшая школа, 2005. – 736 с.

12. Максимов Н. А. Избранные работы по засухоустойчивости и зимостойкости растений / Н. А. Максимов // Избранные работы по засухоустойчивости и зимостойкости растений. – 1952. – Т. 1. – С. 256–271.

**INFLUENCE OF LOW-INTENSITY ELECTROMAGNETIC RADIATION OF THE MILLIMETER RANGE ON THE PIGMENTAL COMPOSITION AND PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY OF *TRITICUM AESTIVUM* L. UNDER CHLORIDE SALINATION**

*Chmeleva S. I., Dzheldubaeva E. R., Tumanyants K. N., Yarmolyuk N. S.*

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation  
E-mail: chmeleva-s@mail.ru*

This work shows the adaptive effects of Siliplant on *Triticum aestivum* L. under water-scarce conditions.

The results of the study showed that Siliplant has a stimulating effect on the vigour of the sprouting and sprouts wheat seeds when treated with different concentrations of the drug. Pre-sowing soaking of Bunchuk wheat at various concentrations of the synthetic Siliplant growth regulator has been shown to have a stimulating effect on the build-up of dry matter from above-ground plants in the early stages of ontogenesis. The optimum time for seed soaking, in which the experimental variants exceed the control variants maximum, is 240 minutes.

The positive influence of the growth regulator Siliplant on germination and growth processes *Triticum aestivum* L., variety Bunchuk both under optimal conditions and under conditions of water scarcity has been established.

The optimum concentration of the synthetic growth regulator is shown to be 0.3 %. In 4-day experimental sprouts, the seeds of which were pre-treated for 240 minutes in a solution of a drug of a given concentration, the mass of the raw material increases on average by 50 %, The dry matter mass is 33 %, the length of the coleoptyl is 34 %, and the length of the root system is 44 % compared to the control under conditions of water scarcity.

The positive influence of synthetic growth regulator Siliplant on morphometric indicators *Triticum aestivum* L., variety Bunchuk has been established. The runoff height increases reliably by 22 %, the root length by 23 %, the raw material mass by 9–13 %, and the dry matter weight by 14–25 % in experimental plants compared to control plants under conditions of insufficient water supply.

*Triticum aestivum* L., The optimum concentration growth regulator increases transpiration intensity by an average of 43 % and reduces water scarcity by 56 % in experimental plants compared to control plants under conditions of water scarcity.

Thus, the stimulating influence of growth regulator Siliplat on vigour of germination, laboratory germination, length of above ground part, length of root system, indicators of

water balance of plants *Triticum aestivum* L., variety Bunchuk with insufficient water supply is shown.

**Keywords:** Silisplant, growth regulator, adaptive action, wheat, osmotic stress

#### References

1. Kalmykova E. V., Petrov N. Yu., Kalmykova O. V. Increase of tomato plants adaptability to abiotic stress factors when using growth regulators, *Proceedings of the Nizhnevolzhskiy agro-university complex: science and higher professional education*, **1** (61), 63 (2021).
2. Ryabchikova N. B., Bykova M. V., Bocherova I. N. Comparative assessment of foliar treatments of table watermelon plants with water-soluble approvals and growth regulators, *Bulletin of the State Nikita Botanical Garden*, **139**, 12 (2021).
3. Chmeleva S. I., Tumanyants K. N., Sidyakin A. I. Adaptogenic Effect of Low-Intensity Millimeter-Wave Electromagnetic Radiation on Glycine max L. under Osmotic Stress, *XIV International Conference Space and Biosphere (Space and Biosphere 2021)*, **853**, 012018 (Simferopol, Crimea, 25th-28th May 2021).
4. Chmeleva S. I., Tumanyants K. N., Yarmolyuk N. S. Influence of low-Intensity Electromagnetic Radiation of the Millimeter Range on the Antioxidant System of Juvenile Glycine max L. Plants under Osmotic Stress, *XIV International Conference Space and Biosphere (Space and Biosphere 2021)*, **853**, 012017. (25th-28th May 2021, Simferopol, Crimea).
5. Mashkin I. A., Shukanov V. P., Melnikova E. V., Korytko L. A., Polyanskaya S. N. Changes in morphobiometric and physiological and biochemical parameters of pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings when treated with protective and stimulating compositions, *Proceedings of BGTU. Series 1: Forestry, Nature Management and Processing of Renewable Resources*, **1**, **2**, 73 (2021).
6. Polevoj V. V. *Plant physiology*, 526 p. (Moscow: Higher School. 1989).
7. Sidelnikov N. I., Bykova O. A., Tkhaganov R. R. Effect of growth regulators and microfertilizers on yield of *Echinacea purpurea* (*Echinacea purpurea* L.) depending on weather conditions, *Oilseeds*, **3** (187), 35 (2021).
8. *Plant Physiology : electronic training complex*, V. M. Gold [etc.]; 256 p. (Siberian Federal University. - Version 1.0., Krasnoyarsk : IPK SFU, 2008).
9. Stroganov B. P. *Physiological bases of salt tolerance of plants*, 336 p. (M.: FN SSR, 1962).
10. Javadian N., Karimzadeh H., Mafousi S., Ganati F. Cold induced changes in enzyme activity and proline, carbohydrate and chlorophyll content in wheat, *Plant Physiology*, **57**, **4**, 580 (2010).
11. Kuznetsov V. V., Dmitrieva G. A. *Plant Physiology*, 736 p. (Moscow: High School, 2005).
12. Maksimov N. A. Selected works on drought and winter hardiness of plants, *Selected works on drought and winter hardiness of plants*, **1**, 256.

**УДК 547.913: 581.135.51: 616.1**

## **ВЛИЯНИЕ ЭФИРНОГО МАСЛА КОТОВНИКА КОШАЧЬЕГО НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ЛЮДЕЙ С ОПТИМАЛЬНЫМ АРТЕРИАЛЬНЫМ ДАВЛЕНИЕМ**

**Ярош А. М., Батура И. А., Тонковцева В. В., Наговская В. В. В.**

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН», Ялта, пгт. Никита, Республика Крым, Россия  
E-mail: speaker@mail.ru*

**Цель.** Изучить влияние эфирного масла котовника кошачьего на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы молодых и пожилых людей с оптимальным уровнем артериального давления. **Материалы и методы.** В исследование включены 95 женщин в возрасте от 60 до 85 лет и у 109 студентов в возрасте от 18 до 22 лет с оптимальным уровнем артериального давления, разделенные на контрольную (сеансы психорелаксации) и опытную (сеансы психорелаксации сочетали с ингаляцией парами эфирного масла котовника кошачьего) группы, каждая из которых делится на две подгруппы по времени воздействия (10 и 20 минут). До и после проведения сеансов испытуемым измеряли систолическое и диастолическое артериальное давление, частоту сердечных сокращений, и расчетным путем определяли: пульсовое артериальное давление, ударный объем сердца, минутный объем крови, среднее динамическое артериальное давление, общее периферическое сосудистое сопротивление, сердечный индекс, индекс Робинсона, индекс Кердо, коэффициент экономичности кровообращения. Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программы Statistika Analystsoft. **Результаты.** Выявлено, что воздействие эфирного масла котовника кошачьего приводит к изменениям некоторых показателей гемодинамики как у людей молодого, так и пожилого возраста с артериальным давлением на уровне оптимума. При этом наблюдаемые изменения находятся в пределах оптимальных значений параметров кровообращения и не могут быть препятствием для проведения аромапроцедур с эфирным маслом котовника кошачьего.

**Ключевые слова:** пожилые люди, молодые люди, психорелаксация, эфирное масло, котовник кошачий, сердечно-сосудистая система.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Эфирные масла (ЭМ), в том числе ЭМ котовника кошачьего, могут использоваться для коррекции психоэмоционального состояния и умственной работоспособности людей разного возраста [1–3]. Также известна способность ЭМ котовника кошачьего снижать артериальное давление [4]. Предполагается, что в основе этого лежит блокада кальциевых и калиевых каналов мембран гладкомышечных клеток стенок сосудов [1, 2, 5].

Для лиц, страдающих гипертонической болезнью, это ценное свойство ЭМ котовника кошачьего, но есть опасение, что оно может стать препятствием для

проведения аромасихотерапевтических процедур у людей с оптимальным артериальным давлением.

Целью данной работы стало изучение действия эфирного масла котовника кошачьего на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы молодых и пожилых людей с оптимальным уровнем артериального давления.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования влияния ЭМ котовника кошачьего на сердечно-сосудистую систему проведены у 95 женщин в возрасте от 60 до 85 лет и у 109 студентов в возрасте от 18 до 22 лет с систолическим артериальным давлением (АДС) на уровне оптимума по JNC-6 – от 100 до 120 мм.рт.ст. Диастолическое давление также было оптимальным по JNC-6 – от 60 до 80 мм.рт.ст. [6].

Испытуемые на каждом возрастном уровне были случайным образом распределены в контрольные и опытные группы и в подгруппы по времени воздействия (рандомизированное исследование). Исследование проводилось на основе подписанного информированного согласия, утвержденного Комитетом по этике медико-биологических и психологических исследований ФГБУН «НБС-ННЦ РАН». Все испытуемые были проинформированы о цели и методике исследований и согласились на участие в них. Предварительно всем участникам опытных групп выполняли накожную и обонятельную пробы с изучаемым ЭМ. Признаков непереносимости изучаемых ЭМ ни в одном случае не наблюдалось, восприятие аромата было нейтральным или положительным.

Во время исследования испытуемые находились в затемненных кабинетах в состоянии покоя (положение сидя) группами по 10–12 человек. Участникам контрольных групп включали психорелаксационную запись продолжительностью 10 или 20 минут. Экспериментальным группам в помещении распыляли ЭМ котовника кошачьего до концентрации в воздухе  $1 \text{ мг/м}^3$  и параллельно включали психорелаксационную запись. Как показали проведенные нами ранее исследования, нужная концентрация ЭМ достигается к 3–5 минуте распыления, и к 40-й минуте после испарения ЭМ его концентрация в воздухе сохраняется на уровне 80–90 % от достигнутой, т.е. весь период воздействия концентрация ЭМ в воздухе практически не изменялась [7].

Для оценки изменения параметров, характеризующих функцию сердечно-сосудистой системы, испытуемым до и после сеанса психорелаксации или аромасихорелаксации измеряли систолическое (АДС) и диастолическое (АДД) артериальное давление, частоту сердечных сокращений (ЧСС) с помощью аппарата UA-777 фирмы «AD Company Ltd» (Япония). На основании этих данных определяли [8]: пульсовое артериальное давление (ПАД), ударный объем сердца (УОС), минутный объем крови (МОК), среднее динамическое артериальное давление, общее периферическое сосудистое сопротивление (ОПСС), сердечный индекс (СИ), коэффициент эффективности кровообращения (КЭК), индексы Кердо и Робинсона.

Полученные данные подвергали статистической обработке [9] с помощью программы Statistika Analystsoft [10]. Для выполнения статистических сравнений были выбраны: t-критерии Стьюдента для связанных и несвязанных выборок в

случаях, когда ряды данных соответствовали нормальному статистическому распределению (принимая во внимание отсутствие различий в дисперсиях по критерию Левена), критерий Вилкоксона и Манна-Уитни (в случаях невыполнения условий применения критериев Стьюдента). Критическим уровнем статистической значимости стандартно для медико-биологических исследований полагали  $p < 0,05$ , а значения в пределах  $0,1 < p \leq 0,05$  принимали во внимание как тенденцию к статистически значимым различиям или сдвигам в значении признака.

Компонентный состав ЭМ определяли методом газовой хромато-масс-спектрометрии с использованием аппаратно-программного комплекса на базе хроматографа «Хроматэк-Кристалл 5000.2», оснащённого масс-спектрометрическим детектором. Основные компоненты (доля более 1 %) использованного в исследованиях эфирного масла котовника кошачьего (*Nepeta cataria* L.):  $\beta$ -непеталяктона – 37,09 %, цитронеллола – 18,83 %,  $\alpha$ -непеталяктона – 11,22 %, гераниола – 7,90 %,  $\beta$ -кариофиллена – 6,65 %, гераниала – 4,03 %, непетовой кислоты – 2,79 %, цис-оцимена – 1,97 %,  $\beta$ -пинена – 1,29 %, цитронеллала – 1,03 %, ментола – 1,04 %.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исходные значения всех изученных показателей в каждой из возрастных групп и между ними в опыте и в контроле не имели достоверных различий (табл. 1–3).

Но уже на психорелаксацию (контроль) молодые и пожилые испытуемые реагировали по-разному. У пожилых испытуемых сеансы психорелаксации обеих длительностей не сопровождались достоверным изменением АДС, тогда как у молодых эти сеансы вызывали небольшое, но достоверное уменьшение АДС (табл. 1).

Сеансы аромаспсихорелаксации с ЭМ котовника кошачьего обеих длительностей (опыт) у пожилых испытуемых также не сопровождались достоверным изменением АДС. У молодых испытуемых эти сеансы вызывали, как и в контроле, небольшое (в той же мере, что и в контроле), но достоверное уменьшение АДС (табл. 1).

АДД у пожилых испытуемых не изменялось ни в контроле (психорелаксация), ни в опыте (аромаспсихорелаксация) при обеих длительностях сеансов. У молодых испытуемых 20-минутная психорелаксация (контроль) вызывала достоверное снижение АДД. При аромаспсихорелаксации (опыт) АДД снижалось при обеих длительностях сеансов, при 10-минутной аромаспсихорелаксации конечное значение АДД в опыте достоверно ниже, чем в контрольной группе (табл. 1).

ПАД у пожилых испытуемых не изменялось в контроле (психорелаксация) при обеих длительностях сеансов, а в опыте (аромаспсихорелаксация) достоверно увеличилась после 20-минутного сеанса. У молодых испытуемых в контроле (психорелаксация) ПАД не претерпело достоверных изменений, но в опыте (аромаспсихорелаксация) достоверно уменьшилось при обеих длительностях сеансов, причем после 20-минутного сеанса ПАД в опыте на уровне тенденции ниже, чем в контроле (табл. 1).

Таблица 1

Влияние релаксации с ЭМ котовника кошачьего на артериальное давление у людей молодого и пожилого возраста с артериальным давлением на уровне оптимума по JNC-6

Показатель	Время возд., мин.	Группа	n	Исходно	После	P до/после	Po/к после
Молодые							
АДС, мм рт.ст.	10	контроль	27	108,67±1,72	104,41±2,16	<0,02	>0,1
		опыт	29	115,24±3,18	103,59±1,81	<0,0002	
	20	контроль	27	111,85±2,11	106,56±1,46	<0,003	>0,1
		опыт	26	113,88±2,90	104,00±2,56	<0,0002	
АДД, мм рт.ст.	10	контроль	27	72,48±1,40	71,26±1,59	>0,1	<0,05
		опыт	29	73,69±1,33	67,38±1,32	<0,0001	
	20	контроль	27	74,52±1,34	68,52±1,61	<0,00001	>0,1
		опыт	26	72,23±2,13	67,77±1,27	<0,00001	
ПАД, мм рт.ст.	10	контроль	27	36,19±1,15	33,15±1,54	>0,1	>0,1
		опыт	29	38,55±2,12	33,60±1,19	<0,05	
	20	контроль	27	37,33±2,00	38,04±1,63	>0,1	<0,1
		опыт	26	38,65±1,63	33,62±1,97	<0,01	
Пожилые							
АДС, мм рт.ст.	10	контроль	12	110,46±2,07	112,46±2,84	>0,1	>0,1
		опыт	17	111,58±0,90	111,27±1,78	>0,1	
	20	контроль	20	110,40±1,43	112,05±2,44	>0,1	>0,1
		опыт	46	110,24±0,86	113,54±2,00	>0,1	
АДД, мм рт.ст.	10	контроль	12	73,31±1,39	72,46±1,78	>0,1	>0,1
		опыт	17	72,82±1,24	71,12±1,41	>0,1	
	20	контроль	20	72,10±1,86	71,25±2,07	>0,1	>0,1
		опыт	46	71,48±0,85	70,54±1,15	>0,1	
ПАД, мм рт.ст.	10	контроль	12	37,15±1,83	40,00±2,39	>0,1	>0,1
		опыт	17	38,76±1,31	40,15±1,31	>0,1	
	20	контроль	20	38,30±1,63	40,80±1,77	>0,1	>0,1
		опыт	46	38,76±0,91	43,00±1,87	<0,004	

Примечание: P до/после – достоверность различий данных до и после воздействия, P о/к после – достоверность различий данных контрольной и опытной групп после воздействий, АДС – систолическое артериальное давление, АДД – диастолическое артериальное давление, ПАД – пульсовое артериальное давление.

Исходные значения частоты сердечных сокращений (ЧСС) в каждой возрастной группе в контроле и в опыте не имели достоверных различий, но различия между возрастными группами существенны: у молодых испытуемых ЧСС значительно выше, чем у пожилых (табл. 2). Сеансы психорелаксации (контроль)

обеих длительностей у пожилых испытуемых не привели к достоверному изменению ЧСС, а у молодых сопровождалась небольшим, но достоверным снижением ЧСС. 10-минутная аромасихорелаксация (опыт) ни у пожилых, ни у молодых не привела к достоверному изменению ЧСС, а 20-минутная – в обеих возрастных группах сопровождалась достоверным уменьшением ЧСС (табл. 2).

Исходные значения ударного объема сердца (УОС) в каждой возрастной группе в контроле и в опыте не имели достоверных различий, но различия между возрастными группами существенны: у молодых испытуемых УОС значительно больше, чем у пожилых (таблица 2). После сеансов психорелаксации (контроль) обеих длительностей УОС у пожилых испытуемых не изменился, у молодых – незначительно, но достоверно возрос после 20-минутной психорелаксации. Аромасихорелаксация (опыт) не привела к достоверным изменениям УОС у молодых, но сопровождалась достоверным увеличением УОС у пожилых после 20-минутного аромасеанса (табл. 2).

Таблица 2

**Влияние релаксации с ЭМ котовника кошачьего на параметры кровообращения у людей молодого и пожилого возраста с артериальным давлением на уровне оптимума по JNC-6**

Показатель	Время возд., мин.	Группа	n	Исходно	После	P до/после	P о/к после
Молодые							
ЧСС, уд/мин	10	контроль	27	89,19±2,57	84,81±1,96	<0,01	>0,1
		опыт	29	90,72±2,93	86,21±2,52	>0,1	
	20	контроль	27	86,89±86,89	84,22±2,42	<0,06	>0,1
		опыт	26	90,04±2,76	80,96±2,19	<0,0002	
УОС, мл	10	контроль	27	67,75±1,06	66,96±1,28	>0,1	<0,05
		опыт	29	69,77±1,02	70,88±1,01	>0,1	
	20	контроль	27	67,23±1,48	71,18±1,62	<0,03	>0,1
		опыт	26	70,75±1,52	70,72±1,26	>0,1	
МОК, мл/мин	10	контроль	27	6020,29±171,63	5669,56±160,62	<0,009	<0,05
		опыт	29	6334,06±239,21	6080,58±162,38	>0,1	
	20	контроль	27	5803,04±174,47	5951,73±169,71	>0,1	>0,1
		опыт	26	6344,28±215,78	5710,73±169,95	<0,003	
ОПСС, дин.с.см <sup>-5</sup>	10	контроль	27	1187,97±39,02	1224,03±41,51	>0,1	>0,1
		опыт	29	1177,21±32,40	1105,18±33,09	<0,03	
	20	контроль	27	1263,79±33,05	1159,17±37,48	>0,1	<0,05
		опыт	26	1160,01±44,50	1181,76±35,82	>0,1	

Пожилые							
ЧСС, уд/мин	10	контроль	12	70,62±1,53	67,08±2,30	>0,1	>0,1
		опыт	17	71,73±1,47	69,58±1,63	>0,1	
	20	контроль	20	73,05±1,76	74,95±2,36	>0,1	>0,1
		опыт	46	73,85±1,28	71,67±1,56	<0,005	
УОС, мл	10	контроль	12	38,62±2,36	40,55±2,48	>0,1	>0,1
		опыт	17	38,74±1,47	40,45±1,26	>0,1	
	20	контроль	20	35,40±1,53	37,16±1,59	>0,1	>0,1
		опыт	46	37,43±1,21	40,11±1,38	<0,01	
МОК, мл/мин	10	контроль	12	2734,46±188,75	2732,47±191,76	>0,1	>0,1
		опыт	17	2777,28±120,77	2803,00±104,35	>0,1	
	20	контроль	20	2568,46±105,22	2759,76±117,32	>0,1	>0,1
		опыт	46	2739,81±85,99	2825,67±88,07	>0,1	
ОПСС, дин.с.см <sup>-5</sup>	10	контроль	12	2777,60±227,49	2814,79±261,12	>0,1	>0,1
		опыт	17	2781,40±176,98	2637,32±119,08	>0,1	
	20	контроль	20	2881,59±183,33	2670,45±152,66	>0,1	>0,1
		опыт	46	2700,75±108,11	2624,52±98,13	>0,1	

Примечание: Р до/после – достоверность различий данных до и после воздействия, Р о/к после – достоверность различий данных контрольной и опытной групп после воздействий, ЧСС – частота сердечных сокращений, УОС – ударный объем сердца, МОК – минутный объем крови, ОПСС – общее периферическое сопротивление сосудов.

Исходные значения минутного объема кровотока (МОК) в каждой возрастной группе в контроле и в опыте не имели достоверных различий, но различия между возрастными группами существенны: у молодых испытуемых МОК значительно выше, чем у пожилых (табл. 2). МОК у пожилых людей не изменялся ни после психорелаксации, ни после аромапсихорелаксации, у молодых снижался после 10-минутного сеанса психорелаксации и после 20-минутной аромапсихорелаксации (табл. 2).

Исходные значения общего периферического сосудистого сопротивления (ОПСС) в каждой возрастной группе в контроле и в опыте не имели достоверных различий, но различия между возрастными группами существенны: у молодых испытуемых ОПСС значительно ниже, чем у пожилых (табл. 2). Значение ОПСС у пожилых людей не изменялось ни после психорелаксации, ни после аромапсихорелаксации, у молодых незначительно снижалось после 10-минутной аромапсихорелаксации (табл. 2).

Исходные значения коэффициента эффективности кровообращения (КЭК) в каждой возрастной группе в контроле и в опыте не имели достоверных различий, но различия между возрастными группами существенны: у молодых испытуемых значение КЭК существенно больше, чем у пожилых (табл. 3). У пожилых испытуемых значение КЭК не изменяется ни после психорелаксации (контроль), ни после аромапсихорелаксации с ЭМ котовника кошачьего (опыт) обеих изученных длительностей (табл. 3). У молодых в контроле значение КЭК достоверно снижается

после 10-минутного сеанса психорелаксации, в опыте – после сеансов аромаспсихорелаксации обеих длительностей, причем после 20-минутного сеанса конечное значение КЭК в опыте достоверно ниже, чем в контроле (табл. 3).

Исходные значения индекса Кердо в каждой возрастной группе в контроле и в опыте не имели достоверных различий, но различия между возрастными группами существенны: для пожилых характерно вегетативное равновесие или небольшая ваготония, у молодых испытуемых наблюдается выраженная симпатикотония (табл. 3). Сеансы психорелаксации (контроль) и аромаспсихорелаксации (опыт) у пожилых испытуемых не привели к достоверным сдвигам индекса Кердо относительно исходных значений. У молодых испытуемых также нет достоверных сдвигов индекса Кердо относительно исходных значений, но небольшие сдвиги при 10-минутной экспозиции в сторону ваготонии в контроле и симпатикотонии в опыте приводят к появлению достоверной разницы между конечными значениями индекса Кердо в контроле и в опыте (табл. 3).

Таблица 3

**Влияние релаксации с ЭМ котовника кошачьего на параметры энергопотенциала и вегетативного равновесия у людей молодого и пожилого возраста с артериальным давлением на уровне оптимума по JNC-6**

Показатель	Возд., мин.	Группа	n	Исходно	После	P до/после	P о/к после
Молодые							
КЭК, усл.ед.	10	контроль	27	3232,15±143,49	2834,63±165,60	<0,01	>0,1
		опыт	29	3355,97±273,40	2704,72±113,03	<0,03	
	20	контроль	27	3236,26±198,29	3173,67±141,48	>0,1	<0,02
		опыт	26	3170,08±182,12	2469,90±166,27	<0,0009	
Индекс Кердо, усл.ед.	10	контроль	27	17,45±2,22	15,34±1,95	>0,1	<0,05
		опыт	29	17,10±2,19	20,55±2,08	>0,1	
	20	контроль	27	12,99±2,03	17,55±17,55	>0,1	>0,1
		опыт	26	18,49±2,75	15,06±2,34	>0,1	
Пожилые							
КЭК, усл.ед.	10	контроль	12	2612,08±121,41	2686,46±179,34	>0,1	>0,1
		опыт	17	2782,94±113,37	2786,94±105,38	>0,1	
	20	контроль	20	2781,30±118,50	3037,30±151,66	>0,1	>0,1
		опыт	46	2854,78±77,14	3059,20±138,71	>0,1	
Индекс Кердо, усл.ед.	10	контроль	12	-4,39±2,89	-9,66±4,78	>0,1	>0,1
		опыт	17	-2,85±2,65	-3,80±2,93	>0,1	
	20	контроль	20	0,42±3,22	3,30±4,09	>0,1	>0,1
		опыт	46	2,08±1,85	0,06±2,29	>0,1	

Примечание: P до/после – достоверность различий данных до и после воздействия, P о/к после – достоверность различий данных контрольной и опытной групп после воздействий, КЭК – коэффициент эффективности кровообращения.

Суммируя изложенное, следует отметить, что, несмотря на оптимальное значение артериального давления у молодых и пожилых испытуемых, параметры кровообращения у них заметно различаются. У молодых существенно выше частота сердечных сокращений, ударный объем сердца, минутный объем кровотока, ниже общее периферическое сосудистое сопротивление. В то же время, в отличие от пожилых испытуемых, у которых наблюдается вегетативное равновесие, для молодых характерна выраженная симпатикотония. В целом же у молодых испытуемых кровообращение менее экономично, чем у пожилых.

У пожилых испытуемых с оптимальным артериальным давлением показатели функции сердечно-сосудистой системы весьма толерантны к использованным воздействиям – как психорелаксации, так и аромапсихорелаксации. Из достоверных изменений можно отметить увеличение ПАД и УОС и уменьшение ЧСС после 20-минутной аромапсихорелаксации.

У молодых испытуемых показатели кровообращения более лабильны и реагируют как на психорелаксацию, так и на аромапсихорелаксацию. АДС достоверно снижается и в опыте, и в контроле при обеих длительностях воздействия, АДД – при обеих длительностях воздействия в опыте и при 20-минутном воздействии в контроле, КЭК – при обеих длительностях воздействия в опыте и при 10-минутной – в контроле, ЧСС – при обеих длительностях в контроле и при 20-минутной в опыте, МОК – при 10-минутном воздействии в контроле и 20-минутном в опыте, УОС возрастает после 20-минутной психорелаксации. По двум показателям достоверные изменения отмечены только в опыте: уменьшение ПАД при обеих длительностях воздействия и ОПСС – только при 10-минутном воздействии.

Такой характер изменений свидетельствует о том, что при оптимальном уровне артериального давления аромавоздействие не является определяющим в изменениях показателей гемодинамики и у молодых, и у пожилых. При этом наблюдаемые изменения не носят патологического характера и не могут быть препятствием для проведения аромапроцедур с ЭМ котовника кошачьего не с целью влияния на гемодинамику.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При оптимальном артериальном давлении у молодых испытуемых в сравнении с пожилыми больше частота сердечных сокращений, ударный объем сердца, минутный объем кровотока, меньше общее периферическое сосудистое сопротивление, выраженная симпатикотония (у пожилых – вегетативное равновесие).
2. У пожилых испытуемых показатели функции сердечно-сосудистой системы толерантны как к психорелаксации, так и к аромапсихорелаксации. Достоверны только увеличение ПАД и УОС и уменьшение ЧСС после 20-минутной аромапсихорелаксации.
3. У молодых испытуемых показатели кровообращения более лабильны и реагируют как на психорелаксацию, так и на аромапсихорелаксацию, но все изменения в пределах оптимальных значений параметров кровообращения.

4. При исходно оптимальном уровне артериального давления аромапроцедуры с ЭМ котовника кошачьего могут проводиться как молодым, так и пожилым.

#### Список литературы

1. Manju M. A review on pharmacological activities of essential oil in *Nepeta cataria* / M. Manju, S. Satish, A. R. Shabaraya // International Journal of Pharma and Chemical Research. – 2019. – Vol. 5(2). – P. 1–17.
2. Sharma A. Pharmacology and toxicology of *Nepeta cataria* (catmint) species of genus *Nepeta*: a review / A. Sharma, G. A. Nayik, D. S. Cannoo // Plant and Human Health. – 2019. – Vol. 3. – P. 285–299.
3. Тонковцева В. В. Влияние на функциональное состояние людей пожилого возраста эфирного масла котовника кошачьего / В. В. Тонковцева, А. М. Ярош, И. А. Батура [и др.] // Вестник психофизиологии. – 2019. – Т. 1. – С. 54–62.
4. Ярош А. М. Влияние эфирного масла котовника кошачьего на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы пожилых людей / А. М. Ярош, И. А. Батура, В. В. Тонковцева // Вестник физиотерапии и курортологии. – 2018. – Т. 24 (4). – С. 50–55.
5. Gilani A. H. Chemical composition and mechanisms underlying the spasmolytic and bronchodilatory properties of the essential oil of *Nepeta cataria* L. / A. H. Gilani, A. J. Shah, A. Zubair [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2009. – Vol. 121. – P. 405–411.
6. The Sixth Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute, National High Blood Pressure Education Program, NIH Publication No. 98-4080 November 1997, 18 p.
7. Тихомиров А. А. Эфирные масла как ионизаторы воздуха помещений / А. А. Тихомиров, А. М. Ярош, А. Е. Еременко, М. И. Говорун // Вестник морского врача. – 2014. – № 13. – С. 148–153.
8. Ошевский Л. В. Изучение состояния здоровья человека по функциональным показателям организма / Л. В. Ошевский, Е. В. Крылова, Е. А. Уланова. – Нижний Новгород, 2007. – 67 с.
9. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М.: Изд-во «Высшая школа», 1989. – 291 с.
10. Statistika Analystsoft [Statistika Analystsoft. AnalystSoft Inc. United States, Chicago; 2017. Доступно по: [www.analystsoft.com/ru](http://www.analystsoft.com/ru). Ссылка активна на 30.01.2020

### IMPACT OF ESSENTIAL OIL OF NEPETA CATARIA ON THE FUNCTIONAL STATE OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM OF THE ELDERLY WITH OPTIMAL BLOOD PRESSURE

Yarosh A. M., Batura I. A., Tonkovtseva V. V., Nagovskaya V. V. V.

Federal State Funded Institution of Science “The Labor Red Banner Order Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS”, Yalta, Nikita, Republic of the Crimea, Russian Federation  
E-mail: [speker@mail.ru](mailto:speker@mail.ru)

**Objective.** To study the effect of the essential oil of *Nepeta cataria* on the functional state of the cardiovascular system of young and elderly people with an optimal level of blood pressure. **Materials and methods.** The study included 95 women aged 60 to 85 years and 109 students aged 18 to 22 years with an optimal level of blood pressure, divided into control (psychorelaxation sessions) and experimental (psychorelaxation sessions were combined with inhalation of *Nepeta cataria* essential oil vapors) groups, each of which is divided into two subgroups by exposure time (10 and 20 minutes). Before and after the sessions, the subjects were measured systolic and diastolic blood

pressure, heart rate, and the following indices were determined: pulse blood pressure, heart stroke output, minute cardiac output, average dynamic arterial pressure, total peripheral vascular resistance, heart index, Robinson index, Kerdo index, coefficient of efficiency of blood circulation. Statistical data processing was carried out using Statistica Analystsoft program. The component composition of essential oil was determined by gas chromatography-mass spectrometry using a hardware and software complex based on a chromatograph "Chromatek-Crystal 5000.2" equipped with a mass spectrometric detector.

**Results.** It is shown that the effect of *Nepeta cataria* essential oil leads to changes in some indicators of hemodynamics in both young and elderly people with blood pressure at the optimum level. Thus, in the elderly, no statistically significant changes in the parameters of the cardiovascular system were detected after psychorelaxation, but there was a statistically significant increase in pulse pressure and stroke output of the heart and a decrease in heart rate after 20-minute aromarelaxation. In young subjects, blood circulation indicators are more labile and reacted to both psychorelaxation and aromapsychorelaxation procedures in the form of a decrease in systolic and diastolic blood pressure, the coefficient of efficiency of blood circulation and heart rate. A statistically significant decrease in pulse blood pressure and total peripheral vascular resistance in young subjects was noted only when exposed to *Nepeta cataria* essential oil. At the same time, all changes are noted within the optimal values of the blood circulation parameters. Thus, it is possible to carry out aroma procedures with *Nepeta cataria* essential oil both for young and elderly people with an optimal level of blood pressure.

**Keywords:** the elderly, young age, aroma psychorelaxation, essential oil, *Nepeta cataria*, cardiovascular system.

#### References

1. Manju M., Satish S., Shabaraya A. R. A review on pharmacological activities of essential oil in *Nepeta cataria*, *International Journal of Pharma and Chemical Research*, **5** (2), 1 (2019).
2. Sharma A., Nayik G. A., Cannoo D. S. Pharmacology and toxicology of *Nepeta cataria* (catmint) species of genus *Nepeta*: a review, *Plant and Human Health*, **3**, 285 (2019).
3. Tonkovtseva V. V., Yarosh A. M., Batura I. A., Melikov F. M., Bekmambetov T. R., Koval E. S. et al. Influence of *Nepeta cataria* essential oil on the functional state of the elderly, *Bulletin of Psychophysiology*, **1**, 54 (2019).
4. Yarosh A. M., Batura I. A., Tonkovtseva V. V. Influence of *Nepeta cataria* essential oil on the functional state of the cardiovascular system of the elderly, *Bulletin of Physiotherapy and Balneology*, **24** (4), 50 (2018).
5. Gilani A. H., Shah A. J., Zubair A., Khalid S., Kiani J., Rasheed M. and Ahmad V. U. Chemical composition and mechanisms underlying the spasmolytic and bronchodilatory properties of the essential oil of *Nepeta cataria* L., *Journal of Ethnopharmacology*, **121**, 405 (2009).
6. The Sixth Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute, National High Blood Pressure Education Program, NIH Publication No. 98-4080 November 1997, 18 p.
7. Tikhomirov A. A., Yarosh A. M., Eremenko A. E., Govorun M. I. Essential oils as ionizers of indoor air, *Bulletin of the marine doctor*, **13**, 148 (2014).
8. Oshevsky L. V., Krylova E. V., Ulanova E. A. *Study of the state of human health by functional indicators of the body*, 67 p. (Nizhny Novgorod, 2007).
9. Lakin G. F., *Biometrija*, 291 p. (Moscow: Vysshaya shkola; 1989).
10. Programma statisticheskogo analiza: (s izm. i dop.) AnalystSoft Inc.: [sajt inform.-pravovoj kompanii]. Access mode: [www.analystsoft.com.ru](http://www.analystsoft.com.ru) (in Russ.).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского  
Биология. Химия. Том 7 (73). 2021. № 4. С. 234–241.

УДК 544.478-03

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРИРОДНЫХ МЕТАЛЛОПОРФИРИНОВ В ФОТОКАТАЛИЗЕ

*Вяткина О. В., Кандагура Е. А., Изнаунова М. Д.*

*Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение)  
федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего  
образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Симферополь,  
Россия  
E-mail: oksana\_vyatkina@list.ru*

В статье представлены результаты изучения каталитической активности веществ, имеющих в своём составе структуру порфирина, а именно: хорофиллсодержащих препаратов, выделенных из шпината, туи и зеленого чая;  $\text{Cu}^{2+}$ -замещенного хлорофилла шпината; препарата пероксидазы, выделенной из корнеплодов редьки черной, в водных растворах пероксида водорода под действием излучения видимой и ультрафиолетовой областей. Наличие порфириноподобных структур в препаратах, выделенных из растительного сырья было подтверждено методом ИК-спектроскопии и спектрофотометрии в УФ и видимой областях. Проведено сравнение каталитических свойств порфириносодержащих жидких спиртовых экстрактов и препаратов, выделенных из них в твердой форме методом вакуумной перегонки. В ходе исследований установлено, что замещение  $\text{Mg}^{2+}$  на  $\text{Cu}^{2+}$  в молекулах хлорофилла приводит к увеличению оксидоредуктазной активности как при воздействии видимого света, так и при воздействии УФ-излучения. Удельная активность медного комплекса хлорофилла, выделенного в твердом виде, больше удельной активности пероксидазы в 1,5 раза на видимом свете. Экспериментально подтверждена активация пероксидазы редьки черной УФ- излучением в исследуемых системах.

**Ключевые слова:** фотокатализ, металлопорфирины, хлорофилл, пероксидаза, оксидоредуктазная активность.

### ВВЕДЕНИЕ

Порфирины и металлопорфирины, широко распространены в природе и имеют большое биологическое значение. Молекулярные комплексы, содержащие порфириновую группировку, служат активными центрами белковых макромолекул – ферментов и переносчиков электронов в дыхательных цепях живых организмов и играют определяющую роль в фотосинтезе. Выполнение этими соединениями важнейших биохимических, ферментативных и фотохимических функций основано на особых свойствах тетрапиррольного макроцикла и его взаимодействии с другими функциональными элементами. Однако синтез порфиринов из-за своей сложности и многостадийности, до сих пор не поставлен на промышленный поток, поэтому

изучение особых свойств природных порфиринов служит основой не только для решения значимых проблем, но и многих практически важных вопросов, например создание сенсорных и каталитически активных материалов нового поколения. Поэтому нашей целью было изучение оптических и фотокаталитических свойств порфириноподобных структур, выделенных из природного сырья в нативном виде.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения фотолюминесцентных и каталитических свойств из природного сырья выделяли препараты, содержащие хлорофилл и пероксидазу по методикам указанным в [1–3]. В качестве экстрагентов хлорофилла использовали этиловый и изопропиловый спирты. Пероксидазу (PR) из корнеплода черной редьки экстрагировали в фосфатный буфер с рН=7. Концентрации веществ в экстрактах определяли методом прямой фотоколориметрии на приборе ЭКСПЕРТ-003, принимая, что для хлорофилла  $\varepsilon_{655}=1 \cdot 10^4$  л/(моль см),  $\varepsilon_{400}=2 \cdot 10^5$  л/(моль см); для пероксидазы  $\varepsilon_{400}=9,6 \cdot 10^4$  л/(моль см).

Полученные образцы исследовали методом ИК-спектроскопии (ИК-спектрометр Perkin Elmer Spectrum Two, снабженный призмой НПВО (нарушенного полного внутреннего отражения). Запись спектров осуществляли в диапазоне 4000–400 см<sup>-1</sup>) и спектрофотометрии в УФ и видимой областях электромагнитного излучения. Использовались приборы (Спектрофотометр cintra 4040: спектральный диапазон (190–900 нм), Точность установки длины волны, нм (шаг 0,1 нм), ширина щели в диапазоне (0,1–2,0 нм)).

В молекулах хлорофилла, выделенного из шпината по методике [4] произвели замещение иона Mg<sup>2+</sup> на ион Cu<sup>2+</sup> (Chl(Mg<sup>2+</sup>) → Chl(Cu<sup>2+</sup>)), которое подтвердили методами спектроскопии в УФ и видимой области спектра. Из спиртовых экстрактов в образцах, полученных из листьев шпината, выделяли препарат в твердой форме методом вакуумной перегонки (Chl(Mg<sup>2+</sup>)(s), Chl(Cu<sup>2+</sup>)(s)).

Осаждение фермента из фосфатного буфера проводили в ацетоне, при температуре 4 °С в течении 24 часов. Состав осадителя: (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO–(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; где концентрация сульфата аммония C((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) = 0,2 моль/л. Соотношение объемов экстракта пероксидазы, раствора сульфата аммония и ацетона составляло Vп:Vс:Vo = 1:1:1 (100 мл). Полученные осадки отделяли с помощью центрифуги на 7000 об в течении 15 мин. Затем, максимально удалив жидкость фермент высушивали в течение 12 часов при комнатной температуре, получая (PR)(s) [5].

У полученных препаратов изучали каталитическую и фотоактивность в водных растворах пероксида водорода методом волюмометрии. Состав каталитических систем указан в табл. 1.

Относительную активность катализаторов в исследуемых процессах в гомогенных системах рассчитывали по формуле:

$$A(\Gamma) = w/v, \text{ мл}/(\text{моль} \cdot \text{мин.}) \quad (1)$$

Где: w, (мл/мин) – скорость выделения кислорода  
v, (моль) – количество активных центров катализатора.

Относительную активность катализаторов в гетерогенных системах рассчитывали по формуле:

$$A(s) = w/v_s, \text{ мл}/(\text{моль}(s) \cdot \text{мин}) \quad (2)$$

Где:  $w$ , мл/мин – скорость выделения кислорода  
 $v_s$ , (моль) – количество активных центров в твердом катализаторе массой  $m$ .

**Таблица 1**  
**Состав систем, используемых для определения каталитической активности препаратов**

Системы	Состав	V(H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) (мл)	C(H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) (моль/л)	катализатор
A1	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Chl(Cu <sup>2+</sup> )	10	0,98±2·10 <sup>-4</sup>	1 мл Chl(Cu <sup>2+</sup> )
A2	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Chl(Mg <sup>2+</sup> )			0,7 мл Chl(Mg <sup>2+</sup> )
A3	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Chl(Cu <sup>2+</sup> )(s)			0,005 г Chl(Cu <sup>2+</sup> )(s)
A4	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , (PR)(s)			0,005 г пероксидаза

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе эксперимента были получены спиртовые растворы хлорофилла из чая, туи и шпината. Для последнего был снят спектр поглощения в диапазоне от 300 нм до видимой области (рис. 1), в котором наблюдается часть широкой полосы поглощения на границе УФ и видимой областей ( $\lambda=370-420$  нм) – полоса Core ( $\epsilon_{400}=2 \cdot 10^5$ ). Вторая характеристическая полоса (точка А) соответствует максимуму поглощения порфирина при длине волны 660 нм – Q-полоса (I). Обе полосы обусловлены электронным  $\pi-\pi^*$  переходом [6].

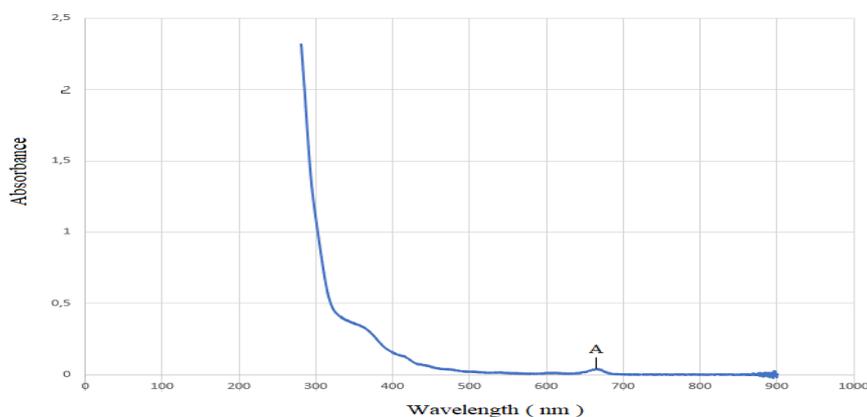


Рис. 1. Спектр поглощения Chl(Mg<sup>2+</sup>).

Также в соответствии с методикой описанной в [4] был получен хлорофилл, с замещением Mg<sup>2+</sup> на Cu<sup>2+</sup>. Спектр этого образца изображен на рис. 2. Точка А1- максимум поглощения при длине волны 645 нм. Спиртовой раствор Chl(Mg<sup>2+</sup>), должен иметь максимум поглощения при длине волны 662–652 нм, смещение

максимума поглощения в область 648–652 нм подтверждает замещение ( $\text{Chl}(\text{Mg}^{2+}) \rightarrow \text{Chl}(\text{Cu}^{2+})$ ).

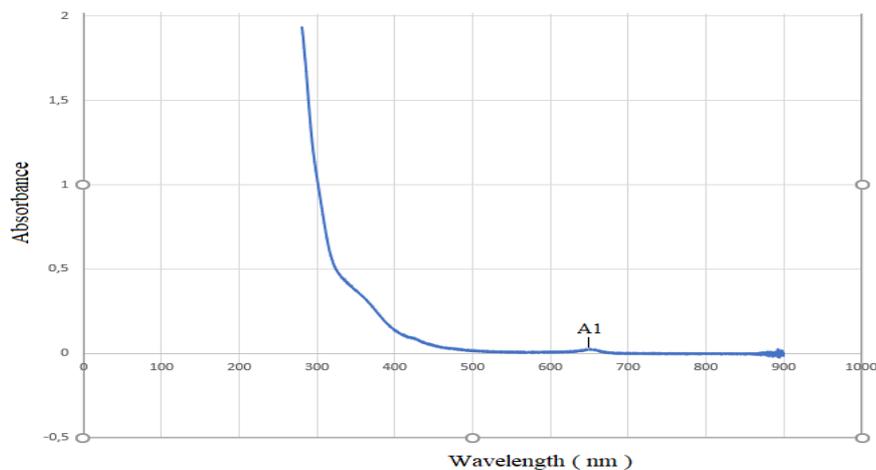


Рис. 2. Спектр поглощения  $\text{Chl}(\text{Cu}^{2+})$ .

Для образцов  $\text{Chl}(\text{Mg}^{2+})$ ,  $\text{Chl}(\text{Cu}^{2+})$ ,  $\text{Chl}(\text{Cu}^{2+})(\text{s})$ ,  $(\text{PR})(\text{s})$  были сняты ИК-спектры.

На спектре  $\text{Chl}(\text{Mg}^{2+})$  (рис.3) идентифицируется ряд полос поглощения. Полоса в области  $3350 \text{ см}^{-1}$ , соответствует колебаниям N–H группы,  $2950 \text{ см}^{-1}$  интерпретируется, как асимметрические колебания C–H связей порфирина. Группа  $\text{C}=\text{O}$  характеризуется полосой поглощения в области  $1750 \text{ см}^{-1}$ ,  $1400 \text{ см}^{-1}$  свойствен группе  $\text{C}=\text{N}$  [6]. В ИК-спектрах поглощения  $\text{Chl}(\text{Cu}^{2+})$ ,  $\text{Chl}(\text{Cu}^{2+})(\text{s})$ ,  $(\text{PR})(\text{s})$  в жидком и твердом виде других значимых полос не наблюдается, что подтверждает наличие порфиринового кольца во всех исследуемых препаратах, однако отмечено незначительное смещение исходных, которое вероятно связано с сменой центрального атома в активном центре молекулы.

Параллельно проводились количественные фотоколориметрические исследования спиртовых экстрактов содержащих порфирин, которые показали, что максимумы светопоглощения наблюдаются при длинах волн  $\lambda=400 \text{ нм}$  и  $\lambda=655 \text{ нм}$ . Используя характерные для этих длин волн молярные коэффициенты светопоглощения хлорофиллов рассчитали их эффективные концентрации, которые приведены в табл. 2.

Максимальное светопоглощение экстрактов, а следовательно и содержание экстрагированных веществ наблюдается при  $\lambda=655 \text{ нм}$ . Однако, учитывая, что именно при  $\lambda=400 \text{ нм}$  поглощают порфириноподобные активные центры исследуемых биомолекул в качестве критерия степени чистоты экстрактов использовали отношение  $C_2/C_1$  (табл. 1). Эксперимент показал, что меньше посторонних светопоглощающих примесей экстрагируется вместе с хлорофиллом из растительного сырья при использовании этилового спирта. Поэтому именно такие экстракты использовали для исследования оксидоредуктазной активности в

водных растворах пероксида водорода волнометрическим методом. Состав каталитических систем показан в (табл. 1). Использовали объемы жидких экстрактов, изоляционные по каталитическим центрам. Среднее количество активных центров в твердых образцах рассчитывали делением их массы на средние молекулярные массы хлорофилла и пероксидазы ( $M(PR)=40000$ ,  $M(Chl)=894$ ). Результаты представлены в табл. 3–4.



Рис. 3. ИК-спектр поглощения Chl( $Mg^{2+}$ ).

Таблица 2

**Концентрации порфиринов содержащих веществ в спиртовых экстрактах**

Сырьё	Растворитель	$C_1 \cdot 10^{-4}$ , моль/л При $\lambda=655$ нм	$C_2 \cdot 10^{-4}$ , моль/л При $\lambda=400$ нм	$C_2/C_1$
Шпинат	Изопропиловый спирт	1,90	0,120	0,06
	Этиловый спирт	Chl( $Cu^{2+}$ )	0,64	0,072
Chl( $Mg^{2+}$ )		0,91	0,099	0,11
Чай	Изопропиловый спирт	1,70	0,120	0,07
Туя		0,85	0,099	0,12

В Chl( $Cu^{2+}$ ) (система A1) наблюдается активация катализатора на видимом свете, в отличие от Chl( $Mg^{2+}$ ) (система A2), поскольку медь является металлом переменной степени окисления и способна проявлять каталитическое действие в Red/Ox реакции разложения пероксида водорода [7]. Без доступа излучения видимой области (в темноте) ни одна из систем не является активной.

Активность Chl( $Cu^{2+}$ )(s) (A3), больше активности пероксидазы (PR)(s) в 1,5 раза на видимом свете. Данный факт логичен, так как благодаря особенностям

возбужденных состояний порфиринового фрагмента в хлорофилле, таких как энергетическая близость возбужденных состояний  $T1^*$  и  $S1^*$ , высокий квантовый выход интеркомбинационной конверсии  $S1^* \sim \rightarrow T1^*$  и длительное время жизни триплетного состояния  $T1^*$  ( $\tau = 0,01 - 0,1$  с), хлорофилл является одним из наиболее эффективных фотосенсибилизаторов, выполняя исключительную роль в процессе фотосинтеза [2, 8].

Таблица 3

Скорость разложения  $H_2O_2$  в гомогенных системах (A1, A2) в различных условиях

Система	Условия	w, (мл/мин)	A(г) ( $10^6$ ), мл/(моль·мин)
A1	видимый свет	0,13	25
	в темноте	–	–
	УФ	0,15	28
A2	видимый свет	–	–
	в темноте	–	–
	УФ	0,1	20

Таблица 4

Скорость разложения  $H_2O_2$  в системах A3 A4 с использованием препаратов, выделенных в твердом (s) виде, в различных условиях

Система	Условия	w, (мл/мин)	A(s), мл/(моль·мин)
A3	видимый свет	0,03	$186 \cdot 10^6$
	в темноте	–	–
	УФ	0,05	$19 \cdot 10^7$
A4	видимый свет	0,07	$112 \cdot 10^6$
	в темноте	–	–
	УФ	0,15	$2,4 \cdot 10^8$

При воздействии УФ излучения A(s) пероксидазы превышает активность  $Chl(Cu^{2+})(s)$  в 1,3 раза. Фотоактивность пероксидазы под действием УФ-излучения была доказана нами ранее [9]. В темноте обе системы не активны.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Замещение  $Mg^{2+}$  на  $Cu^{2+}$  в молекулах хлорофилла приводит к увеличению оксидоредуктазной активности катализатора под воздействием тзлучений видимого и УФ-диапазонов.
2. Медный комплекс хлорофилла в твердом состоянии более активный фотосенсибилизатор на видимом свете по сравнению с пероксидазой редьки черной, тогда как водействие УФ-излучения приводит к обратному эффекту.

### Список литературы

1. Аскарлов К. А. Способы выделения порфиринов из естественных источников и модификация с целью применения в медицине [Электронный ресурс] / К. А. Аскарлов – Респ. Узбекистан: 2019. – Режим доступа: <https://scientific-conference.com/images/PDF/2019/14/sposoby-vydeleniya.pdf>
2. Денисов Ю. А. Экстракция хлорофилла изопропанолом. Люминесценция экстракта хлорофилла в ультрафиолетовом свете [Электронный ресурс] / Ю. А. Денисов // Журнал Химиков-Энтузиастов. – 2017. – № 4. – Режим доступа: [http://chemistrychemists.com/N4\\_2017/ChemistryAndChem..](http://chemistrychemists.com/N4_2017/ChemistryAndChem..)
3. Селибер Г. Л. Большой практикум по микробиологии. / Селибер Г. Л. – М.: Мир, 1962. – 492 с.
4. Патент 2611409 Россия, МПК А61К36/00, А61К33/34. Способ получения медного комплекса хлорофилла / Л. И. Мухортова, Н. С. Никифорова, П. М. Лукин; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова. – № 2016109418; заявл. 03.15.2016; опубл. 02.21.2017, Бюл. № 6. – 3 с.
5. Вяткина О. В. Проблемы выделения и очистки растительных пероксидаз. / О. В. Вяткина // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. – 2012. – Т. 25 (64), №3. – С. 271–276.
6. Тарасевич Б. Н. ИК спектры основных классов органических соединений (Справочные материалы) / Б. Н. Тарасевич. – М.: МГУ им. М. В. Ломоносова, 2012. – 55 с.
7. Першина Е. Д. Сравнительный анализ распада пероксида водорода в присутствии ионов меди(II) и железа(III) / Е. Д. Першина, И. В. Алексахин, О. В. Вяткина // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения/ Труды Крымского государственного медицинского университета им С. И. Георгиевского. – 2003. – Т. 139.– С. 120–124.
8. Бабаян Н. С. Исследование *in vitro* зависимости структура/активность новых порфиринов как радиосенсибилизаторов / Н. С. Бабаян. // Ученые записки Ереванского государственного университета. – 2011. – 5 с.
9. Конарчук К. В. Влияние иммобилизации на фотоактивацию пероксидазы / К. В. Конарчук, С. Р. Измайлова, О. В. Вяткина // XXI Международная научно-практическая конференция «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 21–24 сентября 2020 г.): материалы конференции / Томск (Россия), 2020. – С. 262–263.

## USE OF NATURAL METALLOPORPHYRINS IN PHOTOCATALYSIS

*Vyatkina O. V., Kandagura E. A., Iznairova M. D.*

*Institute of Biochemical Technologies, Ecology and Pharmacy (structural subdivision) of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Vernadsky Crimean Federal University", Simferopol, Russia  
E-mail: oksana\_yatkina@list.ru*

The article presents the results of a study of the catalytic activity of substances which contain porphyrin structures, namely: chlorophyll-containing preparations isolated from spinach, thuja and green tea; Cu<sup>2+</sup>-substituted chlorophyll of green tea and spinach; peroxidase preparation isolated from black radish root crops in water solutions of hydrogen peroxide under the action of electromagnetic radiation of visible range and ultraviolet region. The presence of porphyrin-like structures in the preparations isolated from plant raw materials was confirmed by infrared spectroscopy and spectrophotometry in the UV and visible regions. It was found that chlorophyll extracted with ethyl alcohol

contains a smaller amount of impurities that do not contain a porphyrin center in comparison with extracts into isopropyl alcohol. The catalytic properties of porphyrin-containing liquid alcohol extracts and preparations isolated from them in solid form by vacuum distillation were compared. In the course of the studies it was found that the substitution of  $Mg^{2+}$  for  $Cu^{2+}$  in chlorophyll molecules leads to the increase in oxidoreductase activity both in visible light and when being exposed to UV radiation. The specific activity of Copper Chlorophyll complex isolated in solid form is 1.5 times higher than the specific activity of peroxidase in visible light. This fact is logical, since due to the peculiarities of the excited states of the porphyrin fragment, chlorophyll is one of the most effective photosensitizers. The activation of black radish peroxidase by UV radiation in all systems studied was experimentally confirmed.

**Keywords:** photocatalysis, metalloporphyrins, chlorophyll, peroxidase, enzymatic activity.

### References

1. Askarov K. A. *Methods of isolation of porphyrins from natural sources and modification with the purpose of application in medicine*, Available at: <https://scientific-conference.com/images/PDF/2019/14/sposoby-vydeleniya.pdf> (in Russ.)
2. Denisov Y. A. *Extraction of chlorophyll with isopropanol. Luminescence of chlorophyll extract in ultraviolet light*, Available at: [http://chemistrychemists.com/N4\\_2017/ChemistryAndChem](http://chemistrychemists.com/N4_2017/ChemistryAndChem).
3. Seliber G. L. *A large workshop on microbiology*, 492 (Mir, Moscow, 1962). (in Russ.)
4. Patent 2611409 Russia, IPC A61K36/00, A61K33/34. Method of obtaining chlorophyll copper complex / L. I. Mukhortova, N. S. Nikiforova, P. M. Lukin; *Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education Chuvash State University named after I. N. Ulyanov*. – No. 2016109418; application. 03.15.2016; publ. 02.21.2017 (in Russ.)
5. Vyatkina O. V. Problems of allocation and clearing plant peroxidase, *Scientific Notes of Taurida V. I. Vernadsky National University, Biology, Chemistry*, **67**(1), 271 (2012) (in Russ.)
6. Tarasevich B. N. *IR spectra of the main classes of organic compounds (Reference materials)*, 55 (Lomonosov State University, Moscow, 2012). (in Russ.)
7. Pershina E. D., Aleksashkin I. V., Vyatkina O. V. Comparative analysis of hydrogen peroxide decomposition in the presence of copper(II) and iron(III) ions. Problems, achievements and prospects of medical and biological sciences and practical healthcare, *Proceedings of the Crimean State Medical University named after S. I. Georgievsky*, **139**, 120 (2003). (in Russ.)
8. Babayan N. S. *In vitro study of structure/activity relationship of new porphyrins as radiosensitizers*, *Scientific Notes of Yerevan State University*, 5 (2011). (in Russ.)
9. Konarchuk K. V., Izmailova S. R., Vyatkina O. V., Effect of immobilization on photoactivation of peroxidase, *Proceedings of the XXI International Scientific and Practical Conference "Chemistry and Chemical Technology in the XXI Century"*, Tomsk, 262 (2020). (in Russ.)

**УДК 54.062**

## **ПРИМЕНЕНИЕ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ДЛЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА МОРСКИХ ЭКОСИСТЕМ**

*Забегаяев И. А.<sup>1</sup>, Шульгин В. Ф.<sup>2</sup>, Орехова Н. А.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*ФГБУН ФИЦ «Морской гидрофизический институт РАН», Севастополь, Россия*

<sup>2</sup>*Институт биохимических технологий, экологии и фармации  
ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», Симферополь, Россия  
E-mail: zabegaev84@gmail.com*

Проведена оценка методов анализа содержания карбонатного и органического углерода в донных отложениях Черного моря. Предложен оптимальный метод определения всех форм углерода из одного образца на экспресс-анализаторе на углерод АН-7529М. Представлены метрологические характеристики этого метода.

**Ключевые слова:** органический углерод, донные отложения, экспресс-анализатор АН-7529М.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Донные отложения являются пунктом депонирования мировых запасов углерода, поэтому изучению этой биогеохимической системе посвящено огромное количество работ [1–3]. Характер и состав донных осадков океана находятся в прямой зависимости от химического состава водной толщи. Связующим звеном между этими двумя блоками общей системы служат взвешенные вещества, обеспечивающие транспорт химических элементов на дно океана.

Весь комплекс осадочных элементов разделяют на две формы: взвешенную и условно-растворенную, включающую коллоидные частицы. Первая форма является материалом, из которого формируются донные осадки. Растворенные и коллоидные вещества участвуют в осадкообразовании лишь тогда, когда под воздействием ряда процессов они переходят во взвешенную форму [4].

Если карбонатный углерод (углерод, входящий в состав карбонатов и гидрокарбонатов металлов) имеет преимущественно терригенный характер, то органический углерод (углерод, входящий в состав различных органических соединений) может быть как продуктом протекания естественных биогеохимических процессов, так и антропогенного происхождения. Причем с каждым годом доля антропогенного органического углерода постоянно увеличивается.

Основой для изучения различных форм углерода (карбонатной и органической) служат методы их определения. Чем точнее возможности определения и разделения этих форм, тем более реальное состояние геохимического цикла углерода отражается.

Методы определения углерода в природных объектах, разработанные еще в 60-х годах XX века [5, 6], требуют больших затрат времени, высокой квалификации оператора (в части хороших навыков ручного выполнения эксперимента) и обладают низкой точностью в современных условиях. К более современным методам относится определение углерода на экспресс-анализаторе на углерод АН-7529М. Впервые описание метода опубликовано в [7]. Сейчас экспресс-анализатор АН-7529М активно используется в почвенных лабораториях для определения содержания гумуса [8].

Одним из самых современных методов считается определение содержания углерода с помощью CHN-анализатора [9] и спектрометрия с преобразованием Фурье в средней инфракрасной области с диффузным отражением (DRIFTS) [10].

В данной работе стояла задача изучить современные методы определения углерода в донных отложениях и подобрать из нескольких вариантов методов анализа углерода в морских донных отложениях наиболее подходящий для выполнения в лаборатории отдела биогеохимии моря (ОБМ) ФГБУН ФИЦ Морского гидрофизического института г. Севастополь.

В ходе выполнения исследований было проведено сравнение «старых» методов анализа углерода с «новыми» методами, выбрана оптимальная схема анализа углерода для лаборатории ОБМ, а также выполнено сравнение с результатами, полученными в лаборатории кафедры общей и физической химии факультета биологии и химии Таврической академии на элементном анализаторе EuroEA 3000.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под «старыми» методами в этой работе понимаются: определение карбонатности донных отложений по ISO 10693:1995; определение органического углерода по ГОСТ 26213-91.

В качестве «новых» методов были выбраны следующие методы: определение органического углерода с катализатором окись-закись кобальта при 500 °С (метод описан в [11, 12]); определение карбонатного углерода после определения органического с окисью-закисью кобальта из одной пробы при 1000 °С (метод описан в [13]); определение карбонатного углерода с ортофосфорной кислотой (метод описан в [14]); определение содержания общего углерода с оксидом меди (II) в качестве плавня при 1000 °С (метод описан в [13]); определение содержания общего углерода с окисью-закисью кобальта в качестве плавня при 1000 °С (метод аналогичен методу 4, только CuO заменен на Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>).

В качестве арбитражных методов были выбраны: определение органического углерода на элементном анализаторе Euro EA3000 с предварительным удалением карбонатов (метод описан в [15], а удаление карбонатов в [16]); определение общего углерода на элементном анализаторе Euro EA3000 (метод описан в [15]).

Оба прибора (АН-7529М Euro EA3000), используемые для измерений, настраивались по внешнему стандарту: экспресс-анализатор на углерод АН-7529М – по стандартному образцу ГСО 5359-90 (ООКО152), а элементный анализатор Euro EA3000 – по ацетанилиду (99 %, Sigma-Aldrich P. № 112933).

В качестве образцов для исследования использовались донные осадки, отобранные в 103-м рейсе научно-исследовательского судна «Профессор

Водяницкий» на станциях № 76 и 103. Пробы подбирались так, чтобы в одной из них было содержание органического углерода превышало содержание карбонатного, а в другой – наоборот – карбонатного углерода было больше органического. Данные образцы были предварительно высушены и измельчены до состояния пудры в агатовой ступке.

Для оценки связи данных, полученных «старыми» и «новыми» методами, использовались пробы донных отложений, отобранные в бухтах города Севастополя (Южной, Балаклавской, Севастопольской). Пробы подбирались таким образом, чтобы охватить как можно больший диапазон значений содержания органического (0÷8 % мас.) и карбонатного (0÷16 % мас.) углерода, которые содержатся в природных образцах. Они были подготовлены аналогично предыдущим образцам.

Для всех методов проводилось исследование серии из 10 определений одного образца. Кроме анализа на приборе Euro EA3000; на этом приборе производились серии из 5 определений. Грубые промахи исключались из серии на основании оценки по критерию Диксона. Проводилось до трех анализов на промахи. После исключения промахов производился статистический расчет среднеарифметического, дисперсии, среднеквадратического отклонения, коэффициента вариации. Для результатов, полученных различными методами, проводились расчеты однородности выборок по критериям Фишера и Стьюдента.

При выполнении анализов на анализаторе АН-7529М всегда использовалась навеска следующего состава: 0,25 г образца и 0,25 г окиси-закиси кобальта. Общая масса смеси в навеске контролировалась, чтобы не превышать 0,5 г. Все пробы взвешивались на аналитических весах Adventurer AR2140 производства Ohaus Corporation. Максимальные расхождения в навесках образцов не превышали 10 мг.

Время сжигания образцов в печи анализатора АН-7529М было подобрано эмпирически и составило 3 минуты. При таком времени определения возможно полное сжигание пробы с содержанием углерода от 0 до 9,999 % (диапазон шкалы прибора). Выбор температуры в 1000 °С при определении карбонатного и общего углерода обусловлен тем, что при данной температуре разлагается большинство карбонатов (о неразлагающихся будет сказано в главе Обсуждение результатов). Повышение же температуры только снизит экономическую привлекательность метода (чем выше температура, тем выше финансовые затраты на ее достижение).

Масса сжигаемой пробы в 0,5 г была выбрана как самая оптимальная по следующим критериям: удобно разбавлять образец плавнем/катализатором; небольшое время сжигания (3 мин.); представительность пробы; рекомендации по данной массе указаны в [13], где такое значение используется при поверке анализатора.

Работы на элементном анализаторе Euro EA3000 велись согласно заводскому руководству по эксплуатации прибора. Для сжигания образцов, содержащих значительное количество хлорид-ионов (морские донные отложения) были использованы серебряные тигли. Масса навески составляла в среднем 2,5 мг.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Перед основными исследованиями было проведено сравнение оксида меди (II) и окиси-закиси кобальта в качестве плавней при определении общего углерода

(сжигание пробы при 1000 °С). Изначально окись-закись кобальта была указана в качестве катализатора в [11], которые были взяты за основу «нового» метода в ОБМ. А CuO использовался в качестве плавня в [13]. Поскольку для сравнения методов необходимо было определять общий углерод в образцах по методике из [13], то было принято решение оценить насколько существенной будет замена оксида меди (II) на окись-закись кобальта в качестве плавня.

Данные по сравнению представлены в табл. 1.

**Таблица 1**

**Сравнение CuO и Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> в качестве плавня**

Плавень	Среднеарифметическое значение содержания углерода в пробе, %	Дисперсия	Среднеквадратическое отклонение	Минимальное значение	Максимальное значение
Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	8,27	0,0031	0,056	8,19	8,35
CuO	8,12	0,0019	0,043	8,09	8,21

Анализ показал, что разброс среднеарифметических значений, полученных с разными оксидами металлов, не превышает 2 %. После этого было принято решение всегда использовать окись-закись кобальта в качестве катализатора при определении органического углерода и в качестве плавня при определении общего (или карбонатного) углерода.

Данные по различным методам анализа образцов на содержание органического и общего углерода представлены в сводных табл. 2–7.

**Таблица 2**

**Определение содержания органического углерода в пробе со станции № 76**

Номер метода*	Среднеарифметическое значение содержания углерода в пробе, %	Дисперсия	Среднеквадратическое отклонение	Коэффициент вариации, %	Минимальное значение	Максимальное значение
3	1,66	0,0069	0,083	4,99	1,55	1,74
2	0,57	0,0092	0,096	16,76	0,51	0,64
8	1,59	0,0889	0,298	18,78	1,13	1,94

Таблица 3

Определение содержания карбонатного углерода в пробе со станции № 76

Номер метода	Среднеарифметическое значение содержания углерода в пробе, %	Дисперсия	Среднеквадратическое отклонение	Коэффициент вариации, %	Минимальное значение	Максимальное значение
4	0,6	0,0047	0,069	11,37	0,52	0,75
1	1,46	0,001	0,023	1,60	1,43	1,49
5	0,63	0,006	0,079	12,51	0,57	0,75

Таблица 4

Определение содержания общего углерода в пробе со станции № 76

Номер метода	Среднеарифметическое значение содержания углерода в пробе, %	Дисперсия	Среднеквадратическое отклонение	Коэффициент вариации, %	Минимальное значение	Максимальное значение
9	2,71	0,0659	0,257	9,46	2,47	3,04
7	2,31	0,0001	0,012	0,52	2,29	2,33
10	2,27	-	-	-	-	-
11	1,98	-	-	-	-	-

\*Примечание (виды методов):

- 1 – весообъемный метод определения карбонатности;
  - 2 – фотометрический метод определения органического углерода путем мокрого сжигания;
  - 3 – метод определения органического углерода на АН-7529М;
  - 4 – метод определения карбонатного углерода после определения органического на АН-7529М;
  - 5 – метод определения карбонатного углерода с ортофосфорной кислотой;
  - 7 – метод определения общего углерода на АН-7529М;
  - 8 – метод определения органического углерода на Euro EA3000;
  - 9 – метод определения общего углерода на Euro EA3000;
  - 10 – суммарное значение общего углерода методов 3 и 4 (по средним);
  - 11 – суммарное значение общего углерода методов 1 и 2 (по средним).
- Данная нумерация используется и далее в тексте.

**Таблица 5**  
**Определение содержания органического углерода в пробе со станции № 103**

Номер метода	Среднеарифметическое значение содержания углерода в пробе, %	Дисперсия	Среднеквадратическое отклонение	Коэффициент вариации, %	Минимальное значение	Максимальное значение
3	0,52	0,0008	0,028	5,29	0,47	0,56
2	0,22	0,0034	0,058	26,93	0,14	0,36
8	0,91	0,0388	0,197	21,62	0,67	1,12

**Таблица 6**  
**Определение содержания карбонатного углерода в пробе со станции № 103**

Номер метода	Среднеарифметическое значение содержания углерода в пробе, %	Дисперсия	Среднеквадратическое отклонение	Коэффициент вариации, %	Минимальное значение	Максимальное значение
4	8,59	0,007	0,086	1,00	8,46	8,72
1	11,49	0,0172	0,131	1,14	11,34	11,67
5	5,775	2,556	1,6	27,69	3,03	7,40

**Таблица 7**  
**Определение содержания общего углерода в пробе со станции № 103**

Номер метода	Среднеарифметическое значение содержания углерода в пробе, %	Дисперсия	Среднеквадратическое отклонение	Коэффициент вариации, %	Минимальное значение	Максимальное значение
9	7,58	0,5000	0,707	9,33	6,69	8,42
7	8,27	0,0031	0,056	0,67	8,19	8,35
10	9,11	-	-	-	-	-
11	11,76	-	-	-	-	-

При выполнении фотометрического определения органического углерода методом мокрого сжигания (метод 2) наблюдаются заниженные значения, что, возможно, обусловлено неоднородным окислением пробы. А при выполнении определения карбонатности (метод 1) наблюдается завышение результатов, что

может быть связано с особенностями вытеснения насыщенного раствора NaCl углекислым газом.

Значения дисперсии, среднеквадратического отклонения, коэффициента вариации для данных, полученных на элементном анализаторе Euro EA3000 гораздо выше, чем для других методов. Это объясняется массой навески, которая для Euro EA3000 была в 100 раз меньше, чем для других методов. Это обуславливает определенные трудности с представительностью и гомогенизацией проб природных объектов.

Исходя из полученных результатов, было решено исключить из рабочих методов метод определения карбонатного углерода с ортофосфорной кислотой. Поскольку данный метод, несмотря на хорошие статистические результаты, обладает самым сложным исполнением по сравнению с другими методами и показал заниженные результаты. Оптимальным является использование следующей схемы: определение из одной пробы сначала органического углерода с  $Co_3O_4$  при  $500\text{ }^{\circ}C$ , а затем определение карбонатного углерода при  $1000\text{ }^{\circ}C$ . Данная схема существенно экономит время, что является важным фактором при исследовании большого количества проб.

Выборки, полученные на экспресс-анализаторе АН-7529М при определении карбонатного углерода и полученные методом определения карбонатности, подвергались тестам Фишера и Стьюдента для определения зависимости между двумя средними значениями. Аналогичным математическим преобразованиям подвергались выборки, полученные на экспресс-анализаторе АН-7529М при определении органического углерода и полученные фотометрическим методом.

Результаты статистического анализа представлены в таблице 8.

**Таблица 8**

**Оценка по критериям Фишера и Стьюдента выборок при определении содержания углерода. Сравнение методов 1 и 4, 2 и 3**

Данные	Критерий Фишера расчетный	Критерий Фишера табличный	Критерий Стьюдента расчетный	Критерий Стьюдента табличный
Органический, ст. 76	1,34	4,26	1,1232	2,2622
Карбонатный, ст. 76	8,73	8,79	1,5152	2,1788
Органический, ст. 103	4,46	4,82	1,1517	2,0860
Карбонатный, ст. 103	2,34	3,58	1,8363	2,1788

Согласно положениям математической статистики данные, полученные «старыми» и «новыми» методами сопоставимы – их воспроизводимости (дисперсии) и средние значения отличаются незначительно. Результаты «старых» и «новых» методов сопоставимы с данными, полученными на элементном анализаторе Euro EA3000. Для наглядности оценки результатов были построены графики распределения содержания органического и карбонатного углерода, полученного различными методами.

Аппроксимационные кривые, корреляционные и детерминационные коэффициенты были построены и вычислены в программе Grapher версии 13.1.668 (64-bit) производства Golden Software, LLC.

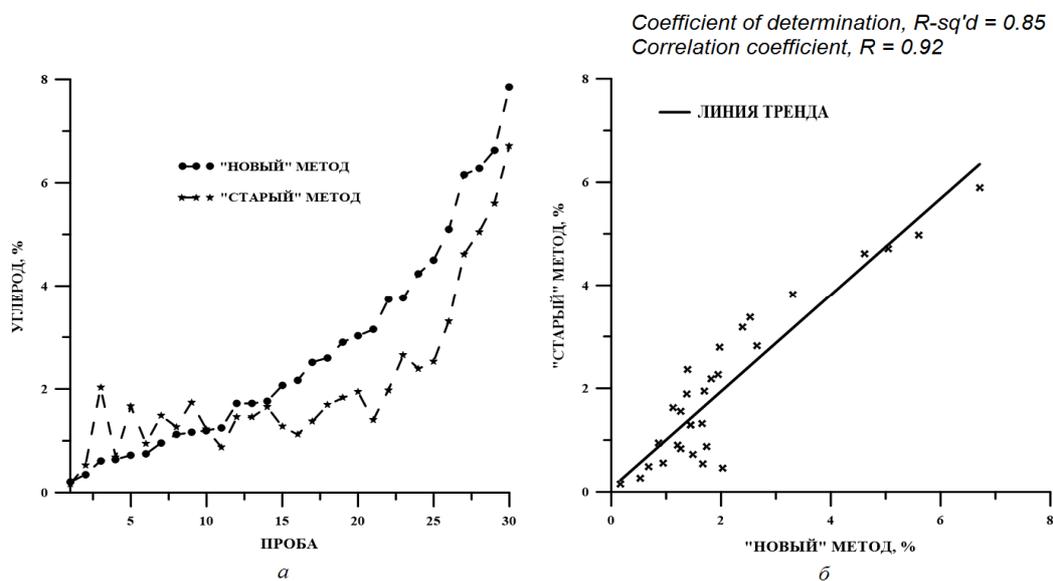


Рис. 1. а) Определение содержания органического углерода методами 2 и 3; б) кривая зависимости содержания органического углерода «старого» от «нового» методов.

Как видно из рисунка (Рис.1а) полученные данные по содержанию органического углерода разными методами обладают сходным распределением. Результаты соотношения двух методов (рис. 1б), и рассчитанные коэффициенты показывают хорошую корреляцию данных (коэффициент корреляции равен 0,921), полученных этими методами.

Аналогичные результаты наблюдаются для карбонатного углерода (Рис. 2).

Коэффициент корреляции в случае содержания карбонатного углерода составляет 0,915. Что также указывает на хорошую корреляцию между данными, полученными методами мокрого сжигания и определения на экспресс-анализаторе АН-7529М. Таким образом, можно говорить о хорошей сопоставимости данных, полученных «старыми» и «новыми» методами. При этом данные, полученные «старым» методом анализа органического углерода, оказались несколько заниженными (рис. 1а). В то время как данные, полученные «старым» методом анализа карбонатного углерода (рис. 2а), – завышенными. Однако коэффициенты корреляции близкие к 1 для обоих типов углерода (органического и неорганического) при сопоставлении «старых» и «новых» методов позволяют сравнивать данные напрямую, без использования каких-либо коэффициентов.

После сравнения «старых» и «новых» методов закономерно возникает вопрос о потерях (и их значительности) при последовательном сжигании пробы. Для этого

были проанализированы данные, полученные сжиганием пробы по методу 7 и суммированные данные методов 3 и 4. Результат можно оценить по Рис. 3.

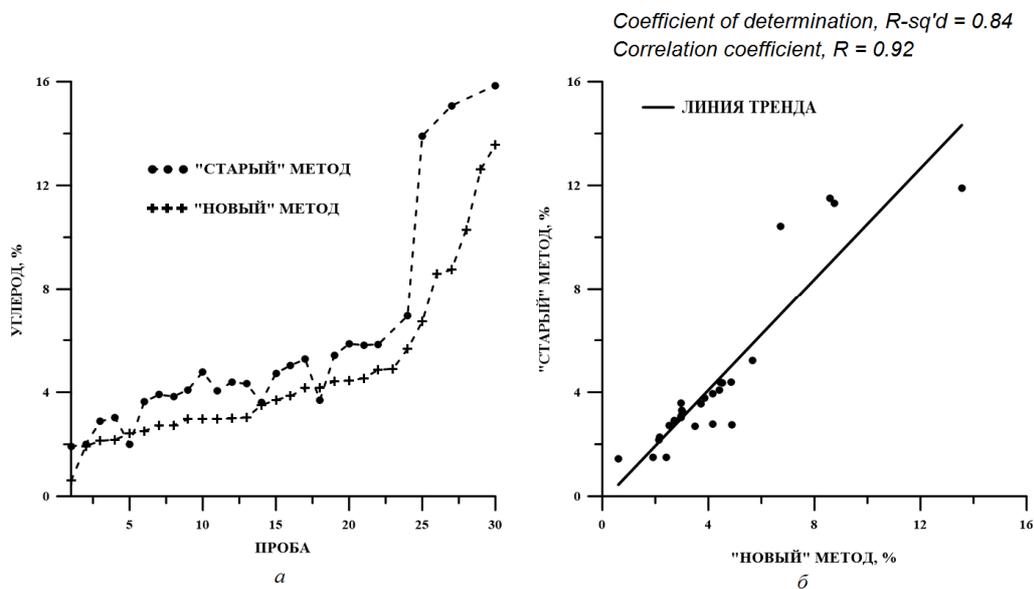


Рис. 2. а) Определение содержания карбонатного углерода методами 1 и 4; б) кривая зависимости содержания карбонатного углерода «старого» от «нового» методов.

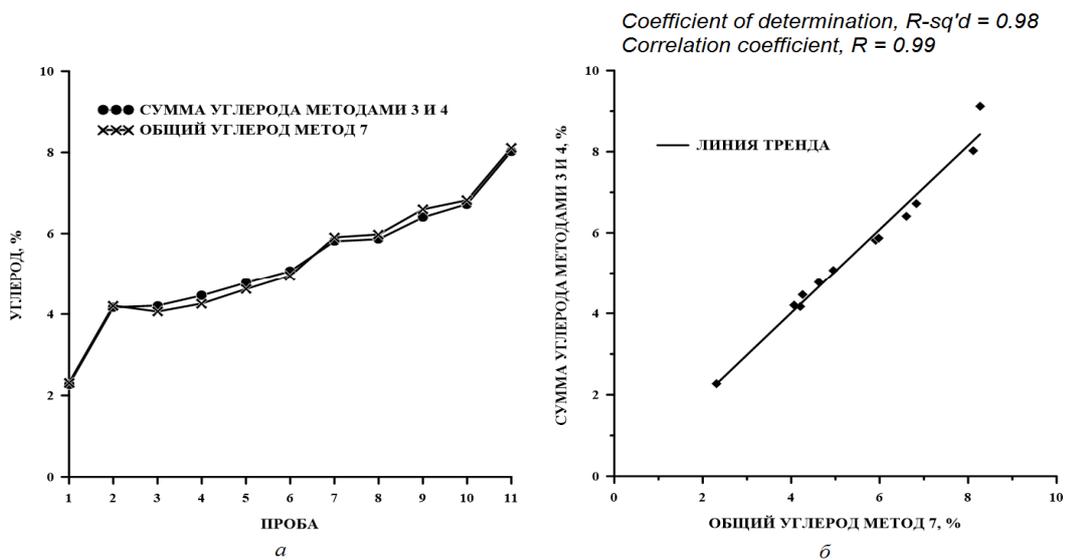


Рис. 3. а) Определение содержания общего углерода методом 7 и суммарное содержание карбонатного и органического углерода методами 3 и 4; б) кривая зависимости содержания углерода суммарного от общего.

Как видно из Рис. 3а результаты сложения значений содержания органического и карбонатного углерода практически не отличаются от значений содержания общего углерода. Это подтверждается линейным характером зависимости (рис. 3б) и значением коэффициента корреляции равным 0,989.

На основании этих данных, можно говорить о том, что выбранная в процессе работы схема по определению органического и карбонатного углерода с окисью-закисью кобальта из одной пробы последовательным сжиганием при температуре 500 °С, а затем при 1000 °С показала хорошие статистические результаты и сопоставима с результатами, полученными с помощью контрольного прибора EuroEA 3000.

Заключительным этапом исследования было определение нижнего предела чувствительности метода, то есть вычисление минимально определяемой концентрации углерода как карбонатного, так и органического. Определение предела обнаружения производилось по формуле [17]:

$$C_D = C_0 + ks_0, \quad (1)$$

где  $C_D$  – предел обнаружения;

$C_0$  – поправка холостого опыта, соответствующая концентрации, измеряемой в отсутствие определяемого вещества в пробе;

$S_0$  – стандартное отклонение результатов измерений при концентрации, близкой к пределу обнаружения;

$k$  – коэффициент, определяющий доверительную вероятность (при  $P=0,95$   $k=2$ ).

Для определения предела чувствительности использовались данные 20 определений холостого опыта при исследовании карбонатного и органического углерода (таблица 9).

**Таблица 9**

**Предел чувствительности определения органического и карбонатного углерода при  $P=0,95$**

Метод	Среднее $C_0$ , %	Минимальное $C_0$ , %	Максимальное $C_0$ , %	$S_0$	$C_D$ , %
Определение органического углерода	0,032	0,024	0,041	0,0048	0,04
Определение карбонатного углерода	0,027	0,02	0,033	0,0034	0,03

Мешающее влияние на результаты анализа могут оказывать соединения серы (например, сульфиды), которые встречаются в природных пробах. Однако такие концентрации этих соединений, которые смогут пройти через поглощающий сосуд с гидроксидом, не встречаются в природной среде.

При определении содержания органического углерода к завышению результатов могут приводить включения природных карбонатов двухвалентного железа (минерал сидерит), марганца(II) (минерал родохрозит), свинца(II) (минерал церуссит), цинка (минерал смитсонит), дигидроксодикарбонат меди(II) (минерал азурит), гидрокарбонат меди(II) (минерал малахит), так как температуры разложения их ниже или равны температуре сжигания пробы (500 °С). При определении карбонатного углерода в занижение результатов могут вносить вклад природные карбонаты бария (минерал витерит), стронция (минерал стронцианит), так как эти карбонаты разлагаются при температурах выше, чем температура сжигания пробы (1000 °С).

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

С использованием экспресс-анализатора углерода АН-7529М в данной работе реализованы следующие задачи: предложена современная схема определения органического и карбонатного углерода в донных отложениях; статистические показатели «новых» методов этой схемы значительно превышают показатели «старых» методов; временные затраты на выполнение серии анализов существенно сокращены; «новые» методы, имеют хорошую сходимость с арбитражными; ликвидировано мешающее влияние остальных компонентов пробы.

*Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема «Океанологические процессы» № 0555-2021-0004).*

### **Список литературы**

1. Лисицын А. П. Осадкообразование в океанах. Количественное распределение осадочного материала / А. П. Лисицын – М.: Наука, 1974. – 438 с.
2. Химия океана / Под. общ. ред. А. С. Моница Т. 2. Геохимия донных осадков / Под. общ. ред. И. И. Волкова / И. И. Волков. – М. : Наука, 1979. – 536 с.
3. Страхов Н. М. Проблемы современного и древнего осадочного процесса: в 2 томах / Страхов Н. М. – М.: Наука, 2008. – 495 с.
4. Алекин О. А. Химия океана / О. А. Алекин, Ю. И. Ляхин – Ленинград: Гидрометеиздат, 1984. – 344 с.
5. ISO 10693:1995 Soil quality – Determination of carbonate content – Volumetric method. – ISO, 03.1995 – 7 p.
6. ГОСТ 26213-91. Почвы. Методы определения органического вещества. М.: Стандартиздат, 1992. – 8 с. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200023481>
7. Люцарев С. В. Определение органического углерода в морских донных отложениях методом сухого сжигания / С. В. Люцарев // Океанология. – 1986. – т. XXVI, вып. 4. – С. 704–708.
8. Воробьева Л. А. Химический анализ почв: Учебник. / Воробьева Л. А. – М.: Изд-во МГУ, 1998. – 272 с.
9. Froelich P. N. Analysis of organic carbon in marine sediments / P. N. Froelich // Limnology and oceanography. – 1980. – Vol. 25, No 3. – P. 564–572.
10. Joanne Wai Ting Tung Instrumental determination of organic carbon in marine sediments / Joanne Wai Ting Tung, Peter A. Tanner // Marine Chemistry. – 2003. – N 80. – С. 161–170.

11. Рекомендации по определению содержания органических веществ в грунтах и горных породах сухим сжиганием без предварительного удаления карбонатов. – М.: ПЭМ ВНИИНТПИ Госстроя СССР, 1990. – 33 с.
12. А. с. 1733951 СССР, Способ определения органического углерода в морских донных осадках / Л. П. Пономарева, Г. Г. Ткаченко, Л.В. Кротова (СССР). – № 4819263/26; заявл. 28.02.90; опубл. 15.05.92, Бюл. № 18. – 3 с.
13. Экспресс-анализаторы на углерод АН-7529М и АН-7560М. Руководство по эксплуатации. 5М2.840.126 РЭ – Гомель: ОАО «Гомельский завод измерительных приборов», 2016. – 62 с.
14. ГОСТ 23581.9-79. Руды железные, концентраты, агломераты и окатыши. Методы определения содержания углерода. – [Переиздание 1983.09.]. – М.: Из-во стандартов, 1983. – 18 с. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200024717>
15. Серия EUROEA3000 Элементные анализаторы компании EuroVector для определения CHNS-O в твердых и жидких образцах. Руководство по эксплуатации V 2.0 – 2008. – 55с.
16. ГОСТ 23740—2016 Грунты. Методы определения содержания органических веществ. – М.: Стандартинформ, 2009. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200143232?section=text>
17. Дворкин В. И. Метрология и обеспечение качества количественного химического анализа / В. И. Дворкин – М.: Химия, 2001. – 263 с.

## APPLICATION OF INSTRUMENTAL METHODS FOR ANALYSIS OF BOTTOM SEDIMENTS FOR ECOLOGICAL MONITORING OF MARINE ECOSYSTEMS

*Zabegaev I. A.<sup>1</sup>, Shul'gin V. F.<sup>2</sup>, Orekhova N. A.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Marine Hydrophysical Institute, Russian Academy of Science, Sevastopol, Russian Federation*

<sup>2</sup>*Institute of Biochemical Technologies, Ecology and Pharmacy (structural subdivision) of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Vernadsky Crimean Federal University", Simferopol, Russia  
E-mail: zabegaev84@gmail.com*

The main characteristic of bottom sediments is the carbon content, which has carbonate and organic components. Therefore, it is important to distinguish one type of carbon from another in the samples of bottom sediments and to determine them with a sufficiently high accuracy. The methods for the analysis of organic and carbonate carbon, which were previously used in the laboratory of the Marine Hydrophysical Institute, are outdated morally and technically, require high qualifications of the operator and do not have rapid determinations.

Thus, the aim of the work was to propose modern express methods for the determination of organic and carbonate carbon. For each indicator: organic carbon, carbonate and total, new methods of analysis were chosen.

This paper presents the results of a comparison of the "old" methods of carbon analysis with the "new" methods, the optimal scheme for the analysis of carbon for the laboratory of the Department of Marine Biogeochemistry is presented, and a comparison is made with the results obtained in the laboratory of the Department of General and Physical Chemistry of the Faculty of Biology and Chemistry of the Taurida Academy on an elemental analyzer EuroEA 3000.

The following tasks was determined: statistical indicators of "new" methods of this scheme are much better than indicators of "old" methods; the time spent on performing a series of analyzes is significantly less when performing "new" methods; "new" methods, have good convergence with the arbitration; the interfering influence of the rest of the sample components was eliminated.

Based on a comparison of the results obtained by various methods, the following sequence of methods of analysis on the AN-7529M express analyzer was proposed: firstly, the analysis of organic carbon with cobalt oxide 2, 3 is carried out at 500 degrees Celsius; secondly, the same sample is burned at 1000 degrees Celsius to determine carbonate carbon.

**Keywords:** organic carbon, bottom sediments, express analyzer AN-7529M.

### References

1. Lisitsyn A. P., *Precipitation in the oceans. Quantitative distribution of sedimentary material*, 438 p. (Nauka, Moscow, 1974). (in Russ.).
2. *Ocean chemistry / V. 2. Geochemistry of bottom sediments*, 536 p. (Nauka, Moscow, 1979). (in Russ.).
3. Strakhov N. M. *Problems of modern and ancient sedimentary process: in 2 volumes*, 495 p. (Nauka, Moscow, 2008) (in Russ.).
4. Alekin O. A., Lyakhin Y. I. *Chemistry of the ocean*, 344 p. (Gidrometeoizdat, Leningrad, 1984).
5. ISO 10693:1995. *Soil quality - Determination of carbonate content - Volumetric method*. (ISO, 1995).
6. GOST 26213-91. *Soils. Methods for the determination of organic matter*. Moscow: Standartinform Publ., 1992 (in Russ.).
7. Lyutsarev S. V. Determination of organic carbon in sea bottom sediments by dry combustion method, *Oceanology*, **26**, 704 (1986). (in Russ.).
8. Vorob'eva L. A. *Chemical analysis of soils: Textbook*, 272 p. (Publishing house of Moscow State University, Moscow, 1998). (in Russ.).
9. Froelich P. N. Analysis of organic carbon in marine sediments, *Limnology and oceanography*, **25**, 564 (1980).
10. Joanne Wai Ting Tung, Tanner P.A. Instrumental determination of organic carbon in marine sediments *Marine Chemistry*, **80**, 161 (2003).
11. *Recommendations for determining the content of organic matter in soils and rocks by dry combustion without preliminary removal of carbonates*. Moscow: PEM VNIINTPI Gosstroy USSR, 1990 (in Russ.).
12. Ponomareva L. P., e.a. *Method for determining organic carbon in sea bottom sediments*. USSR author's certificate, no 1733951, 1990 (in Russ.).
13. *Express analyzers for carbon AN-7529M and AN-7560M. Manual. 5M2.840.126 OM*, 62 p. (2016).
14. GOST 23581.9-79. *Iron ores, concentrates, agglomerates and pellets. Methods for determining the carbon content*. – Moscow: Publishing house of standards, 1983 (in Russ.).
15. *EUROEA3000 Series Elemental analyzers from EuroVector for the determination of CHNS-O in solid and liquid samples. Operation manual V 2.0*, 55p. (2008). (in Russ.).
16. GOST 23740—2016. *Soils. Methods for determining the content of organic matter*. Moscow: Standartinform Publ., 2009 (in Russ.).
17. Dvorkin V. I. *Metrology and quality assurance of quantitative chemical analysis*, 263 p. (Chemistry, Moscow, 2001). (in Russ.).

**УДК 378.145/.147**

**ДИСТАНЦИОННОЕ ОБУЧЕНИЕ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ДИСЦИПЛИНЫ  
«МЕДИЦИНСКАЯ ХИМИЯ» В МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ КРЫМСКОГО  
ФЕДЕРАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА**

*Мельникова Е. Д., Сарнит Е. А., Нетреба Е. Е.*

*Институт биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ ВО «Крымский  
федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия  
E-mail: Lynx7575@mail.ru*

В статье рассматриваются основные принципы и методы дистанционного обучения, а также отвечающие им компьютерно-опосредованные методы коммуникации, использованные при работе с иностранными студентами 1-го курса направления подготовки «лечебное дело» при изучении дисциплины «Медицинская химия» в Медицинской академии Крымского федерального университета. По итогам работы оценен уровень эффективности внедрения дистанционных образовательных технологий в учебный процесс, проведён анализ основных показателей качества обучения студентов при прохождении модулей дистанционного обучения по дисциплине «Медицинская химия» за весенний семестр 2019–2020 учебного года, осенний и весенний семестры 2020–2021 учебного года; отмечены преимущества и недостатки использования дистанционного обучения. По результатам промежуточной аттестации иностранных студентов 1-го курса за указанный период установлено, что успеваемость составляет более 65%, что отвечает средним показателям с учетом остальных дисциплин.

**Ключевые слова:** обучение в ВУЗе, медицинская химия, обучение иностранных студентов, дистанционное обучение, дистанционные образовательные технологии.

**ВВЕДЕНИЕ**

На современном этапе обучения в медицинском ВУЗе повышенное внимание уделяется системе дистанционного обучения, что обусловлено развитием компьютерно-опосредованных средств коммуникации и необходимостью продолжения качественного обучения студентов в условиях пандемии или карантина. Из-за сложившейся ситуации с мерами по предотвращению распространения коронавирусной инфекции COVID-19, начиная с весеннего семестра 2020 года, система обучения претерпела ряд существенных изменений, что стало серьезным испытанием для системы образования в целом [1, 2]. На сегодняшний день многие ведущие отечественные ВУЗы сохраняют дистанционный формат обучения: лекции для больших групп студентов проходят в режиме *online*, а практические и лабораторные с меньшим количеством студентов в режиме *offline*.

Под дистанционным обучением (ДО) подразумевается «целый комплекс программных и педагогических компонентов, основанных на использовании современных информационных и телекоммуникационных технологий (ИТКТ), предназначенных для передачи знаний на расстоянии» [3]. Причем обучение это может быть как синхронизированным во времени, так и асинхронным.

Дистанционное обучение предполагает такую организацию учебного процесса, при которой преподаватель разрабатывает учебную программу, базирующуюся на самостоятельном изучении студентом каких-либо разделов дисциплины или всего курса дисциплины в целом [4–6]. ДО характеризуется тем, что «студенты совсем или частично отделены от общения с преподавателями в пространстве или во времени, но в, то, же время, студенты и преподаватели имеют возможность осуществлять диалог между собой с помощью средств телекоммуникации» [7, 8]. Как показывает опыт, ДО и различные формы подобного вида обучения внедряют в учебный процесс тогда, когда традиционные формы обучения не могут быть реализованы: в условиях пандемии или вынужденной самоизоляции студентов; в условиях, когда у жителей удаленных регионов нет возможности для профессиональной подготовки; для получения образования студентами с ограниченными возможностями; для переподготовки кадров и проведении курсов повышения квалификации [9, 10].

Цель настоящей работы – систематизация накопленных данных по организации дистанционного обучения при изучении дисциплины «Медицинская химия» за три учебных семестра за период с марта 2019–2020 по июнь 2020–2021 учебного года при обучении иностранных студентов направления подготовки «лечебное дело» в Медицинской академии им. С. И. Георгиевского Крымского федерального университета (г. Симферополь).

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основные формы дистанционного обучения, использованные при изучении «Медицинской химии» в КФУ при работе с иностранными студентами:

- загрузка материалов учебных курсов через сеть «интернет»;
- общение студентов с преподавателями посредством электронных средств связи (почтовые системы, чаты, социальные сети);
- работа с базами данных в компьютерных классах ВУЗа;
- работа дома на персональных компьютерах.

При организации ДО при изучении дисциплины «Медицинская химия» использованы следующие принципы обучения (рис. 1), а также соответствующие им компьютерно-опосредованные методы коммуникации (табл. 1). Реализация ДО в Медицинской академии при изучении дисциплины «Медицинская химия» позволила выделить следующие темы, знание материала которых необходимо студентам медицинских специальностей при изучении клинических дисциплин [11, 12].

**1. Элементы химической термодинамики и кинетики.** Физико-химические основы процессов в живых организмах. Ферментативный катализ (уравнение Михаэлиса-Ментен). Термодинамика и кинетика биохимических реакций.

**2. Гомогенные системы. Растворы. Коллигативные свойства растворов. Растворы и их значение в процессах жизнедеятельности.** Понятия об изотонических, гипертонических и гипотонических растворах. Растворы неэлектролитов и электролитов. рН растворов. Буферные растворы (примеры, механизм действия, рН). Буферные растворы в биохимических системах.



Рис.1. Принципы дистанционного обучения и их связь с компьютерно-опосредованными методами коммуникации, обеспечивающими связь «студент–преподаватель».

**3. Физикохимия поверхностных явлений, дисперсных систем и растворов. ВМС.** Гетерогенные системы. Межфазные электрические потенциалы. Дисперсные системы (классификация, свойства, устойчивость, коагуляция). Ионный обмен. Получение, методы очистки и свойства коллоидных растворов. Коагуляция. Коллоидная защита.

Таблица 1

**Методы ДО и ИТКТ, использованные при работе с иностранными студентами  
Медакадемии КФУ при изучении дисциплины «Медицинская химия»**

Методы ДО, содержание	Компьютерно-опосредованные методы коммуникации и ссылка на ИТКТ
<p>1. Метод обучения <b>«один ко многим»:</b> представление студентам учебного материала преподавателем, при котором обучающиеся не играют активную роль в коммуникации.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● традиционные лекции, записанные как видеоматериалы, презентации лекций (образовательная платформа Moodle <a href="https://moodle.org">https://moodle.org</a>; <a href="https://moodle.cfuv.ru/">https://moodle.cfuv.ru/</a>);</li> <li>● «э-лекции» («электронные лекции») (образовательная платформа Юрайт – <a href="https://urait.ru/">https://urait.ru/</a>);</li> <li>● электронные учебники для высшего медицинского и фармацевтического образования (<a href="http://www.studmedlib.ru">http://www.studmedlib.ru</a> – Консультант Студента; <a href="http://farmstudentu.ru">http://farmstudentu.ru</a> – Информационный ресурс студента провизора-фармацевта).</li> </ul>
<p>2. Метод обучения <b>«один к одному»:</b> индивидуализированное преподавание и обучение, взаимоотношения одного студента с одним преподавателем.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● телефон (Jitsi <a href="https://jitsi.org/">https://jitsi.org/</a>);</li> <li>● Telegram – мессенджер;</li> <li>● голосовая почта</li> <li>● (Discord <a href="https://discordapp.com/">https://discordapp.com/</a>);</li> <li>● видеосвязь через Интернет между компьютерами</li> <li>● (Skype <a href="https://www.skype.com/ru/">https://www.skype.com/ru/</a>);</li> <li>● электронная почта.</li> </ul>
<p>3. Метод обучения <b>«самообучение»:</b> обучение посредством взаимодействия студента с образовательными ресурсами при минимальном участии преподавателя и других студентов.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● обучающие и образовательные ресурсы, печатные, видео-материалы;</li> <li>● электронно-библиотечная система («Университетская библиотека online»: <a href="http://biblioclub.ru">http://biblioclub.ru</a>);</li> <li>● «IPRbooks»: <a href="http://www.iprbookshop.ru">http://www.iprbookshop.ru</a>;</li> <li>● «Лань»: <a href="http://e.lanbook.com">http://e.lanbook.com</a>);</li> <li>● консультации для студентов (<a href="http://www.studmedlib.ru">http://www.studmedlib.ru</a>).</li> </ul>
<p>4. Метод обучения <b>«многие ко многим»:</b> активное взаимодействие между всеми участниками учебного процесса.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● обмен письменными сообщениями в синхронном и в асинхронном режиме (WhatsApp);</li> <li>● социальная сеть «ВКонтакте»;</li> <li>● учебно-методическая литература для студентов: <a href="http://www.studmed.ru">http://www.studmed.ru</a> (рефераты, контрольные работы, справочники).</li> </ul>

**4. Комплексообразование в биологических системах. Биогенные элементы. Бионеорганическая химия.** Комплексообразование в биологических системах. Метод комплексонометрии. Биогенные *s*-, *p*- и *d*-элементы: биологическая роль, применение в медицине.

**5. Биологически активные органические соединения, лежащие в основе функционирования живых организмов.** Классификация, номенклатура, изомерия биоорганических соединений. Сопряжение. Ароматичность. Типы химических реакций. Понятие об электронных эффектах. Кислотность и основность органических соединений. Строение и химические свойства гидрокси- и оксосоединений. Строение, свойства, биологическое значение и медицинское использование гидроксисоединений, оксосоединений, карбоновых кислот и гетерофункциональных соединений.

**6. Строение и свойства биологически активных полимеров, лежащих в основе функционирования живых систем: углеводы, липиды, витамины, нуклеиновые кислоты, аминокислоты, белки.** Строение и химические свойства моно-, ди- и полисахаридов. Строение и свойства нейтральных липидов, консистенция, гидролиз. Мыла. Структура фосфолипидов, их биологическое значение. Сфинголипиды. Гликолипиды. Роль сложных липидов в строении мембран. Стероиды. Гормоны. Гетероциклические соединения. Витамины. Структура и биохимические функции нуклеозидов и нуклеотидов. Строение и биологическая роль нуклеиновых кислот. Химические реакции  $\alpha$ -аминокислот. Структурная организация и физико-химические свойства белков.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В связи со сложившейся эпидемиологической обстановкой всё большую значимость в высших учебных заведениях приобретают различные формы и методы дистанционного обучения, которые имеет как преимущества, так и ряд недостатков. Преподаватели по итогам использования ДО отмечают следующие недостатки: зависимость процесса обучения от технического оснащения; отсутствие практической работы – студенты воспринимают и усваивают теорию, но практика, к сожалению, отсутствует, тогда как для студентов медицинских ВУЗов практика необходима; отсутствие личного контакта студента с преподавателем; преобладание письменной формы обучения. В то же время отмечаются следующие положительные моменты ДО: доступность образовательного процесса; возможность получения образования теми студентами, которые по каким-либо причинам не могут посещать аудиторские занятия в ВУЗе; студенты приобретают опыт практической работы с современными компьютерными системами, различными источниками и формами информации.

В табл. 2 представлена информация о количестве и успеваемости студентов 1-го курса направления подготовки «лечебное дело» (иностранные англоязычные и иностранные русскоязычные студенты) Медицинской академии КФУ, находившихся на ДО с марта 2019–2020 учебного года по июнь 2020–2021 учебного года включительно. При этом отмечается тенденция роста числа студентов, вовлечённых в учебный процесс с применением дистанционных технологий, что было обусловлено особенностями обучения в данный период.

**Таблица 2**  
**Результаты успеваемости иностранных студентов направления подготовки «лечебное дело» Медакадемии КФУ по дисциплине «Медицинская химия»**

Семестр, учебный год	Количество иностранных студентов на ДО	Успеваемость по дисциплине («5», «4», «3»)		Качество успеваемости («5», «4»)	
		Кол-во	%	Кол-во	%
2 семестр 2019–2020	120	79	65,8	14	11,7
1 семестр 2020–2021	248	219	88,3	38	15,3
2 семестр 2020–2021	295	191	65,1	30	10,2

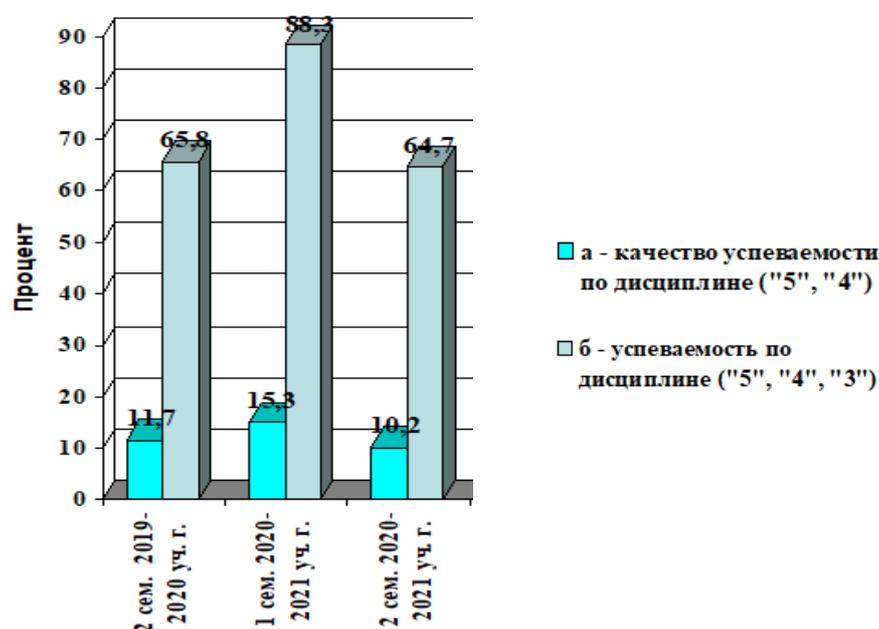


Рис. 2. Диаграмма успеваемости иностранных студентов 1-го курса Медицинской академии КФУ по дисциплине «Медицинская химия» (форма промежуточной аттестации – дифференцированный зачёт): ось x – семестр, учебный год; ось y – процент обучающихся от общего количества студентов на курсе.

По результатам промежуточной аттестации иностранных студентов 1-го курса направления подготовки «лечебное дело» Медицинской академии КФУ по дисциплине «Медицинская химия» установлено, что процент успевающих по данной дисциплине студентов составляет соответственно 65,8 % – 2 семестр 2019–2020 учебного года; 88,3 % – 1 семестр 2020–2021 учебного года и 65,1 % – 2

семестр 2020–2021 учебного года, что сопоставимо со средними показателями успеваемости студентов этих групп по другим учебным дисциплинам (более 60 %).

Относительно высокие данные по успеваемости (88,3 %) и качеству успеваемости (15,3 %) за 1 семестр 2020–2021 учебного года обусловлены тем, что половина учебного семестра проходила в следующем формате: лекции – в дистанционном режиме (режим *online*), а практические и лабораторные работы – в режиме *offline*, что было обусловлено особенностями учебной работы в данный период и свидетельствует не в пользу дистанционного обучения.

Для оценки качества успеваемости по дисциплине «Медицинская химия» был проведен анализ результатов дифференцированного зачёта студентов по 5-балльной шкале на основе данных успеваемости студентов во 2 семестре 2020–2021 учебного года (рис. 3). Успеваемость по дисциплине составила 65,1 %, неуспевающих студентов – 34,9 %; однако, качество успеваемости достаточно низкое и составляет 10,2 % (оценки «5» и «4» соответственно у 30 студентов из 295 на курсе).

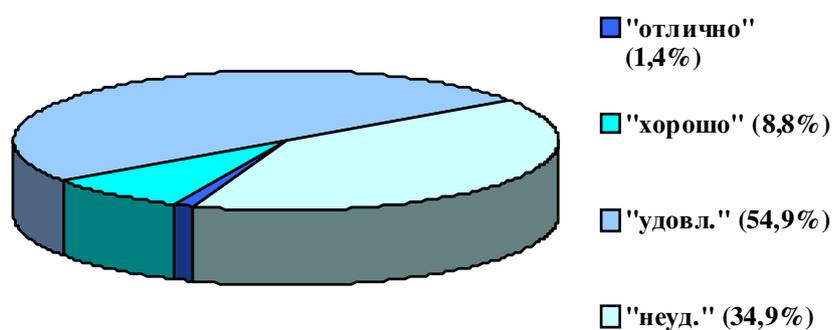


Рис. 3. Диаграмма качества успеваемости иностранных студентов 1-го курса направления подготовки «лечебное дело» Медицинской академии КФУ за весенний семестр 2020–2021 учебного года по дисциплине «Медицинская химия».

На основании данных, полученных по анализу успеваемости иностранных студентов 1-го курса, можно заключить, что дистанционная форма обучения обладает некоторыми преимуществами в сравнении с традиционными формами:

- дистанционная форма обучения позволяет осуществлять связь «студент–преподаватель» с использованием информационно-коммуникационных технологий, поэтому может быть использована во время эпидемиологических ситуаций;
- показано, что наиболее оптимальными формами дистанционного обучения являются следующие: загрузка материалов учебных курсов через сеть «интернет»; электронные лекции; общение студентов с преподавателями посредством электронных средств связи; онлайн-тестирование на образовательных платформах.

Использование дистанционного обучения имеет следующие недостатки:

- зависимость процесса обучения от технического оснащения;
- студенты могут выполнять некоторые задания дома, но самостоятельность их работы сложно проконтролировать;
- отсутствие контролируемой преподавателем практической работы; преобладание письменной формы обучения и контроля знаний.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенной работы по оценке использования дистанционного обучения при изучении дисциплины «Медицинская химия» иностранными студентами Медицинской академии им. С. И. Георгиевского (г. Симферополь) за период 2019–2020 и 2020–2021 учебных годов можно отметить следующее:

1. При организации дистанционного обучения принципы обучения остаются прежними, но существенные изменения претерпевают формы и методы обучения; показано, что наиболее оптимальными формами дистанционного обучения являются следующие: загрузка материалов учебных курсов через сеть «интернет», электронные лекции, общение студентов с преподавателями с помощью различных информационных и телекоммуникационных технологий и онлайн-тестирование на образовательных платформах.
2. По результатам промежуточной аттестации по дисциплине «Медицинская химия» иностранных студентов 1-го курса за указанный период установлено, что успеваемость составляет более 65 %, что отвечает средним стандартным показателям с учетом остальных дисциплин; однако, качество успеваемости достаточно низкое (10–15 %). Проведенный анализ полученных данных позволит сформировать предложения для совершенствования электронной образовательной среды ВУЗа и в перспективе учесть основные проблемы эффективности *online* взаимодействия преподавателя и студентов.

### Список литературы

1. Леванов В. М. Дистанционное образование в медицинском ВУЗе в период пандемии COVID-19: первый опыт глазами студентов / В. М. Леванов, Е. А. Перевезенцев, А. Н. Гаврилова // Журнал телемедицины и электронного здравоохранения. – 2020. – Т. 6, № 2. – С. 3–9.
2. Лазаренко В. А. Адаптация высшего медицинского образования к условиям цифровизации здравоохранения / В. А. Лазаренко, П. В. Калуцкий, Н. Б. Дрёмова [и др.] // Высшее образование в России. – 2020. – Т. 29, № 1. – С. 105–115.
3. Андреев А. А. Дистанционное обучение: сущность, технология, организация / А. А. Андреев, В. И. Солдаткин. – М.: Издательство МЭСИ, 2012. – 43 с.
4. Шахмаев Н. М. Технические средства дистанционного обучения / Н. М. Шахмаев. – М.: Знание, 2000. – 276 с.
5. Полат Е. С. Новые педагогические и информационные технологии в системе образования / Е. С. Полат. – М.: Владос, 2012. – 135 с.
6. Еремеева С. П. Проблема использования дистанционных образовательных технологий в ВУЗе / С. П. Еремеева // Вестник Челябинского государственного университета. – 2013. – № 13 (304). – С. 168–172.

7. Чемезов С. А. Использование дистанционных образовательных технологий для обучения студентов в медицинской академии / С. А. Чемезов // Научно-образовательный вестник «Здоровье и образование в XXI веке». – 2012. – Т. 10, № 4. – С. 137–139.
8. Резниченко Н. С. Сравнительный анализ качества дистанционного обучения студентов / Н. С. Резниченко, Е. В. Таптыгина, Т. Д. Морозова // Сибирское медицинское обозрение. – 2012. – Т. 7, № 4. – С. 14–19.
9. Подготовка и проведение учебных курсов в заочно-дистанционной форме обучения. Метод. рекомендации преподавателям / Под ред. И. А. Цикина. – СПб.: Изд-во СПбГТУ, 2012. – 64 с.
10. Бушмина О. Н. Дистанционное обучение в условиях медицинского университета / О. Н. Бушмина // Азимут научных исследований: педагогика и психология. – 2021. – Т. 10, № 1 (34). – С. 37–39.
11. Гарас Н. Н. Роль дистанционных элементов обучения в преподавании клинических дисциплин в медицинском ВУЗе / Н. Н. Гарас // Смоленский медицинский альманах. – 2016. – № 2. – С. 73–77.
12. Вайндорф-Сысоева М. Е. Методика дистанционного обучения: учебное пособие для ВУЗов / М. Е. Вайндорф-Сысоева, Т. С. Грязнова, В. А. Шитова; Под общ. ред. М. Е. Вайндорф-Сысоевой. – М.: Юрайт, 2018. – 194 с.

## DISTANCE LEARNING IN THE STUDY OF THE DISCIPLINE «MEDICAL CHEMISTRY» AT THE MEDICAL ACADEMY OF THE CRIMEAN FEDERAL UNIVERSITY

*Melnikova E. D., Sarnit E. A., Netreba E. E.*

*Institute of Biochemical Technologies, Ecology and Pharmacy (structural subdivision) of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Vernadsky Crimean Federal University", Simferopol, Russia  
E-mail: Lynx7575@mail.ru*

The article discusses the basic principles and methods of distance learning, as well as the corresponding computer-mediated communication methods used when working with first-year foreign students of the specialty «general medicine» in the study of the discipline «medical chemistry» at the Medical Academy of the Crimean Federal University. Based on the results of the work, the level of effectiveness of introducing distance learning technologies into the educational process was assessed; the main indicators of the quality of student learning were analyzed when passing distance learning modules in the discipline «medicinal chemistry» for the spring semester of 2019–2020 academic year, autumn and spring semesters of 2020–2021 academic year. The advantages and disadvantages of using distance learning are noted.

Based on the data obtained, we can conclude that distance learning has some advantages in comparison with traditional forms: distance learning allows for communication «student-teacher» allows for communication «student-teacher» using information and communication technologies, therefore it can be used during epidemiological situations; it is shown that the most optimal forms of distance learning are the following: download of training course materials via the Internet; electronic lectures; communication of students with teachers through electronic means of communication; online testing on educational platforms.

The use of distance learning has the following disadvantages: dependence of the learning process on technical equipment; students can complete some tasks at home, but the independence of their work is difficult to control; lack of practical work supervised by the teacher; the predominance of the written form of teaching and control of knowledge.

Based on the work carried out to assess the use of distance learning in the study of the «Medical Chemistry» discipline by foreign students of the Medical Academy named after S. I. Georgievsky (Simferopol) for the period 2019–2020 and 2020–2021, the following can be noted: when organizing distance learning, the principles of training remain the same, but the forms and methods of training undergo significant changes. According to the results of the intermediate certification in the discipline «Medical chemistry» of foreign students of the 1-st year for the specified period, it was found that the academic performance is more than 65 %, which corresponds to the average standard indicators taking into account other disciplines; however, the quality of academic performance is rather low (10–15 %). The analysis of the data obtained will make it possible to formulate proposals for improving the electronic educational environment of the university and, in the future, take into account the main problems of the effectiveness of online interaction between the teacher and students.

**Keywords:** studying at a university, Medical chemistry, training for foreign students, distance learning, distance educational technologies.

#### References

1. Levanov V. M., Pereverzencev E. A., Gavrilova A. H. Distance education in a medical university during the COVID-19 pandemic: the first experience through the eyes of students, *Journal of telemedicine and e-health*, **6** (2), 3 (2020). (in Russ.).
2. Lazarenko V. A., Kalytski P. V., Dremova N. B. Adaptation of higher medical education to the conditions of digitalization of health care, *Higher Education in Russia*, **29** (1), 105 (2020). (in Russ.).
3. Andreev A. A., Soldatkin V. I. *Distance learning: essence, technology, organization*, 43 p. (Publishing house MESI, Moscow, 2012). (in Russ.).
4. Shakhmaev N. M. *Technical means of distance learning*, 276 p. (Publishing house Znanie, Moscow, 2000). (in Russ.).
5. Polat E. S. *New pedagogical and information technologies in education system*, 135 p. (Vlados, Moscow, 2012). (in Russ.).
6. Eremeeva S. P. The problem of using distance educational technologies in the university, *Bulletin of the Chelyabinsk State University*, **13** (304), 168 (2013). (in Russ.).
7. Chemezov S. A. Using distance educational technologies for teaching students in the medical academy, *Scientific and educational bulletin "Health and education in the XXI century"*, **10** (4), 137 (2012). (in Russ.).
8. Reznichenko N. S., Taptigina E. V., Morozova T. D. Comparative analysis of the quality of distance learning of students, *Siberian medical review*, **7** (4), 14 (2012). (in Russ.).
9. *Preparation and conduct of training courses in correspondence-distance learning. Method. recommendations for teachers*, 64 p. / Ed. I. A. Tsikina. (Publishing house of S-PbSTU, St. Petersburg, 2012). (in Russ.).
10. Bushmina O. N. Distance learning in a medical university, *Azimuth of scientific research: pedagogy and psychology*, **10** (1) (34), 37 (2021). (in Russ.).
11. Garas N. N. The role of distance learning elements in teaching clinical disciplines in a medical university, *Smolensk medical almanac*, **2**, 73 (2016). (in Russ.).
12. Vayndorf-Sysoeva M. E., Gryaznova T. S., Schitova V. A. *Methodology of distance learning: a textbook for universities*, 194 p. (Yurayt, Moscow, 2018). (in Russ.).

**УДК 628.16.081.32**

## **СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ УТИЛИЗАЦИОННЫХ ПОРИСТЫХ УГЛЕРОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ И ДРЕВЕСНОГО АКТИВНОГО УГЛЯ**

*Работягов К. В., Сютра Ю. Н.*

*Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение)  
ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым  
E-mail: kotofey2002@mail.ru*

Изучено поглощение из водного раствора красителя метиленового голубого пористым углеродным материалом, полученным при утилизации изношенных резинотехнических изделий (ИРТИ) методом каталитического крекинга и углем активным, осветляющим. Проведено сравнение эффективности сорбентов между собой и с аналогичным материалом, полученным при пиролизе резиновой крошки из изношенных автомобильных шин. Рассчитаны зависимости адсорбционной активности от концентрации и времени воздействия.

**Ключевые слова:** пористый углеродный материал, сорбент.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время реализуется широкомасштабное воздействие на окружающую среду. Водные ресурсы подвергаются интенсивному загрязнению и техногенному воздействию. В результате этого резко ухудшаются потребительские свойства воды: она становится непригодной для питья; ограниченно пригодной для бытовых и промышленных нужд. Поэтому, все вопросы, связанные с технологиями её очистки являются приоритетными [1].

Одним из возможных направлений решения проблемы может стать технология очистки, основанная на использовании сорбентов на основе природных и искусственных материалов: отходов сельскохозяйственной переработки, горнодобывающей отрасли, утилизации пластмасс. Такой подход может снизить экологическую нагрузку и уменьшить технические издержки [2].

Возможным источником сорбентов, имеющих приемлемый уровень свойств, может стать переработка и утилизация широкого спектра ИРТИ [3]. В Российской Федерации количество одних только изношенных автопокрышек составляет около 850 тысяч тонн в год. Оцениваемый объем механической переработки при этом не превышает 17 %. До 20 % изношенных шин сжигается. Оставшаяся часть захоранивается или складировается. В то же время, экономическое значение использования отработанных шин возрастает в силу дороговизны и ограниченности добычи природных ресурсов [4].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы: краситель метиленовый голубой, производства САМАРАМЕДПРОМ; пористый углеродный материал (ПУМ), утилизационный, производство ООО «АРК-Ной»; уголь активный (АУ), осветляющий, древесный, порошкообразный ОУ-В, производство ООО «Форум-Химэнерго».

Измерение оптической плотности водных растворов проводилось на фотометре «ЭКСПЕРТ-003» при длине волны  $\lambda=525$  нм и  $\lambda=572$  нм согласно ГОСТ 4453-74 ГОСТ 4453-74 [5]. Навески образцов углей смачивали 1–2 каплями спирта для устранения их гидрофобности, чтобы исключить предварительное замачивание образца в воде [5]. Сорбционную активность образцов определяли фотоколориметрическим методом. Для этого к модельному раствору (с концентрациями метиленового голубого 3, 6, 9, 12 мг/л) добавляли исследуемые материалы (0,1 г на 25 мл) и перемешивали их в течение 3, 6, 9 и 12 мин.

На основании экспериментов были рассчитаны адсорбционная активность (А) и эффект очистки (Э), которые вычисляли по формулам:

$$A = \frac{(C_1 - C_2) \cdot W}{m}$$

$$\text{Э} = \frac{(A_1 - A_2) \cdot 100}{A_1}$$

где  $C_1$  и  $C_2$  – исходная и конечная концентрации, мг/л;

$W$  – объём раствора индикатора,  $\text{дм}^3$ ;

$m$  – масса сорбента, г;

$A_1$  и  $A_2$  – исходная и конечная оптические плотности.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анализа проб при различных длинах волн ( $\lambda$ ) и времени экспозиции (t) приведены в таблицах 1 и 2:

**Таблица 1**  
**Значения оптической плотности (А) растворов при  $\lambda=572$  нм**

Концентрация красителя (метиленовый голубой), мг/л										
	АУ					ПУМ				
t, мин	0	3	6	9	12	0	3	6	9	12
3	0,058	0,035	0,088	0,099	0,173	0,041	0,054	0,136	0,16	0,249
6	0,054	0,029	0,087	0,098	0,147	0,045	0,042	0,116	0,158	0,179
9	0,060	0,018	0,082	0,091	0,112	0,049	0,031	0,108	0,157	0,181
12	0,062	0,016	0,08	0,086	0,096	0,054	0,025	0,102	0,145	0,179

Таблица 2

Значения оптической плотности (A) растворов при  $\lambda=525$  нм

Концентрация красителя (метиленовый голубой), мг/л										
	АУ					ПУМ				
t, мин	0	3	6	9	12	0	3	6	9	12
3	0,056	0,002	0,106	0,135	0,172	0,038	0,007	0,137	0,147	0,209
6	0,054	0,001	0,073	0,133	0,15	0,033	0,005	0,088	0,121	0,176
9	0,053	0,000	0,065	0,131	0,148	0,031	0,002	0,08	0,112	0,125
12	0,053	0,000	0,060	0,127	0,146	0,031	0,001	0,072	0,106	0,093

По результатам измерений были построены графики зависимости эффекта очистки от времени (Рис. 1–4).

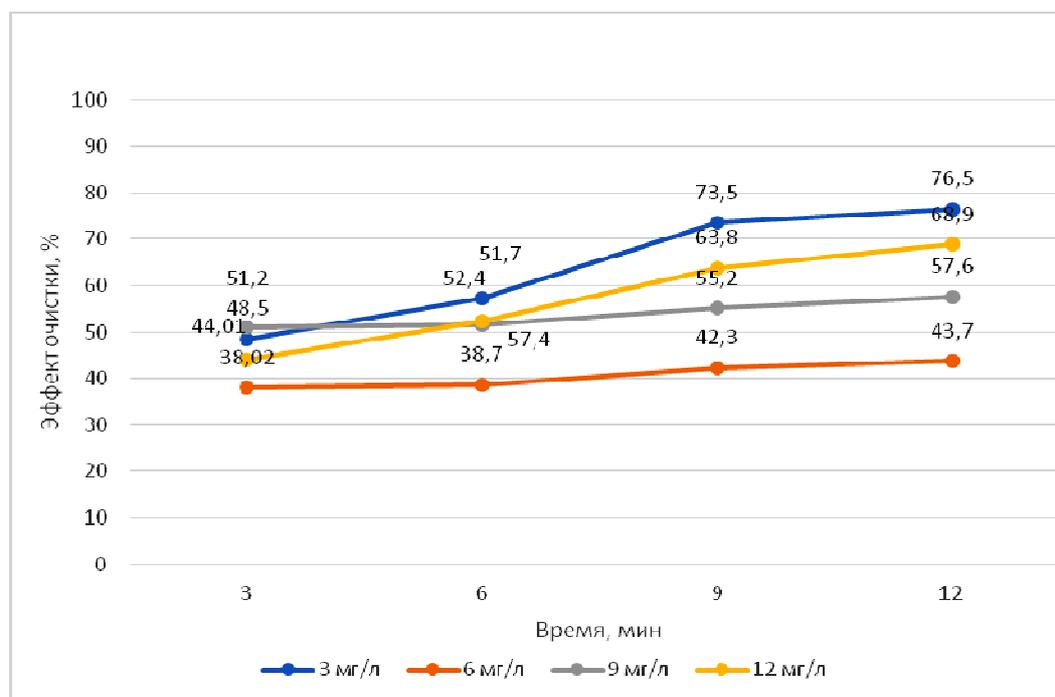


Рис. 1. Зависимость эффекта очистки АУ от концентрации модельного раствора и времени при длине волны  $\lambda=572$  нм.

При малых концентрациях красителя (Рис. 1) достигается почти полное извлечение его из раствора. По мере роста концентрации эффективность очистки уменьшается, достигая значений 60–70 % и лишь для концентрации 12 мг/л извлекается только половинное количество красителя. При этом незначительная зависимость эффекта очистки от времени позволяет сделать вывод о том, что равновесие устанавливается достаточно быстро.

Использование в качестве сорбента пористого углеродного материала даёт несколько иные результаты (Рис. 2).

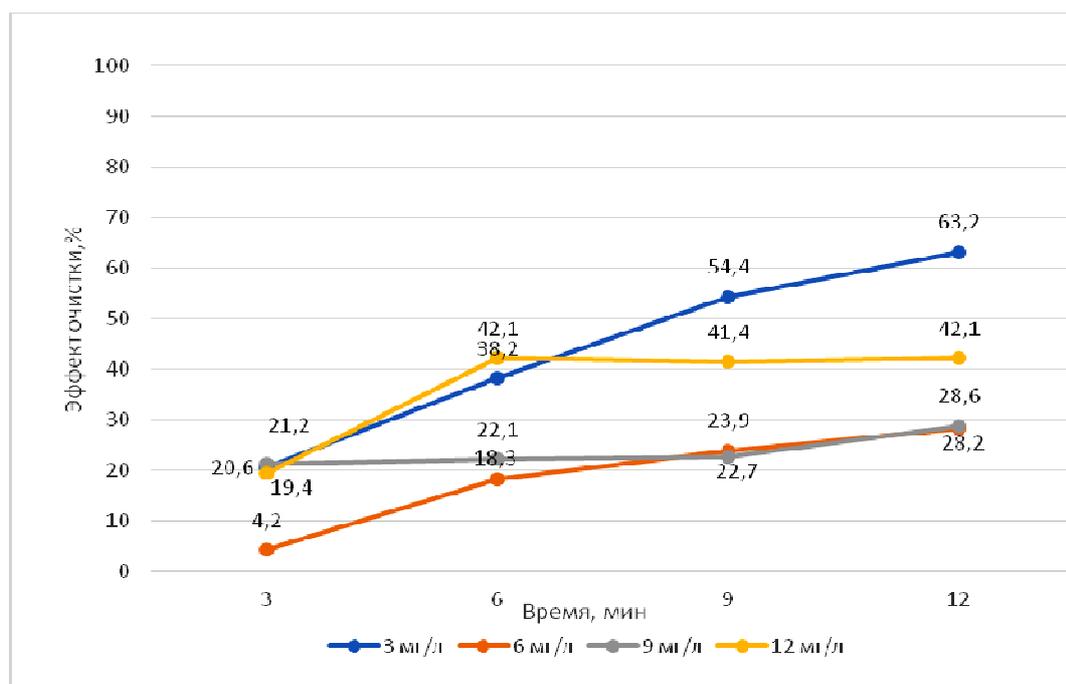


Рис. 2. Зависимость эффекта очистки ПУМ от концентрации модельного раствора и времени при длине волны  $\lambda=572$  нм.

При средних концентрациях красителя эффективность очистки не превышает 40 %, что может свидетельствовать о меньшей сорбционной ёмкости ПУМ в сравнении с промышленным АУ. Однако при небольших концентрациях, образец практически не уступает промышленным сорбентам.

При использовании светофильтра с длиной волны 525 нм для концентраций 6 и 12 мг/л, наблюдается аналогичная зависимость (Рис. 3.). Для малых концентраций сорбата регистрируется практически полное его извлечение из раствора.

Такой результат может быть объяснён тем, что данная длина волны отвечает участку спектра с резким изменением величины оптического поглощения. Поэтому применение светофильтра с  $\lambda=572$  нм более оправдано, чем с  $\lambda=525$  нм и 540 нм. Аналогичное завышение величины эффекта очистки при длине волны 525 нм наблюдается для всех растворов красителя с исследуемым ПУМ (Рис. 4).

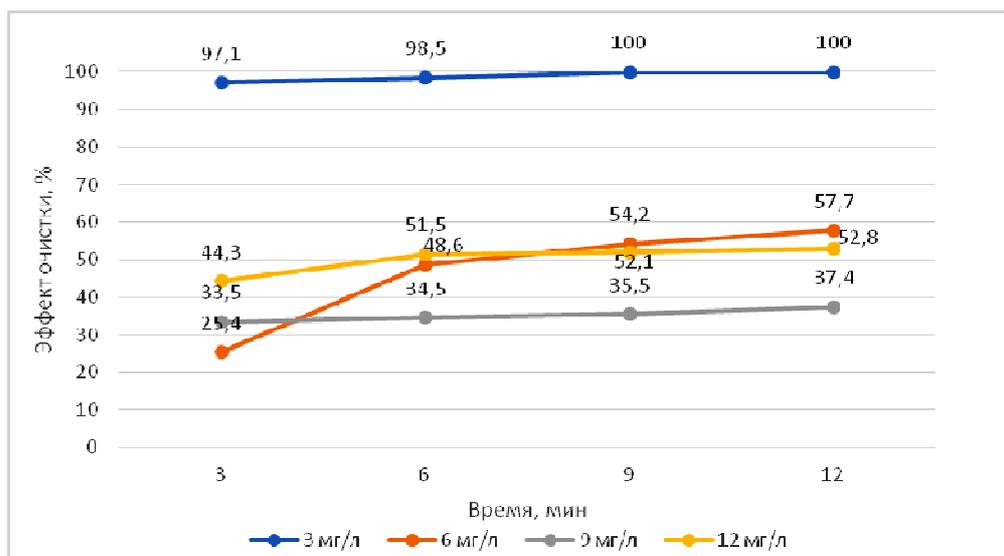


Рис. 3. Зависимость эффекта очистки АУ от концентрации модельного раствора и времени при длине волны  $\lambda=525$  нм.

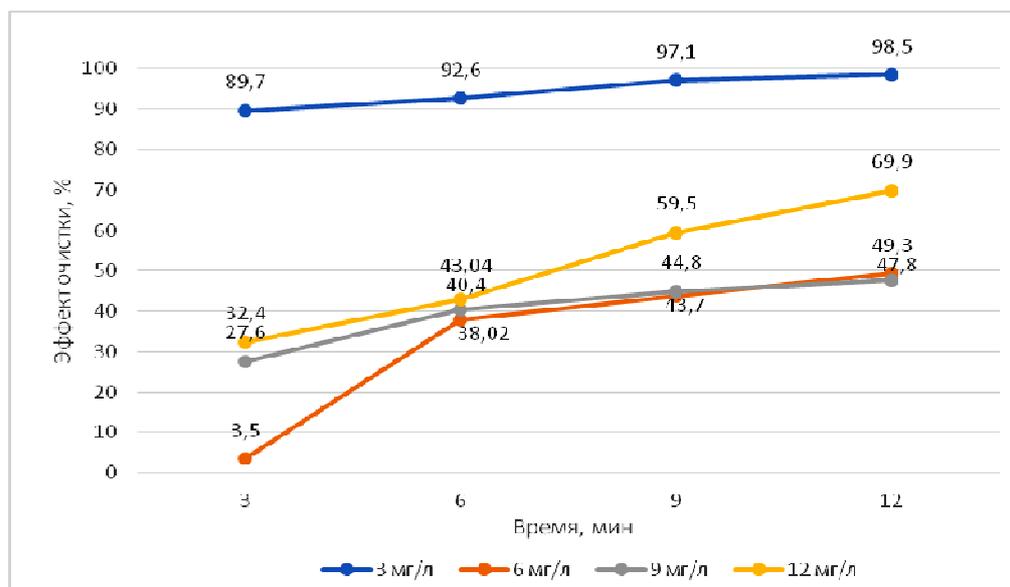


Рис. 4. Зависимость эффекта очистки ПУМ от концентрации модельного раствора и времени при длине волны  $\lambda=525$  нм.

В целом, анализ зависимости эффекта очистки для растворов различных концентраций при выдержках от 3 до 12 мин позволяет заметить, что при малых концентрациях эффект очистки АУ, используемого в качестве контрольного, превосходит ПУМ более чем на 20 % в средних показателях. При больших

концентрациях разница снижается до 15 %, что можно считать сопоставимым результатом.

Для сравнения показателей исследуемого ПУМ с промышленным АУ была рассчитана адсорбционная активность и построены графики её зависимости от времени (Рис. 5–12) при  $\lambda=525$  нм и  $\lambda=572$  нм.

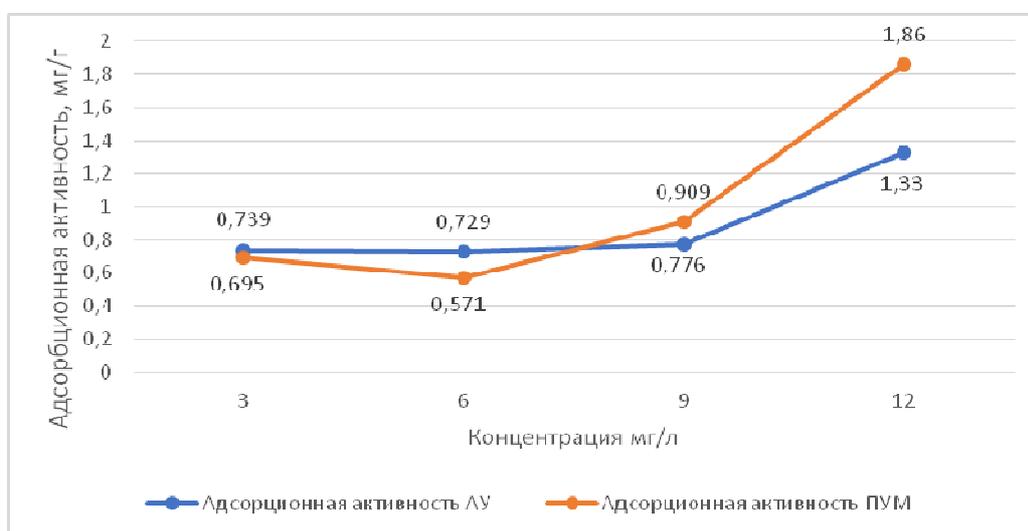


Рис. 5. График зависимости адсорбционной активности от времени (6 мин) при длине волны  $\lambda=525$  нм.

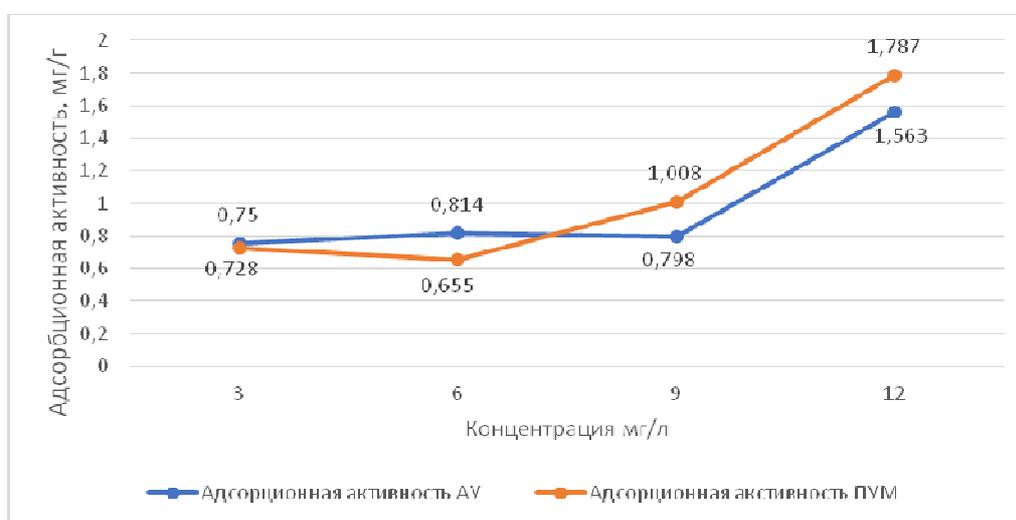


Рис. 6. График зависимости адсорбционной активности от времени (9 мин) при длине волны  $\lambda=525$  нм.

При времени экспозиции в 12, 9 и 6 мин регистрируется сходный результат: 0,1 г сорбента, при концентрациях метиленового голубого от 3 до 9 мг/л извлекает практически весь имеющийся краситель, что говорит о раннем достижения равновесия в системе. Для концентрации 12 мг/л значения  $\Delta$  выше, что может быть объяснено насыщением сорбента красителем.

Сравнивая графики зависимости для времени экспозиции 9 и 12 мин (Рис. 6, 7, 10, 11) можно отметить, что для малых концентраций достигается одинаковое поглощение и остаточные концентрации красителя малы.

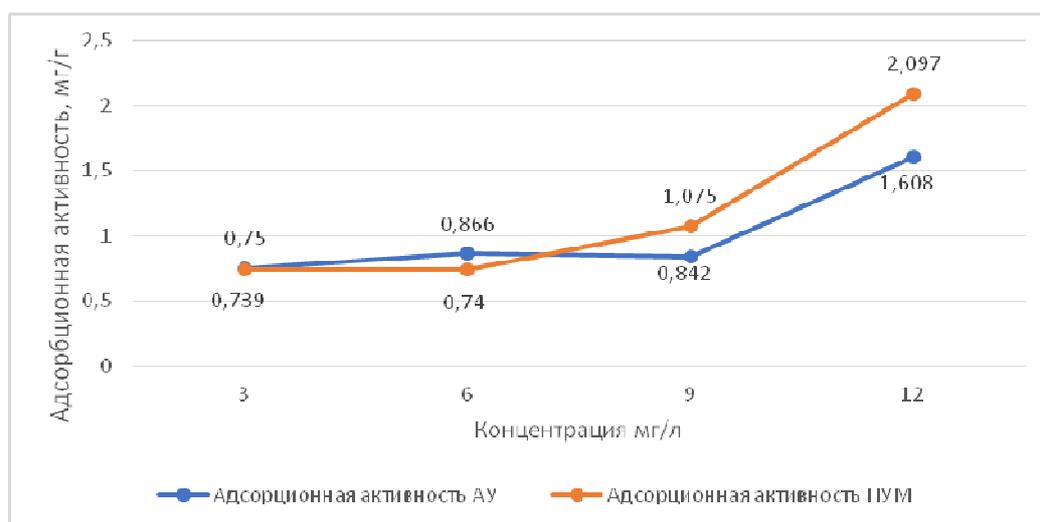


Рис. 7. График зависимости адсорбционной активности от времени (12 мин) при длине волны  $\lambda=525$  нм.

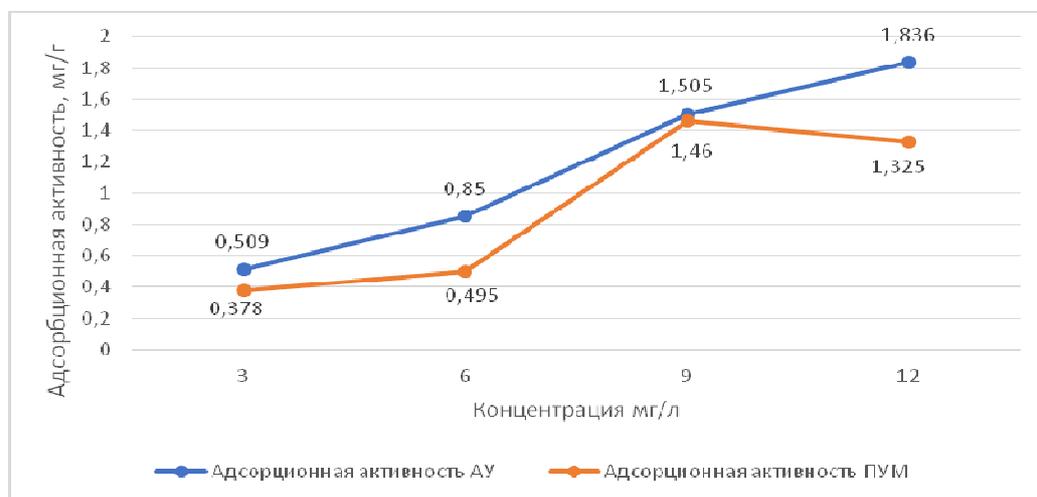


Рис. 8. График зависимости адсорбционной активности от времени (3 мин) при длине волны  $\lambda=572$  нм.

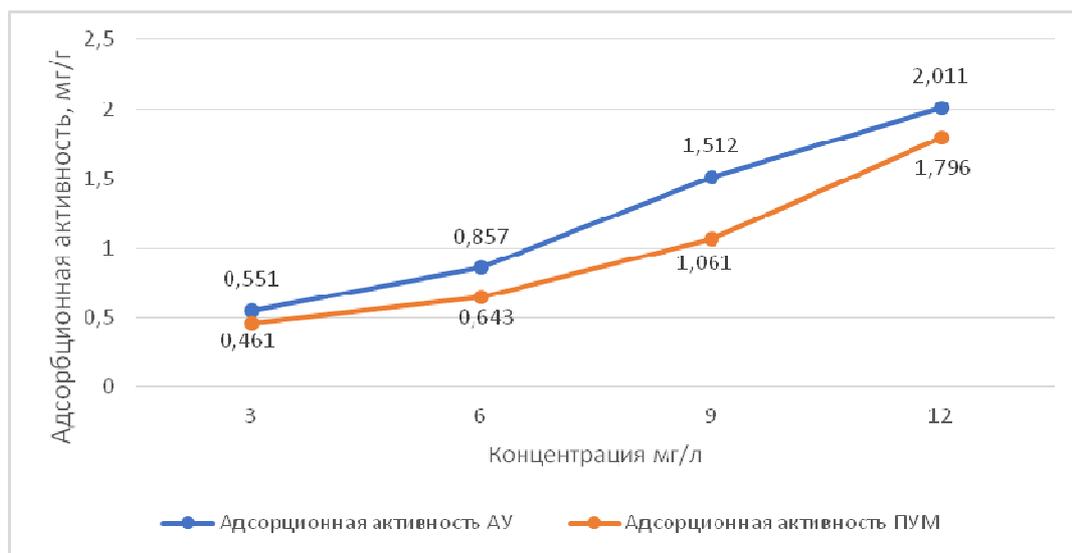


Рис. 9. График зависимости адсорбционной активности от времени (6 мин) при длине волны  $\lambda=572$  нм.

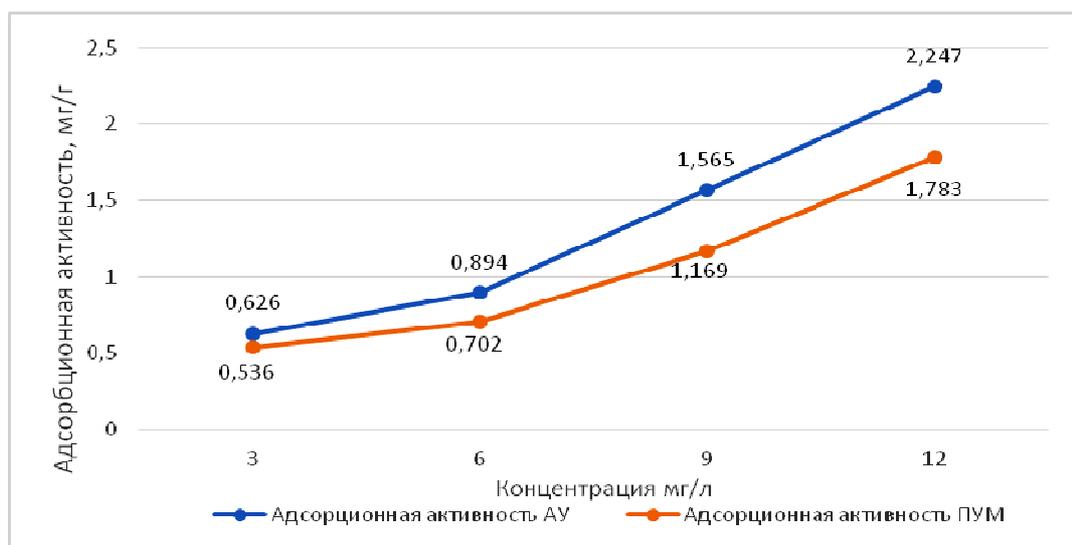


Рис. 10. График зависимости адсорбционной активности от времени (9 мин) при длине волны  $\lambda=572$  нм.

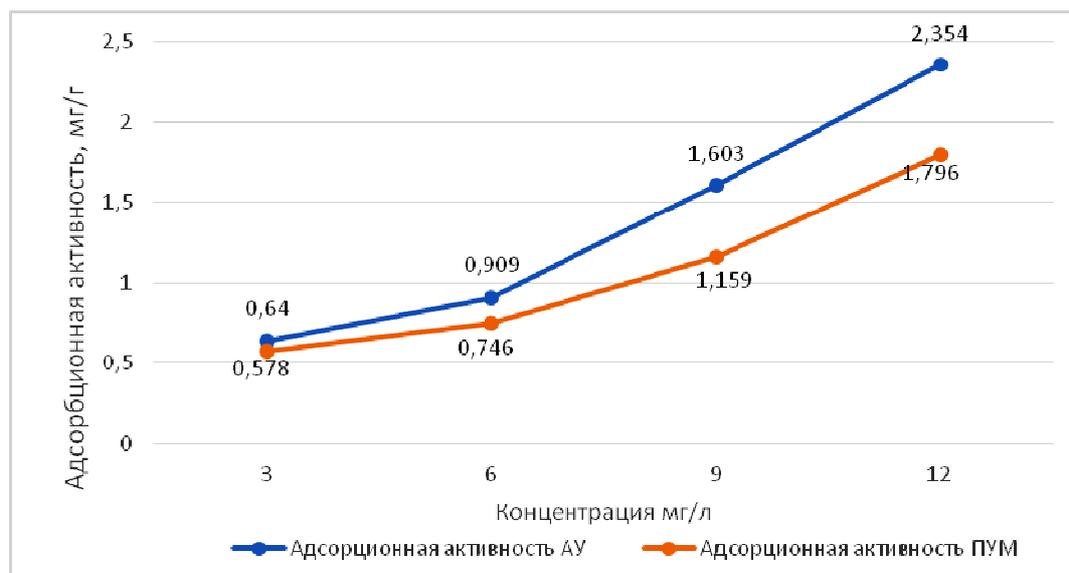


Рис. 11. График зависимости адсорбционной активности от времени (12 мин) при длине волны  $\lambda=572$  нм.

При этом влияние длины волны принципиально не сказывается на количественные характеристики исследуемого ПУМ в сравнении с АУ, демонстрируя лишь превосходство последнего в скорости достижения равновесия.

Активированный уголь (Рис. 1 и 3) в сравнении с используемым пористым углеродным материалом (Рис. 2 и 4) обеспечивает более высокую сорбционную активность, величина которой возрастает с увеличением концентрации исходного раствора. Рассматривая адсорбционную активность сорбентов, стоит отметить, что с увеличением времени взаимодействия до 12 мин разница в показателях постепенно уменьшается.

Сравнение полученных результатов с литературными данными для берёзового активированного угля (Рис. 12) [6] демонстрирует воспроизводимость результатов: сравниваемые активные угли дают практически идентичные значения, в то же время ПУМ (Рис. 4.) позволяет достичь большего эффекта очистки в сравнении с пиролизным углеродом (Рис. 13). Стоит отметить, что при любых концентрациях ПУМ имеет меньшую адсорбционную способность, чем БАУ.

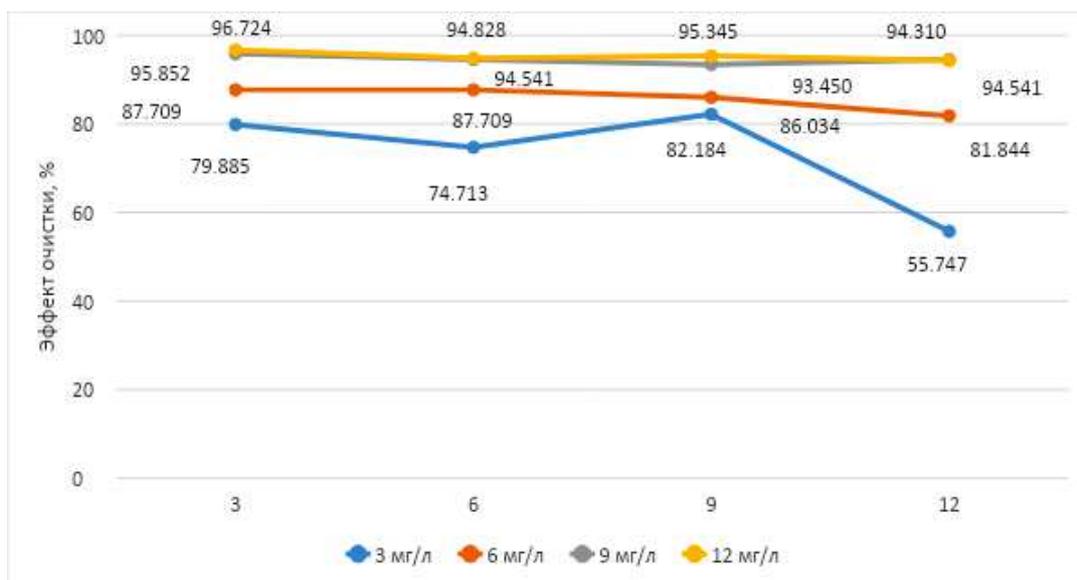


Рис. 12. Зависимость эффекта очистки с использованием березового активированного угля от концентрации модельного раствора и времени.

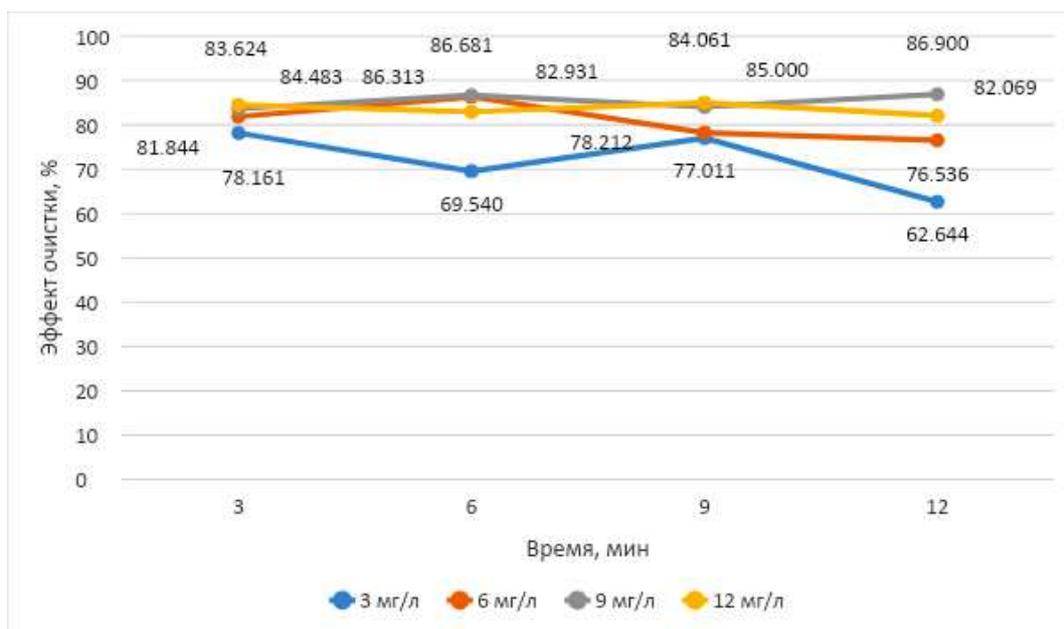


Рис. 13. Зависимость эффекта очистки с использованием твердого углеродного остатка от концентрации модельного раствора и времени.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Материалы, полученные при переработке изношенных резинотехнических изделий, проявляют несколько меньшую сорбционную способность в сравнении с активированными углями, что может быть связано с меньшими значениями удельной поверхности.
2. Низкая себестоимость утилизационных углей делает их конкурентно способным при крупнотоннажном использовании.
3. Пористый углеродный материал позволяет получить эффект очистки, сопоставимый с промышленными углями.

## Список литературы

1. Онищенко Г. Г. О состоянии питьевого водоснабжения в Российской Федерации / Г. Г. Онищенко // Гигиена и санитария. – 2006. № 4. – С. 3–7.
2. Зенцов В. Н. Замкнутые системы водоснабжения и водоотведения малых населенных пунктов / В. Н. Зенцов, В. Д. Назаров, Ю. Ф. Абдрахманова, И. В. Лапшакова // Вода: проблемы и решения. – 2011. – С. 49–53.
3. Работягов К. В. Способ переработки резиносодержащих отходов № 57640. К. В. Работягов, А. И. Тихонов // Заявка на полезную модель № u 2010 09017 от 19.07.2010. Бюл. № 5 10.03.2011 Украина МПК 2011/01 B29B 17/00.
4. Папин А. В. Пути утилизации отработанных автошин и анализ возможности использования технического углерода пиролиза отработанных автошин / А. В. Папин, А. Ю. Игнатова, Е. А. Макаревич // Вестник Кузбасского государственного технического университета. Химические технологии – 2015. – С. 96–100.
5. ГОСТ 4453-74 ГОСТ 4453-74. Уголь активированный, осветляющий, порошкообразный. Технические условия.
6. Асташина М. В. Утилизация твердого углеродного остатка пиролиза и резиновой крошки изношенных шин для очистки сточных вод. / М. В. Асташина, А. А. Булатова // Строительство и техногенная безопасность. – 2019. – Т. 69, № 17. – С. 117–124.

## COMPARISON OF THE EFFICIENCY OF UTILIZATION POROUS CARBON MATERIALS WITH ACTIVATED CHARCOAL

*Rabotyagov K. V., Syutra Y. N.*

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea  
E-mail: kotofey2002@mail.ru*

The efficiency of carbon sorbents obtained from various raw materials is determined. The study was based on measuring the adsorption of methylene blue dye from an aqueous solution. The method of measuring optical density using a photometer is used.

As a base sample, active, brightening, wood, powdered, industrial coal was used. As a test sample, a porous carbon material obtained by catalytic cracking of worn car tires was used. The dependences of the adsorption activity on the concentration and time of exposure are calculated. The measurement results are consistent with the literature data for activated carbon and solid carbon residue of car tire recycling by pyrolysis.

At low concentrations of the dye, almost complete extraction of it from the solution is achieved. As the concentration increases, the purification efficiency decreases, reaching values of 60–70 %, and only for a concentration of 12 mg/L, only half of the dye is extracted. At the same time, the insignificant dependence of the cleaning effect on time allows us to conclude that the equilibrium is established fairly quickly. At average dye concentrations, the purification efficiency does not exceed 40 %, which may indicate a lower sorption capacity of the carbon material in comparison with industrial activated carbon. However, at low concentrations, the sample is practically not inferior to industrial sorbents. Considering the adsorption activity of sorbents, it is worth noting that with an increase in the interaction time to 12 minutes, the difference in indicators gradually decreases.

The porous carbon material obtained by low-temperature catalytic cracking makes it possible to achieve a greater purification effect in comparison with carbon obtained by pyrolysis. This can make its use effective in large-scale production.

Activated carbons exhibit higher sorption activity in comparison with materials obtained during the processing of worn rubber products, which may be due to a larger specific surface area.

The use of sorbents of this type can reduce the cost of water purification after using it in production. This will also reduce the load on the ecosystem. Water purified from the impurities contained is suitable for reuse in production.

Sorbents made from plant raw materials and agricultural waste have found the greatest use. But their number is limited. The use of worn-out car tires as a raw material allows us to solve an equally important task – the disposal of a dangerous category of waste.

**Keywords:** porous carbon material, sorbent.

#### References

1. Onishchenko G. G. On the state of drinking water supply in the Russian Federation *Hygiene and sanitation*. 4, 3 (2006). (in Russ.).
2. Zentsov V. N., Nazarov V. D., Abdrakhmanova Yu. F., Lapshakova I. V. Closed systems of water supply and sanitation of small settlements / *Water: problems and solutions*. 49 (2011). (in Russ.).
3. Method of processing rubber-containing waste No. 57640. Application for utility model No. u 2010 09017 dated 07/19/2010. Byul. No. 5 10.03.2011 Ukraine IPC 2011/01 B29B 17/00. (in Ukr.)
4. Papin A. V., Ignatova A. Yu., Makarevich E. A. Ways to utilize used tires and analyze the possibility of using carbon black for the pyrolysis of used tires. *Chemical Technologies* (2015). (in Russ.)
5. GOST 4453-74. Activated carbon, brightening, powdery. Technical conditions. (in Russ.)
6. Bulatova A. A., Astashina M. V. Disposal of solid carbon residual pyrolysis and rubber crush of wire tires for waste water treatment. *Construction and Technogenic Safety*. 69(17), 117 (2019). (in Russ.)

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

- Александрова  
Светлана Валерьевна** Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: motherlode2001@mail.ru
- Александрова  
София Евгеньевна** Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: SofiAlex8@yandex.ru
- Андреева  
Светлана  
Владимировна** ФГБОУ ВО «ЧелГУ», кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета
- Батиевская  
Анастасия  
Владимировна** Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: a.batievskaya1@gmail.com
- Батура  
Инна Александровна** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ордена трудового красного знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН», кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории фитореабилитации человека, e-mail: speaker@mail.ru.
- Безбородов  
Николай Васильевич** ФГБОУ ВО БелГАУ, доктор биологических наук, профессор кафедры незаразной патологии
- Витер  
Татьяна Вадимовна** ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского РАН», младший научный сотрудник, e-mail: tatjana-viter@rambler.ru
- Вяткина  
Оксана Валерьевна** Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры общей химии, e-mail: oksana\_vyatkina@list.ru
- Герасимова  
Елена Олеговна** ФГАОУ ВО «Волгоградский государственный университет», студент кафедры биологии и биоинженерии, e-mail: lg6131602@gmail.com

<b>Девятова Екатерина Викторовна</b>	ФГБОУ ВО «ЧелГУ», ассистент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета
<b>Джелдубаева Эльвиза Рашидовна</b>	Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
<b>Ершова Татьяна Сергеевна</b>	ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет», кандидат биологических наук, доцент кафедры гидробиология и общая экология, e-mail: ershova_ts@mail.ru
<b>Забегаяев Иван Андреевич</b>	ФГБУН ФИЦ «Морской гидрофизический институт РАН», младший научный сотрудник отдела Биогеохимии моря
<b>Зайцев Вячеслав Федорович</b>	ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет», доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Заслуженный деятель науки РФ, зав. кафедрой гидробиология и общая экология
<b>Ибрагимова Эвелина Энверовна</b>	ГБОУВО РК «Крымский инженерно-педагогический университет имени Февзи Якубова», кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой биологии, экологии и безопасности жизнедеятельности
<b>Иванов Андрей Алексеевич</b>	Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева, аспирант кафедры зоологии, e-mail: andrew.01121899@gmail.com
<b>Иволга Роман Александрович</b>	Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, инженер кафедры зоологии, e-mail: romanivolga@gmail.com
<b>Игнатова Ирина Викторовна</b>	ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», преподаватель кафедры генетики, цитологии и биоинженерии, медико-биологический факультет, e-mail: irina777.84@list.ru
<b>Изнайрова Мария Дмитриевна</b>	Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», магистр I курса
<b>Каверина Наталья Викторовна</b>	ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», кандидат географических наук, доцент кафедры геоэкологии и мониторинга окружающей среды, факультет географии, геоэкологии и туризма, e-mail: knataliy@mail.ru

<b>Калаев Владислав Николаевич</b>	ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры генетики, цитологии и биоинженерии, медико-биологический факультет, e-mail: Dr_Huixs@mail.ru
<b>Калаева Елена Анатольевна</b>	ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биофизики и биотехнологии, медико-биологический факультет, e-mail: kalaevae@gmail.com
<b>Кандагура Екатерина Андреевна</b>	Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», магистр 1 курса
<b>Кидов Артем Александрович</b>	Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, кандидат биологических наук, доцент, и. о. зав. кафедрой зоологии, e-mail: kidov_a@mail.ru
<b>Кидова Елена Александровна</b>	Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, инженер кафедры зоологии, e-mail: kidova_ea@rgau-msha.ru
<b>Кондратова Татьяна Эдуардовна</b>	Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева, инженер кафедры зоологии, e-mail: t.condratowa2016@yandex.ru
<b>Коновальчик Мария Алексеевна</b>	ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, соискатель кафедры общей и клинической биохимии №1, e-mail: mariya_konvalchik@mail.ru
<b>Корниенко Владимир Олегович</b>	ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», старший преподаватель кафедры биофизики, e-mail: kornienkovo@mail.ru
<b>Крылов Павел Андреевич</b>	ФГАОУ ВО «Волгоградский государственный университет», кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии и биоинженерии, e-mail: krylov.pavel@volsu.ru
<b>Лещуков Константин Александрович</b>	ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет имени Н. В. Парахина», доктор сельскохозяйственных наук, доцент, заведующий кафедрой «Продукты питания животного происхождения», e-mail: kostl77@mail.ru
<b>Макаров Михаил Валериевич</b>	ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского РАН», кандидат биологических наук, научный сотрудник e-mail: mihaliksevast@inbox.ru

- Мамаев  
Андрей Валентинович** ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет имени Н. В. Парахина», доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры «Продукты питания животного происхождения», e-mail: shatone@mail.ru
- Мельникова  
Екатерина Дмитриевна** Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры медицинской и фармацевтической химии
- Микашинович  
Зоя Ивановна** ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой общей и клинической биохимии №1
- Миронюк  
Ирина Сергеевна** Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», преподаватель кафедры физиологии человека и животных и биофизики
- Михайлова  
Анна Андреевна** Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», старший преподаватель кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: anna.kulenkova@gmail.com
- Мулик  
Александр Борисович** ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. С. Н. Голикова» ФМБА России, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии, e-mail: mulikab@mail.ru
- Наговская  
Виктория Валерия  
Владимировна** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ордена трудового красного знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН», инженер-исследователь лаборатории фитореабилитации человека, e-mail: miltvaleria@gmail.com
- Назаров  
Владимир Викторович** Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники, физиологии растений и биотехнологии
- Нетреба  
Евгений Евгеньевич** Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры общей химии

<b>Нохрин Денис Юрьевич</b>	ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета
<b>Орехова Наталья Александровна</b>	ФГБУН ФИЦ «Морской гидрофизический институт РАН», кандидат географических наук, Зав. отделом Биогеохимии моря
<b>Павленко Владимир Борисович</b>	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», заведующий кафедрой общей психологии и психофизиологии, e-mail: vpav55@gmail.com
<b>Павленко Дмитрий Владимирович</b>	Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: pavlenkoprog@gmail.com
<b>Полубояринов Павел Аркадьевич</b>	Пензенский государственный университет, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры «Общая и клиническая фармакология» Медицинского института
<b>Работягов Константин Васильевич</b>	Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры общей химии
<b>Сарнит Елена Александровна</b>	Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры общей химии
<b>Сеин Олег Борисович</b>	ФГБОУ ВО «Курская государственная сельскохозяйственная академия имени И. И. Иванова», доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры хирургии и терапии
<b>Семенова Елена Федоровна</b>	Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, профессор кафедры фармации
<b>Семенюгин Владимир Владимирович</b>	ФГБОУ ВО БелГАУ, доктор биологических наук, профессор кафедры морфологии, физиологии, инвазионной и инфекционной патологии
<b>Субботина Нигина Нобоваровна</b>	Курская ГСХА имени И.И. Иванова, аспирант кафедры хирургии и терапии

<b>Сютра Юлия Николаевна</b>	Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», бакалавр кафедры общей химии
<b>Талдыкина Анастасия Анатольевна</b>	ФГБОУ ВО БелГАУ, аспирант кафедры морфологии, физиологии, инвазионной и инфекционной патологии факультета ветеринарной медицины
<b>Телесманич Наталья Робертовна</b>	ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, доктор биологических наук, профессор кафедры общей и клинической биохимии №1
<b>Тонковцева Валентина Валериевна</b>	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН». кандидат психологических наук, старший научный сотрудник лаборатории фитореабилитации человека, e-mail: valyalta@rambler.ru
<b>Туманянц Каринэ Николаевна</b>	Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, директор Центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика», e-mail: timur328@gmail.com
<b>Филиппова Юлия Юрьевна</b>	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет», кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета
<b>Харченко Николай Николаевич</b>	ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова», доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой экологии, защиты леса и лесного охотоведения, лесной факультет, e-mail: forest.vrn@gmail.com
<b>Чаплыгин Владимир Александрович</b>	Волжско-Каспийский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («КаспНИРХ»), кандидат биологических наук, заведующий лабораторией осетровых рыб
<b>Чмелева Светлана Ивановна</b>	Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники и физиологии растений и биотехнологий

- Чуян  
Елена Николаевна**      Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных и биофизики
- Шатыр  
Юлия Александровна**      ФГАОУ ВО «Волгоградский государственный университет», кандидат биологических наук, магистрант кафедры экологии и природопользования, e-mail: yuliashatyr@gmail.com
- Шульгин  
Виктор Федорович**      Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», доктор химических наук, профессор кафедры общей химии
- Ярмолюк  
Наталья Сергеевна**      Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
- Ярош  
Александр  
Михайлович**      Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН», доктор медицинских и кандидат биологических наук, заведующий отделом технических культур и биологически активных веществ, e-mail: a888my@mail.ru

## СОДЕРЖАНИЕ

### БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

- Ершова Т. С., Зайцев В. Ф., Чаплыгин В. А.**  
ОСОБЕННОСТИ МИГРАЦИИ СВИНЦА В ЭКОСИСТЕМЕ  
КАСПИЙСКОГО МОРЯ..... 3
- Ибрагимова Э. Э.**  
САЛЬВОДИАГНОСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ  
ПРИ ДИСТАНЦИОННОМ ОБУЧЕНИИ ..... 23
- Игнатова И. В., Калаев В. Н., Каверина Н. В., Калаева Е. А., Харченко Н. Н.**  
КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ В  
ХОПЕРСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ ПРИРОДНОМ ЗАПОВЕДНИКЕ ..... 32
- Кидов А. А., Иволга Р. А., Кондратова Т. Э., Иванов А. А., Кидова Е. А.**  
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ  
ДВУХ ВИДОВ ПЕРЕДНЕАЗИАТСКИХ ЗЕЛЕННЫХ ЛЯГУШЕК (AMPHIBIA, ANURA,  
RANIDAE, PELOPHYLAX)..... 48
- Корниенко В. О., Калаев В. Н., Харченко Н. Н.**  
МЕХАНИЧЕСКАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ СТАРОВОЗРАСТНЫХ ДЕРЕВЬЕВ  
*QUERCUS ROBUR* L. В УСЛОВИЯХ ГОРОДА ДОНЕЦКА..... 60
- Krylov P. A., Gerasimova E. O., Shatyr Y. A., Mulik A. B.**  
VIRTUAL SCREENING S NP OF GENES ASSOCIATED WITH THE RISK OF USING  
PSYCHOACTIVE SUBSTANCES TAKING INTO ACCOUNT DIFFERENT  
PHENOTYPE SIGNS ..... 69
- Макаров М. В.**  
ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ PYRAMIDELLIDAE (GASTROPODA,  
MOLLUSCA) У ПОБЕРЕЖИЙ КРЫМА И КАВКАЗА ..... 79
- Макаров М. В., Витер Т. В.**  
ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МАКРОЗООБЕНТОСЕ  
УСТЬЯ РЕКИ ЧЕРНОЙ И ВЕРШИНЫ СЕВАСТОПОЛЬСКОЙ БУХТЫ  
(ЮГО-ЗАПАДНЫЙ КРЫМ) ..... 92
- Миронюк И. С., Чуян Е. Н.**  
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ КАРДИОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ  
КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ  
С МЕТАЛЛАМИ ..... 108
- Павленко Д. В., Чуян Е. Н., Михайлова А. А., Александрова С. В.,  
Александрова С. Е., Батиевская А. В., Павленко В. Б.**  
ДИНАМИКА РИТМОВ ЭЭГ ПРИ ВОСПРИЯТИИ НЕЙТРАЛЬНЫХ И  
УЛЫБАЮЩИХСЯ ЛИЦ ..... 134
- Полубояринов П. А., Семенова Е. Ф., Назаров В. В.**  
ВЛИЯНИЕ ЭУПАРЕНА МУЛЬТИ И ДАФС-25 НА ПРОРАСТАНИЕ КОНИДИЙ,  
БИОМАССУ И АЗОТИСТЫЙ ОБМЕН ГРИБА *ASPERGILLUS NIGER* TIEGH..... 144

<b>Сеин О. Б., Субботина Н. Н., Мамаев А. В., Лещуков К. А.</b> РОЛЬ ПОЛОВЫХ ФЕРОМОНОВ В ХИМИЧЕСКОЙ КОММУНИКАЦИИ СВИНЕЙ .....	158
<b>Талдыкина А. А., Семенютин В. В., Безбородов Н. В.</b> ВЛИЯНИЕ ПОДКИСЛИТЕЛЯ «БИСАЛТЕК» НА ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МЫШЦ, МОРФО–БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ЦЫПЛЯТ–БРОЙЛЕРОВ .....	168
<b>Телесманич Н. Р., Коновальчик М. А., Микашинович З. И.</b> ИНФОРМАТИВНОСТЬ ИЗМЕНЕНИЙ УРОВНЯ IGE К ИНСУЛИНУ ПРИ НАРУШЕНИЯХ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА .....	177
<b>Филиппова Ю. Ю., Нохрин Д. Ю., Девятова Е. В., Андреева С. В.</b> ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДА ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ – МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ МИКРОБНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ САНИТАРНО-ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ .....	190
<b>Чмелёва С. И., Джелдубаева Э. Р., Туманянц К. Н., Ярмолук Н. С.</b> АДАПТОГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА СИЛИПЛАНТ НА <i>TRITICUM AESTIVUM</i> L. В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО ДЕФИЦИТА .....	209
<b>Ярош А. М., Батура И. А., Тонковцева В. В., Наговская В. В. В.</b> ВЛИЯНИЕ ЭФИРНОГО МАСЛА КОТОВНИКА КОШАЧЬЕГО НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ЛЮДЕЙ С ОПТИМАЛЬНЫМ АРТЕРИАЛЬНЫМ ДАВЛЕНИЕМ .....	224
<b>ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ</b>	
<b>Вяткина О. В., Кандагура Е. А., Изнаунова М. Д.</b> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРИРОДНЫХ МЕТАЛЛОПОРФИРИНОВ В ФОТОКАТАЛИЗЕ .....	234
<b>Забегаяев И. А., Шульгин В. Ф., Орехова Н. А.</b> ПРИМЕНЕНИЕ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ДЛЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА МОРСКИХ ЭКОСИСТЕМ .....	242
<b>Мельникова Е. Д., Сарнит Е. А., Нетреба Е. Е.</b> ДИСТАНЦИОННОЕ ОБУЧЕНИЕ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ДИСЦИПЛИНЫ «МЕДИЦИНСКАЯ ХИМИЯ» В МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ КРЫМСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА .....	255
<b>Работягов К. В., Сютра Ю. Н.</b> СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ УТИЛИЗАЦИОННЫХ ПОРИСТЫХ УГЛЕРОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ И ДРЕВЕСНОГО АКТИВНОГО УГЛЯ .....	265
<b>СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ</b> .....	277
<b>СОДЕРЖАНИЕ</b> .....	284