



2019

*Теоретическая
и прикладная*

ЭКОЛОГИЯ

ISSN 1995-4301 (PRINT)
ISSN 2618-8406 (ONLINE)

№ 4

**Theoretical and
Applied Ecology**



**ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ
ПРОБЛЕМЫ
ЭКОЛОГИИ**

**МЕТОДОЛОГИЯ
И МЕТОДЫ
ИССЛЕДОВАНИЙ.
МОДЕЛИ
И ПРОГНОЗЫ**

**МОНИТОРИНГ
ПРИРОДНЫХ
И АНТРОПОГЕННО
НАРУШЕННЫХ
ТЕРРИТОРИЙ**

**ХИМИЯ ПРИРОДНЫХ
СРЕД И ОБЪЕКТОВ**

**ПОПУЛЯЦИОННАЯ
ЭКОЛОГИЯ**

**ЭКОЛОГИЗАЦИЯ
ПРОИЗВОДСТВА**

АГРОЭКОЛОГИЯ

ХРОНИКА

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

<http://envjournal.ru>



Директор ООО «СельхозБиоГаз»
Фалевская Марина Анатольевна

Мы делаем мир чище...

Когда-то актуальное, а потом надолго забытое понятие «безотходных производств» сегодня вновь возвращается в повестку дня. Рыночный спрос на экологичные технологии и законодательная поддержка «зелёных» инициатив стимулировали появление целого ряда компаний, специализирующихся на работе с органическими отходами. Компания «СельхозБиоГаз» - один из представителей «зелёного» инноваторства.

Компания «СельхозБиоГаз» с 2011 г. занимается разработкой эффективной технологии ускоренной переработки органических отходов. После двух лет исследовательских работ в 2013 г. был запущен первый биогазовый комплекс в селе Истобенск Оричевского района. На сегодняшний день компания старается выйти на серийное производство комплексов и имеет действующие объекты в ряде регионов Российской Федерации.

Суть технологии – в ускоренной переработке органических отходов внутри био реактора (12–14 дней) анаэробным способом без доступа кислорода. Для этого из исходного сырья выводится ассоциация аборигенных микроорганизмов, которая насыщается штаммами метаногенов и целлюлолитиков.

Комплекс позволяет получить два конечных продукта – биогаз (горючий газ с голубым пламенем, получаемый из любой биомассы путём анаэробного сбраживания) и биоудобрение (стимулятор роста растений, экологически чистый органический продукт без содержания семян сорняков и патогенов).

Получаемый биогаз многофункционален. Его можно использовать в газовом котле для получения водогрейного тепла, в газовой плите для приготовления пищи, в газовом электрогенераторе для получения электрической энергии, в когенерационной установке с одновременным получением

тепла от охлаждения двигателя внутреннего сгорания и электрической энергии, в баллонах высокого давления с целью заправки оборудованного автотранспорта газомоторным топливом.

Удобрения из органических отходов являются эффективной альтернативой традиционным видам удобрений и обеспечивают прирост урожайности от 15 до 75%. В состав биоудобрений, получаемых из навоза крупного рогатого скота входит 3,7% азота, 2,6% фосфора, 9,4% калия в пересчёте на сухое вещество, макро- и микроэлементы (молибден, бор, медь, цинк, марганец, железо в легкодоступном виде), консорциум ризосферных микроорганизмов представителей родов *Klebsiella*, *Pseudomonas* и *Bacillus*, активные биологические стимуляторы роста растений класса ауксинов, повышающие выход урожая, а также гуминоподобные соединения для структурирования плодородного слоя почвы.

Проекты компании «СельхозБиоГаз» востребованы у аграрных предприятий, в частности животноводческих, птицеводческих и растениеводческих хозяйств, у предприятий пищевой промышленности, в том числе алкогольных производств и сахарных заводов, а также у очистных сооружений.

Партнерство «СельхозБиоГаза» с ведущими российскими научно-исследовательскими институтами и компаниями, работающими в сфере биотехнологий, обеспечивают заказчику комплексный подход к проработке проектов и синергетический эффект от итогового результата. Заказчик в одном месте получает проектно-изыскательскую и сметно-строительную документацию, разработку технологического процесса, выращенную и адаптированную под отходы ассоциацию микроорганизмов, строительные и монтажные работы, выход на проектную мощность, гарантийное обслуживание и сервисное обслуживание проекта.

ООО «СельхозБиоГаз»
г. Киров, п. Ганино, ул. Южная, д. 12
8 (8332) 55-77-57; 55-77-56
e-mail: shbiogaz@mail.ru
www.shbiogaz.ru





Журнал включён в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёных степеней доктора и кандидата наук (№ 2050 по состоянию 21.11.2019).

Журнал включён в каталог периодических изданий Ульрих (Ulrich's Periodicals Directory), в библиографические базы Scopus (SourceID 21100828916), Web of Science Core Collection, RSCI на платформе WoS, Google Scholar и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ).

Журнал издаётся с 2007 года.

Учредители журнала: ООО Издательский дом «Камертон», ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет».

Главный редактор Т.Я. Ашихмина, д.т.н., профессор, зав. лабораторией Вятского государственного университета, зав. лабораторией Института биологии Коми НЦ УрО РАН

Зам. главного редактора Л.И. Домрачева, д.б.н., профессор Вятской государственной сельскохозяйственной академии

Зам. главного редактора С.В. Дёгтева, д.б.н., Институт биологии Коми НЦ УрО РАН

Зам. главного редактора И.Г. Широких, д.б.н., зав. лабораторией Федерального аграрного научного центра Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого

Зам. главного редактора Б.И. Кочуров, д.г.н., профессор, ведущий научный сотрудник Института географии РАН

Ответственный секретарь С.Г. Скугорова, к.б.н., научный сотрудник Института биологии Коми НЦ УрО РАН

Технические секретари

Т.И. Кутявина, к.б.н., старший научный сотрудник Вятского государственного университета,
А.С. Тимонов, научный сотрудник Института биологии Коми НЦ УрО РАН

По вопросам публикации статей обращаться:
610000, г. Киров, ул. Московская, 36.
Тел. (8332) 37-02-77. E-mail: envjournal@vyatsu.ru

Статьи рецензируются. Перепечатка без разрешения редакции запрещена, ссылки на журнал при цитировании обязательны. Редакция не несёт ответственности за достоверность информации, содержащейся в рекламных объявлениях.

Издание зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Регистрационный номер и дата принятия решения о регистрации: серия ПИ № ФС77-74434 от 23 ноября 2018 г. Подписные индексы 82027, 48482 в каталоге Агентства «Роспечать». Зарубежная подписка оформляется через фирмы-партнёры ЗАО «МК-ПЕРИОДИКА» по адресу: 129110, г. Москва, ул. Гиляровского, 39, тел.: (495) 281-91-37, 281-97-63. E-mail: info@periodicals.ru; <http://www.periodicals.ru>

Подготовлен к печати в издательстве ООО «О-Краткое» 610000, г. Киров, Динамовский проезд, 4, оф. 101. Оригинал-макет – Татьяна Коршунова, фото на обложке – Александр Широких, перевод – Григорий Кантор, администратор сайта журнала – Вячеслав Рутман выпускающий редактор – Мария Зелаева. Директор издательства «О-Краткое» Евгений Дрогов © Оформление. Издательство «О-Краткое»

Подписано в печать 20.12.2019. Тираж 1150 экз. Заказ № 1028.

Отпечатано в ООО «Кировская цифровая типография» 610017, г. Киров, ул. Молодой Гвардии, 57 а

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

- В.А. Алексеев** д.т.н., профессор Ижевского государственного университета
- А.М. Асхабов** д.г.-м.н., академик РАН, научный руководитель Президиума Коми НЦ УрО РАН
- Т.К. Головкин** д.б.н., профессор, главный научный сотрудник Института биологии Коми НЦ УрО РАН
- А. Гросс** д.х.н., профессор Орхусского университета (Дания)
- М.В. Дородников** к.с.-х. н., научный сотрудник Университета Гёттингена им. Георга Августа (Германия)
- И.Е. Дубовик** д.б.н., профессор Башкирского государственного университета
- Г.А. Евдокимова** д.б.н., профессор, заместитель директора Института проблем промышленной экологии Севера Кольского НЦ РАН
- Г.М. Зенова** д.б.н., профессор Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова
- Г.Я. Кантор** к.т.н., научный сотрудник Института биологии Коми НЦ УрО РАН
- В.Л. Коваленко** к.т.н., доцент Украинского государственного химико-технологического университета
- Е.Ю. Колбовский** д.г.н., профессор, ведущий научный сотрудник Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова
- Э.И. Коломиец** д.б.н., академик НАН Беларуси, директор Института микробиологии НАН Беларуси
- Л.В. Кондакова** д.б.н., профессор Вятского государственного университета
- В.А. Коток** к.т.н., доцент Украинского государственного химико-технологического университета
- А.В. Кучин** д.х.н, член-корр. РАН, профессор, зав. отделом и зав. лабораторией Института химии Коми НЦ УрО РАН
- В.Н. Лаженцев** д.г.н., академик РАН, профессор, советник РАН
- В.З. Латыпова** д.х.н., член-корр. Академии наук Республики Татарстан, профессор Казанского федерального университета
- Ли Юй** профессор, директор Института микологии Цзилиньского аграрного университета, иностранный член РАН (КНР)
- С.Г. Литвинец** к.с.-х.н., проректор ВятГУ
- В.А. Малинников** д.т.н., профессор Московского государственного университета геодезии и картографии
- А.А. Москалёв** д.б.н, член-корр. РАН, зав. лабораторией Института биологии Коми НЦ УрО РАН
- С.В. Пестов** к.б.н., доцент Вятского государственного университета
- В.С. Петросян** д.х.н., профессор, зав. лабораторией Московского государственного университета
- С.А. Рубцова** д.х.н., директор Института химии Коми НЦ УрО РАН
- В.П. Савиных** д.т.н., член-корр. РАН, профессор, президент Московского государственного университета геодезии и картографии, лётчик-космонавт, дважды Герой СССР
- Ф. Скапини** д.б.н., профессор Университета Флоренции (Италия)
- В.А. Сысуев** д.т.н., академик РАН, научный руководитель Федерального аграрного научного центра Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого
- В.А. Терехова** д.б.н., ведущий научный сотрудник Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН
- Т.А. Трифонова** д.б.н., профессор Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова
- Б.Н. Хойницки** д.б.н., профессор Познаньского университета наук о жизни (Польша)
- В.И. Холстов** д.х.н., руководитель центра ФГУП «ГосНИИОХТ»
- М.Х. Хусейн** д.б.н., профессор Университета Ассиут (Египет)



*Theoretical
and applied*
ECOLOGY
No.4, 2019

The journal is included in the list of the leading peer-reviewed journals and issues for publishing the main results of research for PhD and doctoral dissertations.

The journal is included into Ulrich's Periodicals Directory, bibliographic databases Scopus (SourceID 21100828916), Web of Science Core Collection, RSCI on WoS, Google Scholar and Russian Science Citation Index (RSCI).

The journal is published since 2007.

The founders of the journal:
Publishing house "Kamerton", Vyatka State University

Editor-in-Chief T.Ya. Ashikhmina,

Doctor in Technical Sciences, Professor, Vyatka State University, Institute of Biology of the

Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS

Vice-Editor-in-Chief L.I. Domracheva,

Doctor in Biology, Professor of Vyatka State Agricultural Academy

Vice-Editor-in-Chief S.V. Degteva,

Doctor in Biology, Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS

Vice-Editor-in-Chief I.G. Shirokikh,

Doctor in Biology, Federal Agricultural Research Center of North-East named N.V. Rudnitsky

Vice-Editor-in-Chief B.I. Kochurov,

Doctor in Geography, Professor, the leading researcher of the Institute of Geography RAS

Executive Secretary S.G. Skugoreva,

PhD in Biology, researcher of Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS

Technical Secretaries:

T.I. Kutyavina, PhD in Biology,

senior researcher of Vyatka State University,

A.S. Timonov, researcher of Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS

The articles are reviewed. Reprint without permission of the publisher is prohibited, links to the journal are obligatory when citing.

The editorial Board is not responsible for the accuracy of the information contained in advertisements.

Address: 36 Moskovskaya St., Kirov, 610000
phone/fax: (8332) 37-02-77, e-mail: envjournal@vyatsu.ru

The edition is registered by Federal service for supervision in the sphere of communication, information technology and mass communications. Registration number and date of the decision on registration: series PI No. FS77-74434 on November 23, 2018.

Subscription index 82027, 48482
in the catalogue of Agency «Rospechat».

To effect subscription it is necessary to address to one of the partners of JSC «MK-Periodica» in your country or to JSC «MK-Periodica» directly.

Address: 39 Gilyarovskiy St., Moscow, Russia, 129110.

Tel: (495) 281-91-37, 281-97-63, Fax: (495) 281-37-98

E-mail address: info@periodicals.ru. <http://www.periodicals.ru>

Prepared for publication by the publishing house of «O-Kratkoe» of. 101, 4 Dymamoskiy proezd, Kirov, 610000

Tel. +7 (8332) 32-28-39. E-mail: okrat@okrat.ru.

Designer – Tatiana Korshunova. Cover photo – Alexandr Shirokikh.

Translation – Grigoriy Kantor. Administrator of Web site –

Vyacheslav Rutman. Managing editor – Mariya Zelayeva

Director of the publishing house «O-Kratkoe» Evgeniy Drogov

© Publishing house «O-Kratkoe»

Printed in «Kirov digital printing house»

57 a Molodoy Gvardii St., Kirov, 610017

**THE EDITORIAL BOARD OF THE JOURNAL
"THEORETICAL AND APPLIED ECOLOGY"**

- V.A. Alexeev** Doctor in Technical Sciences, Professor of Udmurt State University
- A.M. Askhabov** Doctor in Geology and Mineralogy, Academician of RAS, scientific director of the Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS
- T.K. Golovko** Doctor in Biology, Professor, the Chief Researcher of Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS
- A. Gross** Doctor in Chemistry, Professor of Aarhus University (Denmark)
- M.V. Dorodnikov** PhD in Agricultural Sciences, Georg August University of Göttingen (Germany)
- I.E. Dubovik** Doctor in Biology, Professor of Bashkir State University
- G.A. Evdokimova** Doctor in Biology, Professor, Vice-Director of Research Institute of the North Industrial Ecology, Kola SC of RAS
- G.M. Zenova** Doctor in Biology, Professor of Lomonosov Moscow State University
- G.Ya. Kantor** PhD in Technical Sciences, researcher of the Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS
- V.L. Kovalenko** PhD in Technical Sciences, Associate Professor of Ukrainian State University of Chemical Technology
- E.Yu. Kolbovsky** Doctor in Geography, the leading researcher, Professor of Lomonosov Moscow State University
- E.I. Kolomiyets** Doctor in Biology, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, Director of Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus
- L.V. Kondakova** Doctor in Biology, Professor of Vyatka State University
- V.A. Kotok** PhD in Technical Sciences, Associate Professor of Ukrainian State University of Chemical Technology
- A.V. Kuchin** Doctor in Chemistry, corresponding member of RAS, Professor, scientific director Institute of Chemistry of the Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS
- V.N. Lazhentsev** Doctor in Geography, Professor, RAS Advisor
- V.Z. Latypova** Doctor in Agriculture, corresponding member of Tatarstan Academy of Sciences, Professor of Kazan Federal University
- Li Yu** Director of Mycology Institute of Jilin Agricultural University, Foreign Associate of RAS (China)
- S.G. Litvinets** PhD in Agricultural Sciences, Vice-Rector for Science and Innovation of Vyatka State University
- V.A. Malinnikov** Doctor in Technical Sciences, Professor of Moscow State University of Geodesy and Cartography
- A.A. Moskalev** Doctor in Biology, corresponding member of RAS, Chief of the Laboratory of Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS
- S.V. Pestov** PhD in Biology, Associate Professor of Vyatka State University
- V.S. Petrosyan** Doctor in Chemistry, Professor, Head of laboratory in Moscow State University
- S.A. Rubtsova** Doctor in Chemistry, Director of the Institute of Chemistry the Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS
- V.P. Savinykh** Doctor in Technical Sciences, corresponding member of RAS, Professor, President of Moscow State University of Geodesy and Cartography, Pilot-Cosmonaut, twice Hero of the Soviet Union
- F. Scapini** Doctor in Biology, Professor of Florence University (Italy)
- V.A. Sysuev** Doctor in Technical Sciences, Academician of RAS, scientific director Federal Agricultural Research Center of North-East named N.V. Rudnitsky
- V.A. Terekhova** Doctor in Biology, leading researcher of A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of RAS
- T.A. Trifonova** Doctor in Biology, Professor of Lomonosov Moscow State University
- V.I. Kholstov** Doctor in Chemistry, Professor, Head of the Center of the Federal State Unitary Enterprise "State Scientific Research Institute of Organic Chemistry and Technology"
- B.H. Chojnicki** Doctor in Biology, Professor of Poznan University of Life Sciences (Poland)
- M.H. Hussein** Doctor in Biology, Professor of Assiut University (Egypt)

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРЫ

- О. М. Тсивилева* Eco-friendly-made selenium products of mushroom origin for use in agriculture (review) 6
- Л. И. Домрачева, А. И. Фокина, А. Л. Ковина, Т. Я. Ашихмина* Экзометаболиты почвенных цианобактерий как стратегия выживания в естественных и техногенно нарушенных экосистемах 14

СТАТЬИ

- А. П. Щербатюк* Концепция обеспечения экологической безопасности воздушной среды городов в природно-технических системах горно-котловинного типа 24
- Ю. А. Тунакова, С. В. Новикова, А. Р. Шагидуллин, В. С. Валиев, А. Х. Мораис* Подходы для оценки и управления качеством компонентов урбоэкосистемы с помощью методов нейросетевого моделирования 31
- Е. А. Домнина, С. Ю. Огородникова, С. В. Пестов, Т. Я. Ашихмина* Методы лишеноиндикации в оценке загрязнения атмосферного воздуха соединениями фосфора 37
- I. Bica, M. Solomonovich, K. Deutscher, A. Garrett, K. Burak, H. Peacock* *Ursus arctos horribilis*: dynamic modeling of Canadian population 45
- Н. И. Федоров, С. Н. Жигунова, О. И. Михайленко, К. И. Михайленко, Л. Г. Наумова, В. П. Путенихин* Использование системы дифференциальных уравнений для прогнозирования долгосрочной динамики запасов лекарственных растений в лесных фитоценозах 55
- Л. В. Кондакова, Е. В. Дабах, А. П. Кислицына* Сукцессия фототрофных организмов пойменного луга на техногенной территории 61
- Н. Н. Позднякова, С. А. Баландина, О. В. Турковская* Деградационная активность грибов по отношению к углеводородам нефти в условиях повышенной температуры 69
- I. S. Sazykin, E. Yu. Seliverstova, L. E. Khmelevtsova, T. N. Azhogina, E. M. Kudrevskaya, M. I. Khammami, N. V. Gnennaya, A. A. K. Al-Rammahi, A. V. Rakin, M. A. Sazykina* Occurrence of antibiotic resistance genes in sewages of Rostov-on-Don and lower Don River 76
- Н. В. Сушинская, В. П. Курченко* Сорбция тяжёлых металлов меланиновыми пигментами ряда дереворазрушающих грибов 83
- И. А. Лиханова, Г. В. Железнова, Т. Н. Пыстина, Е. М. Лаптева* Формирование притундровых лесов на карьерах строительных материалов 88
- Д. Г. Замолодчиков, В. В. Каганов, О. Н. Липка* Прогнозная оценка поглощения углерода при восстановлении тугайных лесов 95

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ
ПРОБЛЕМЫ
ЭКОЛОГИИ

МЕТОДОЛОГИЯ
И МЕТОДЫ
ИССЛЕДОВАНИЙ.
МОДЕЛИ И
ПРОГНОЗЫ

МОНИТОРИНГ
ПРИРОДНЫХ И
АНТРОПОГЕННО
НАРУШЕННЫХ
ТЕРРИТОРИЙ

ХИМИЯ ПРИРОДНЫХ
СРЕД И ОБЪЕКТОВ

ПОПУЛЯЦИОННАЯ
ЭКОЛОГИЯ

**ПОПУЛЯЦИОННАЯ
ЭКОЛОГИЯ**

- С. Г. Скугорева, Г. Я. Кантор, Л. И. Домрачева, Т. К. Шешегова* Оценка сорбционных способностей различных видов микромицетов рода *Fusarium* по отношению к ионам тяжёлых металлов 103
Ю. А. Виноградова, Е. М. Лаптева, В. А. Ковалева, Е. М. Перминова Распределение микроскопических грибов в мерзлотной торфяной почве плоскобугристого болота лесотундры 110

**ЭКОЛОГИЗАЦИЯ
ПРОИЗВОДСТВА**

- Е. В. Амброс, О. В. Коцуний, Е. А. Карпова, Е. Г. Трофимова, Ю. Г. Зайцева, Т. И. Новикова* Адаптивный ответ регенерантов *Fragaria ananassa* Duch. под действием механокомпозиата на основе аморфного диоксида кремния и флавоноидов зелёного чая в условиях *in vitro* 116

АГРОЭКОЛОГИЯ

- Л. И. Федорева* Влияние солевого стресса на экспрессию генов K^+/Na^+ -транспортеров *HKT* и ферментов *SOD* и *Nfn* у пшеницы 123
Р. М. Хайруллин, Г. Ф. Бурханова, А. В. Сорокань, Е. Р. Сарварова, С. В. Веселова, Е. А. Черепанова, С. Г. Вологин, Ф. Ф. Замалиева, И. В. Максимов К механизмам антивирусной активности бактерий рода *Vacillus* на растениях картофеля 130
Л. Г. Яруллина, А. В. Сорокань, Г. Ф. Бурханова, В. О. Цветков Сигнальная регуляция активности защитных белков в растениях картофеля *in vitro* при поражении возбудителем фитофтороза 136
М. А. Азямов, А. А. Широких, Т. Я. Ашихмина Сравнение токсичности противоопухолевых веществ: полисахаридов гриба *Hericium erinaceus* ВР 16, диальдерона и метотрексата 142

ХРОНИКА

- Т. Я. Ашихмина* I Всероссийский форум «Утилизация и рециклинг отходов производства и потребления» 150

CONTENTS

**THEORETICAL
PROBLEMS
OF ECOLOGY**

- O. M. Tsvileva* Eco-friendly-made selenium products of mushroom origin for use in agriculture (review).....6
L. I. Domracheva, A. I. Fokina, A. L. Kovina, T. Ya. Ashikhmina Exometabolites of soil cyanobacteria as a survival strategy in natural and technogenically disturbed ecosystems 14

**METHODOLOGY
AND RESEARCH
METHODS.
MODELS AND
FORECASTS**

- A. P. Shcherbatyuk* Concept of environmental safety of air environment of cities in natural-technical systems of mountain-hollow type24
Y. A. Tunakova, S. V. Novikova, A. R. Shagidullin, V. S. Valiev, A. J. Morais Approaches for evaluation and quality management of urban ecosystem components using neural network modeling methods..... 31
E. A. Domnina, S. Yu. Ogorodnikova, S. V. Pestov, T. Ya. Ashikhmina Lichenoidication methods for assessing atmospheric air pollution by phosphorus compounds37
I. Bica, M. Solomonovich, K. Deutscher, A. Garrett, K. Burak, H. Peacock *Ursus arctos horribilis*: dynamic modeling of Canadian population45
N. I. Fedorov, S. N. Zhigunova, O. I. Mikhaylenko, K. I. Mikhaylenko, L. G. Naumova, V. P. Putenikhin Using a system of differential equations to predict the longterm dynamics of stocks of medicinal plants in forest phytocenoses55

**MONITORING
OF ANTHROPO-
GENICALLY
DISTURBED
AREAS**

- L. V. Kondakova, E. V. Dabakh, A. P. Kislitsina* Floodplain meadow phototrophic organisms' succession on the technogenic territory61
- N. N. Pozdnyakova, S. A. Balandina, O. V. Turkovskaya* Degradative activity of fungi towards oil hydrocarbons under high temperature69
- I. S. Sazykin, E. Yu. Seliverstova, L. E. Khmelevtsova, T. N. Azhogina, E. M. Kudrevskaya, M. I. Khammami, N. V. Gnennaya, A. A. K. Al-Rammahi, A. V. Rakin, M. A. Sazykina* Occurrence of antibiotic resistance genes in sewages of Rostov-on-Don and lower Don River..... 76

**CHEMISTRY
OF NATURAL
ENVIRONMENTS
AND OBJECTS**

- N. V. Sushinskaya, V. P. Kurchenko* Sorption of heavy metals by melanin pigments of wood-destroying fungi83
- I. A. Likhonova, G. V. Zheleznova, T. N. Pystina, E. M. Lapteva* Formation of near-tundra forests on open pit mines88

**POPULATION
ECOLOGY**

- D. G. Zamolodchikov, V. V. Kaganov, O. N. Lipka* Projection of carbon sequestration in riparian reforestation95
- S. G. Skugoreva, G. Ya. Kantor, L. I. Domracheva, T. K. Sheshegova* Assessment of sorption abilities of various species of *Fusarium* micromycetes in relation to heavy metal ions103
- Yu. A. Vinogradova, E. M. Lapteva, V. A. Kovaleva, E. M. Perminova* Distribution of microfungi in the permafrost peat soil of the flat-hilly bog of the forest-tundra110

**GREENING
OF PRODUCTION**

- E. V. Ambros, O. V. Kotsupiy, E. A. Karpova, E. G. Trofimova, Y. G. Zaytseva, T. I. Novikova* *In vitro* adaptive responses of *Fragaria ananassa* Duch. plantlets induced by the mechanocomposite based on amorphous silica and flavonoids of green tea116

AGROECOLOGY

- L. I. Fedoreyeva* Effect of salt stress on the expression of genes of K^+/Na^+ -transporters *HKT*, *SOD* and *Nfn* in *Triticum durum* and *Triticum aestivum*123
- R. M. Khairullin, G. F. Burkhanova, A. V. Sorokan, E. R. Sarvarova, S. V. Veselova, E. A. Cherepanova, S. G. Vologin, F. F. Zamalieva, I. V. Maksimov* To the mechanisms of antiviral activity of *Bacillus* bacteria on potato plants130
- L. G. Yarullina, A. V. Sorokan, G. F. Burkhanova, V. O. Tsvetkov* Signal regulation of activity of protective proteins in potato plants *in vitro* with the defeat potato late blight136
- M. A. Azyamov, A. A. Shirokikh, T. Ya. Ashikhmina* The toxicity comparison of antitumor substances: the mushroom *Hericium erinaceus* BP 16 polysaccharides, dialderon and methotrexate142

CHRONICLE

- T. Ya. Ashikhmina* I All-Russian forum "Utilization and recycling of production and consumption wastes" 150

Eco-friendly-made selenium products of mushroom origin for use in agriculture (review)

© 2019. O. M. Tsivileva ORCID: 0000-0002-5269-349X

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms,
Russian Academy of Sciences,
13, Prospekt Entuziastov, Saratov, Russia, 410049,
e-mail: tsivileva@ibppm.ru

Wood-decaying higher fungi attract attention as the possible participants of the plant wastes biodestruction processes, as well as the producers of unique complex of biologically active substances. Myconanotechnology has become a rapidly developing area of nanoscience and biotechnology. Broad spectrum and diversity in mushrooms could lead to an exciting potentiality and interdisciplinarity of this science. General aspects of the mushrooms' implementation relevance in the context of comparison to other organisms, as bacteria and plants, testify in favor of the mycogenic synthesis of nanoparticles. Primary and secondary fungal metabolites are capable of reducing readily the chemical elements in compounds to occur nanoparticles with definite size and shape in controlled non-hazardous processes.

Current biotechnological applications of selenium are undoubtedly very wide. Chemically synthesized Se-conjugates and elemental selenium are known to possess antimicrobial properties. However, more ecologically safe and beneficial approaches to manufacture the Se-based products are current challenge. In this relation, of especial interest are the selenium-enriched preparations of mushroom origin owing to their availability, biocompatibility, and proved biological activity. The approach developed in our works recently would allow the bioproduction of submicrostructured elemental selenium-based composites using the edible and medicinal mushrooms' cultures to be put into practice. We demonstrated the occurrence of bacteriostatic and bactericidal effects of the agents under study. Even one decade ago the review of published works on myconanotechnology did not operate with the terms "mushroom" or "selenium", and were related solely to lower fungi and metals, the real mechanism of biosynthesis of nanoparticles remaining unclear. Contemporary studies favor the supposition on advisability of further research into the mushroom-originating selenium bionanocomposites as the agents for agricultural recovery from the bacterial pathogens. Myconanotechnology of selenium could represent a novel approach to the development of antimicrobial nanomaterials.

Keywords: selenium, mushrooms, selenized mycelium, Se-fortified products, biocomposites, biological activity.

УДК 632.3:633.491+547.822.1

Селенсодержащие продукты экологически чистой переработки высших грибов сельскохозяйственного назначения (обзор)

© 2019. О. М. Цивилева, д. б. н., в. н. с.,

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов
Российской академии наук,
410049, Россия, г. Саратов, пр-т Энтузиастов, д. 13,
e-mail: tsivileva@ibppm.ru

Дереворазрушающие высшие грибы привлекают внимание исследователей как возможные участники процессов биодеструкции растительных отходов, а также как продуценты уникального комплекса биологически активных веществ. Миконанотехнология становится быстроразвивающейся областью нанонауки и биотехнологии. Широкий спектр и разнообразие свойств высших грибов способствуют высокому потенциалу и мультидисциплинарности миконанотехнологии. Оценка основных аспектов актуальности применения грибов для изготовления наноструктурированных объектов с точки зрения сравнения с другими организмами, такими как бактерии и растения, свидетельствует в пользу микогенного синтеза наночастиц. Первичные и вторичные грибные метаболиты способны легко восстанавливать химические элементы в их соединениях с образованием наночастиц определённого размера и формы в контролируемых условиях процессов, не опасных для человека.

Перечень современных биотехнологических применений селена весьма внушителен. Синтезированные химическим путем Se-конъюгаты и элементный селен обладают антимикробными свойствами. Однако в соответствии с

вызовом современности требуются более экологически безопасные и эффективные подходы к изготовлению селен-содержащих продуктов. В этой связи особый интерес представляют обогащённые селеном препараты из высших грибов благодаря их доступности, биосовместимости и доказанной биологической активности. Необходимо развитие новых подходов, позволяющих реализовать биопродукцию композитов на основе субмикроструктурированного элементного селена с использованием культур съедобных и лекарственных высших грибов. Нами продемонстрировано наличие бактериостатического и бактерицидного эффекта таких агентов. Современные исследования благоприятствуют мнению о целесообразности дальнейшего изучения бионанокompозитов селена грибного происхождения как агентов, применяемых в сельскохозяйственной практике для борьбы с фитопатогенами. Микронанотехнология селена может представлять инновационный подход к получению антимикробных наноматериалов.

Ключевые слова: селен, высшие грибы, селенизированный мицелий, Se-обогащённые продукты, биокомпозиты, биологическая активность.

Wood-decaying higher fungi attract attention as the possible participants of the plant wastes biodestruction processes, as well as the producers of unique complex of biologically active substances. The trace element selenium (Se) is essential nutrition mineral. Interest in using mushrooms as a Se carrier increases. Analyzing the selenium content of mushrooms and its utilization, the contribution of mushrooms to the human's selenium demand, selenium content of mycelium cultivated under different conditions, effect of technology (growing) on the selenium content of mycelia, selenium species occurring in mushrooms, bioavailability of selenium in different oxidation states, one could conclude on the significantly positive trends in edible and medicinal mushrooms' implementation in this area.

Contemporary biotechnological applications of Se are very wide, including those related to antimicrobial properties. More ecologically safe and beneficial approaches to manufacture the Se-based antibacterial agents are current challenge. In this relation, of especial interest are the selenium-enriched preparations of higher-fungal origin owing to their availability, biocompatibility, and potentiality for agricultural recovery from the bacterial pathogens.

Mushrooms, promising ecologically pure multipurpose material

Mushrooms are ubiquitous organisms found in almost every ecosystem and play central roles in the recycling of organic matter. Since the wild fungi play an important role to maintain the health of forests besides their medicinal importance and nutritional value in most of the cases, therefore it becomes quite necessary to explore, document and conserve this natural wealth. A considerable amount of literature has been published on the ecology, physiology, genetics, and biotechnology of mushrooms. Edible mushrooms are readily available at any food market owing to their commercial cultivation [4]. The mushrooms do not merely constitute a highly

nutritious source of food. More recently, attention has focused on a second area of exploitation following the discovery that many of these fungi produce a range of metabolites of intense interest to the pharmaceutical and food (e. g. flavour compounds) [2].

Relatively low levels of commercial cultivation of the mushrooms limit their availability for use as food and medicine [3]. A good alternative to mushrooms' fruit bodies production is provided in this respect by the submerged fermentation. The process offers several advantages including a fast growth and high biomass productivity [4], compact and controlled environment and shortened production time [5]. This resourceful biotechnological approach in the mushrooms application has been used widely to yield bioactive compounds (polysaccharides, glycoproteins, selected low-molecular substances) in different basidiomycetes [6, 7], as well as mycelial biomass itself. The latter is valuable not only as food and fodder supplement, but also as the intermediate product, seeding material, for obtaining fruiting bodies [8]. Mycelia formed by growing pure cultures under the submerged conditions are high-quality, consistent, safe, predictable and economical mushroom products [9, 10], and a suitable alternative to yield mushroom product fortified with selenium.

Mycogenic synthesis of nanoparticles: general aspects of relevance

The non-toxic and environmentally benign procedures for the synthesis of submicro- and nanomaterials based on green chemistry and biological processes needed to be developed [11]. More recent technological advances make better understanding of physicochemical and optoelectronic properties, as well as organization of nanoscale structures into predened 1-D (nanorods), 2-D or 3-D (nanowires) superstructures [12]. These advances have opened the door to new functionalities and applications of nanoparticles in agriculture. This resulted in relatively new, largely unexplored and rapidly growing area of

myconanotechnology [13, 14]. It was necessary to extend knowledge on the mechanisms and approaches for fabrication of myconanoparticles. Various types of the mycogenic nanomaterial such as nanowires, nanofilters, nanosensors, nanofibrous mats and quantum dots (QDs) were synthesized. More and more authors researched into the problems of fungal nanofactories' work at suppressing plant pathogen, targeted delivery, interactive agrochemicals as pesticides, nanocomposites material for food packaging and extensive nano-surveillance using crop sensing and nano-enabled diagnostics [15].

As far as we aware, even one decade ago the review of published works on myconanotechnology did not operate with the terms "mushroom" or "selenium", and were related solely to lower fungi, which were exploited for the synthesis of silver, gold, zirconium, silica, titanium, iron and platinum nanoparticles [16, 17]. Fungi are the objects that could produce great amounts of biopolymers extracellularly, and could take advantage in the downstream processing and handling of biomass, when compared to the bacterial fermentation process [18] or to the application of plants [19]. Due to slower kinetics, fungal cultures offer better manipulation and control over crystal growth and their stabilization [20]. Somewhat recently mushrooms (higher fungi) have gained an added attention from researchers. When being subjected to different kinds of unavoidable technological procedures, mushrooms' mycelia can withstand these conditions, including in bioreactors, much more better compared to plants and bacteria [21]. Many of the enzymes, polysaccharides and low-molecular metabolites secreted by fungi are capable of reducing metal and non-metal chemical elements entering the composition of the compounds – precursors of the targeted nanoparticles. Antioxidant properties of mushrooms metabolites are frequently responsible for the suitable starting chemical compound's reduction into the respective nanostructures to generate the nano-sized objects. Those primary and secondary fungal metabolites could increase the oxidation state number of the elements readily through non-hazardous processes, and allow a controlled synthesis of nanoparticles with definite size and shape [22], as nanorods, nanocubes, nanotubes, nanowires and nanosheets etc. [15] with the minor defects and more homogeneous chemical composition [23, 24]. Moreover, the interference from intracellular components, which are undesirable in most cases, is minimized owing to the extracellular secretion of fungal reductive substances.

Inorganic and organic Se: dramatically different biological effects

The trace mineral selenium (Se) is an essential element for human and animal nutrition. Selenium deficiencies in the human and animal organism are recognized worldwide to be related to a number of pathologies [25]. However, at higher Se concentrations, harmful consequences occur.

Recommended dietary intakes are not currently met by most diets, unless Se-rich foods are included. Therewith one should take into consideration a poor bioavailability of the most common inorganic forms of selenium. Selenium content in a foodstuff critically influences Se bioactivity to humans and animals. Foodstuffs processing and treatments, along with foodstuff-matrix major and minor components, affect Se bioavailability [26]. A great deal of information has been accumulated indicating that dietary form of Se is a major determinant of its efficiency [27], and the chemical form of Se plays a very important, if not a decisive role in its bioavailability [28]. A growing body of evidence indicates dramatically different biological effects of inorganic and organic chemical forms of selenium, which may explain apparent inconsistencies across studies by inadequate assessment of health risk [29]. The human or animal exposure to selenium in different chemical forms leads to not only different, but in some cases opposite nutritional and toxicological consequences [30]. It has been shown repeatedly that Se is more bioavailable to animals and humans in organic forms than in inorganic forms [25, 31, 32], and toxicity of inorganic (tetravalent) Se greatly exceeds that of organic Se [33].

The investigations aimed at the development of novel synthetic organoselenium compounds and at the discovery of naturally occurring selenium compounds that are more effective and less toxic than inorganic forms of selenium were initiated at the beginning of the 1980s. Important aspects of the modern organoselenium chemistry are the use of organoselenium reagents as catalysts (organocatalysis), green chemistry, bioinspiration, antioxidant activity. The classical synthetic application of organoselenium reagents are electrophilic, nucleophilic and free radical reagents. Organoselenium compounds find applications in organic synthesis, materials synthesis, ligand chemistry [34–36], antioxidative agents [37–39]. The synthesis and the synthetic applications of some emerging classes of selenium compounds such as hypervalent selenium species and selenoamides, address

some biological aspects such as the antimicrobial activity of organoselenium derivatives and the biochemistry of selenoproteins, along with biologically relevant processes as potent therapeutic and chemopreventive agents [40, 41].

Today this area of organoselenium research is growing rapidly, and the outcomes of these investigations are highly promising. Exciting studies performed *in vitro* with respect to cellular responses showed that the dose and form of selenium compounds are critical experimental parameters.

Selenium-enriched food of mushroom origin

The addition of selenium to the diet through dietary supplements or fortified food/feed becomes increasingly common owing to the frequently suboptimal level of this microelement in standard nutrition in many countries [42]. One of the basic questions arising in relation to Se-fortified food is on the threshold quantities of selenium causing unexplored harmful consequences of using common food. The content of selenium in food of not-fungal-origin, i. e. plants and animals, depends critically on the selenium content in environment. Thus, the selenium concentration in such nutrient products is highly variable [43]. The bioavailability of selenium from fish can be modified by the presence of various contaminants, including arsenic and mercury [44].

Satisfaction of the human selenium requirements can be considerably contributed from mushrooms, since the selenium enriched mushroom mycelia are valuable functional foods. It is obvious that risks and benefits of Se intakes should be quantified and balanced. The mushrooms are commonly used food product and dietary supplement convenient to apply in the selenium-fortified form. Mycelia of many tested mushroom species at submerged growing are satisfactory Se-sources due to the fact that Se-concentrations absorbed from the sodium selenite-enriched medium could achieve tens percent of its content in the medium [45]. The mycelial selenium content could be several times higher than in fruiting bodies.

In order to optimize fortification process and yields, selenium enrichment in the cultivation substrate can be an approach to increase the Se concentration in fruiting bodies of mushrooms. Popular mushrooms with high commercial values and thus cultivated world wide appeared to contain nutritionally significant but yet insufficient amounts of Se [46]. Most of edible mushroom species examined are selenium-poor

(< 1 μg Se/g dry weight) [47]. So, the solution is artificial growing of basidiomycetes. A particularly rich source of selenium could be obtained from selenium-enriched mushrooms that are cultivated on a solid media fortified with selenium.

Growth-compost irrigated with sodium selenite solution appeared to cause the increase in the selenium level in button mushroom, *Agaricus bisporus* by tens times compared to the control mushroom irrigated solely with water [48]. The enrichment of *Lentinula edodes* (shiitake mushroom) fruit bodies with Se could be performed by adding the sodium selenite to the cold-shock water used to induce primordial formation in artificial logs [49]. Thus, selenium-enriched fruit bodies are industrially cultivated as functional food or medicinal food in China and Southeast Asia and could provide an efficient way in delivering functional organic Se. However, the composition of selenium substances, as well as the distribution of the main bioactive components, remain still unknown [50].

Se⁰ mycosynthesis from inorganic Se-salts

Evaluation of the efficacy of supplementation of several medicinal mushrooms with inorganic selenium salts (Na_2SeO_3 and Na_2SeO_4) attracted the attention of many researchers in 21st century. Submerged mycelium of *Lentinula edodes* accumulated selenium from the cultivation medium very effectively. Selenium was well bioavailable from the mycelial preparations in *in vitro* and *in vivo* tests [51]. The speciation of selenium in Se-enriched mycelial cultures testified to the fact that the main part of Se in the tested mycelium was in the zero (elemental selenium) and IV oxidation states. *Phanerochaete chrysosporium*, too, was found to be a selenium-reducing organism, capable of synthesizing elemental Se from selenite but not from selenate [52]. Studies with *Ganoderma lucidum*, *Agrocybe aegerita*, and *Hericium erinaceus* showed that the growth of *G. lucidum* fruit bodies was observed with up to 0.8 mM Se accompanied by the highest total Se content, macroscopic changes in the fruiting bodies of the examined mushrooms, and color changes of fruiting bodies [53]. Biotechnologically important mushrooms fortified with inorganic Se, as *Ganoderma lucidum*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus pulmonarius*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma applanatum*, *Lenzites betulinus*, *Trametes hirsuta* were explored [54] in respect to their morpho-physiological characteristics, as well as biological activities. During cultivation on selenite-enriched medium, the appearance

of mycelium of brick-red color with significant morphological and ultrastructural changes in comparison with the control was observed. Hyphal density was lower, the cell wall was thick with more expressed extracellular matrix, septa were abundant, and branch frequency and occurrence of clamp-connections were rare. Cytological analysis demonstrated that the majority of selenium was accumulated in cell membrane and vacuoles, while changes taking place in a cell wall were insignificant [54].

Considerable amount of works are focused on the effect of inorganic selenium salts' concentrations on mycelium morphological and ultrastructural features. At a relatively high selenite concentration in *Lentinula edodes* liquid nutrient medium, the excess selenium is eliminated *via* its reduction to elemental Se [55]. As for another very popular cultivated mushroom, *Pleurotus ostreatus*, the studies also showed that higher selenite concentrations caused firstly Se accumulation in *P. ostreatus* mycelium, and during the suppression growth phase, selenite was reduced to amorphous Se in zero oxidation state and this gave the mycelium and medium a reddish color [56, 57]. Hyphal morphology of *P. ostreatus* was dependent on Se concentration in the liquid medium. Electron-dense spots, visible in both the control and Se-enriched samples, were described [58] as proteinaceous bodies, since lipid bodies would be extracted during preparation for transmission electron microscopy. In the presence of Se, the number of these bodies increased, and changes in their shape, color, and size were slight. It was shown that the reduction of the ionic Se and production of amorphous Se⁰ are really occurring round the bodies [58]. Selenite stress exerts a significant effect on ultra-architectural features of the fungal hyphae and spores of mushroom cultures, e. g., *Ganoderma lucidum* [59]. A number of works deals with the Se distribution among different cellular compartments, and, in particular, polysaccharide structures contained in fungal cell walls. Se-enriched submerged mycelia of *Pleurotus ostreatus* were explored in respect to the incorporation of selenium from the growth medium to mushroom [60]. A polysaccharide-containing fraction of mycelia was treated alternatively with Tris-HCl or with chitinase. Better solubility and increased contribution of low molecular mass compounds were observed in chitinase extracts (UV detection), confirming the degradation of polysaccharides by the enzyme. The results obtained suggest selenium binding to chitin-containing polysaccharide structures

in fungal cell walls [60]. Selenite influenced the pellet morphology of *Phanerochaete chrysosporium* by reducing the size of the fungal pellets and inducing their compaction and smoothness [52]. Analysis of *P. chrysosporium* mycelia with transmission electron microscopy, electron energy loss spectroscopy, and a 3D reconstruction showed that elemental selenium was produced intracellularly as nanoparticles.

Selenium-containing agents of mushroom origin for agricultural recovery from the bacterial pathogens

Almost all of the published works dealt with the Se-fortified fungal cultures are concerned with selenium exclusively in the form of inorganic substances, sodium selenite Na₂SeO₃ or selenate Na₂SeO₄. The source of selenium should reasonably be the organic substance 1,5-diphenyl-3-selenopentanedione-1,5 (synonyms diacetophenonylselenide, bis(benzoylmethyl)selenide, preparation DAPS-25) [61], since its low toxicity at physiological concentrations in combination with high efficiency (compared to, e. g., selenites) has been proved earlier for various living organisms. It is the source of selenium we use in our research. Appreciable positive effect of preparation DAPS-25 on the vital processes of *Lentinula edodes* (shiitake mushroom) exhibited as the change in mushroom growth parameters and lectin activity on various organic and mineral, agar and liquid media [62] was considered in relation to fungal metabolites, extracellular lectins of shiitake mushroom. Along with DAPS-25, several other compounds of the 1,5-di(4-R-phenyl)-3-selenopentanediones-1,5 series were explored involving both computations and experiment [63].

The biotransformation of DAPS-25 at the growth of shiitake mushroom under the liquid-phase and solid-phase culture conditions has been studied. The intensive red pigmentation of mycelium caused by the elemental selenium accumulation resulted from the organoselenium compound destruction by the mushroom *L. edodes* has been revealed. At the initial DAPS-25 concentration equal to or higher than $1 \cdot 10^{-4}$ mol/L in the synthetic liquid medium, a red color of *L. edodes* mycelium develops, the intensity and initiation time of which being related to this Se-additive concentration [64]. Starting from the results of qualitative reaction, the data of X-ray fluorescence, X-ray diffraction and GC-MS analyses, we should conclude on the *L. edodes* submerged culture capability of destructing the organoselenium xenobiotic to occur red modification of elemental selenium

and to evolve acetophenone. The process of elemental selenium elimination was followed by its precipitation onto gyphae [65]. Within the framework of more recent studies, the growth parameters of more than twenty strains of xylo-trophic basidiomycetes belonging to 8 genera, 13 species on liquid media enriched with selenium in organic form were studied, and the effect of 1,5-diphenyl-3-selenopentanedione-1,5 within a wide concentration range ($1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-8}$ mol/L) on the mycelial growth was observed. The culture liquids of the fungal species under study were successfully tested for their reducing and stabilizing properties toward organic selenide and elemental selenium, respectively [66].

In doing so, the mycosynthesized Se-containing bionanocomposites were manufactured and tested for biological activity. The results of studying the effect of those selenium nanocomposites on the bacterium *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (*Cms*) were obtained [67]. *Cms*, a Gram-positive bacterium, causes ring rot, which is one of the most dangerous potato diseases. The effective alongside ecologically safe methods for combating *Cms* are lacking. As the agents feasible for use in this purpose, we examined the selenium biocomposites obtained from the submerged cultures of mushrooms, several microbiological techniques being implemented. The results demonstrated the occurrence of bacteriostatic and bactericidal effects of the agents under study, and favored the supposition on advisability of further research into the selenium bionanocomposites as the agents for agricultural recovery from the bacterial pathogens [67].

The impact of Se-containing biocomposites based on *Ganoderma* mushroom submerged cultures (6 species, 9 strains) grown in the presence of oxopropyl-4-hydroxycoumarins, on the bacterial phytopathogens was examined [68]. These bacterial strains used were kindly provided by the Collection of Rhizosphere Microorganisms of IBPPM RAS (<http://collection.ibppm.ru>). By means of such methods as the colony-forming units count, the agar well diffusion method, and the bacterial suspension turbidity measurement, the bacteriostatic and bactericidal activity of the Se-containing biocomposites was elucidated. The pioneering information on the biological activity of coumarin series compounds in their application for producing the substances of fungal origin has been provided [68].

We explored the effect of selenium biocomposites obtained from medicinal basidiomycetes *Ganoderma lucidum*, *Grifola umbellata*, *Laetiporus sulphureus*, *Lentinula edodes*, and *Pleurotus*

ostreatus on the ability of *Cms* to form biofilms [69]. A decrease in the viability of the bacterial cells as a result of incubation with biocomposites was shown. The determining effect of the selenium component of the composites on the studied biological activity was stated, and the dependence of the antibiofilm-forming effect of Se-containing agents on the biological species of the fungus was found. Biocomposites based on extracellular metabolites of *Ganoderma lucidum* possess maximal activity. When biopolymer samples of fungal origin were added to the bacterial suspension, the ability of *Cms* to form biofilms differed depending on the type of biocomposite; it decreased significantly in some cases [70]. The development of selenium biotechnology should be based on natural edible and medicinal products, e. g., mushrooms, and considered to be appropriate “green” method. As being originated from the biotransformed organoselenium compound, the selenium submicroparticles possess the benefit of their non-toxic source and provide the potential multipurpose use.

Conclusive remarks

Mushrooms are recognized to be promising ecologically pure raw material. Fortification of edible mushroom cultures with the selenium-containing compounds has proven to be an effective and cost saving strategy for the prevention of Se deficiency. Of especial interest are the selenium-enriched preparations of higher-fungal origin owing to their availability, biocompatibility, and the proved biological activity. The novel aspects concerned with the essential nutrient and antioxidant Se properties have changed the views on selenocompounds. Different chemical forms of selenium possess excellent biochemical properties and have been implicated for use in agriculture. The favorable profile of newly synthesized organoselenium compounds including those explored in our research warrants their recognition as a promising option for fortification purposes. Further thorough investigation should be focused on the mechanism of Se-containing compounds' biological effect to take that into account when using the various Se sources in biotechnological fields, including the production of ecologically safe antibacterial agents.

References

1. Kim S., Ha B.S., Ro H.S. Current technologies and related issues for mushroom transformation //

Mycobiology. 2015. V. 43. No. 1. P. 1–8. doi: 10.5941/MYCO.2015.43.1.1

2. Ashraf J., Ali M.A., Ahmad W., Ayyub C.M., Shafi J. Effect of different substrate supplements on Oyster Mushroom (*Pleurotus* spp.) Production // Food Science and Technology. 2013. V. 1. No. 3. P. 44–51. doi: 10.13189/fst.2013.010302

3. Anike F.N., Isikhuemhen O.S., Blum D., Neda H. Nutrient requirements and fermentation conditions for mycelia and crude exo-polysaccharides production by *Lentinus squarrosulus* // Advances in Bioscience and Biotechnology 2015. V. 6. No. 8. P. 526–536. doi: 10.4236/abb.2015.68055.

4. Muhammad B.L., Suleiman B. Global development of mushroom biotechnology // International Journal of Emerging Trends in Science and Technology. 2015. V. 2. No. 6. P. 2660–2669.

5. Tang Y.Z., Zhu L.W., Li H.M., Li D.S. Submerged culture of mushrooms in bioreactors – challenges, current state-of-the-art, and future prospects // Food Technology and Biotechnology. 2007. V. 45. No. 3. P. 221–229.

6. Chen W., Zhao Z., Li Y. Simultaneous increase of mycelial biomass and intracellular polysaccharide from *Fomes fomentarius* and its biological function of gastric cancer intervention // Carbohydrate polymers. 2011. V. 85. No. 2. P. 369–375. doi: 10.1016/j.carbpol.2011.02.035

7. Ruthes A.C., Smiderle F.R., Iacomini M. D-Glucans from edible mushrooms: A review on the extraction, purification and chemical characterization approaches // Carbohydrate polymers. 2015. V. 117. P. 753–761. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.10.051

8. Tsivileva O.M., Pankratov A.N., Nikitina V.E. Extracellular protein production and morphogenesis of *Lentinula edodes* in submerged culture // Mycological Progress. 2010. V. 9. No. 2. P. 157–167. doi: 10.1007/s11557-009-0614-4

9. Wasser S.P. Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms // Applied Microbiology and Biotechnology. 2011. V. 89. No. 5. P. 1323–1332. doi: 10.1007/s00253-010-3067-4

10. Corr a R.C.G., Brugnari T., Bracht A., Peralta R.M., Ferreira I.C. Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings // Trends in Food Science & Technology. 2016. V. 50. P. 103–117. doi: 10.1016/j.tifs.2016.01.012

11. Bhattacharya D., Gupta R.K. Nanotechnology and potential of microorganisms // Critical reviews in biotechnology. 2005. V. 25. No. 4. P. 199–204. doi: 10.1080/07388550500361994

12. Bigall N.C., Eychmüller A. Synthesis of noble metal nanoparticles and their non-ordered superstructures // Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences. 2010. V. 368. No. 1915. P. 1385–1404. doi: 10.1098/rsta.2009.0274

13. Kannan N., Subbalaxmi S. Biogenesis of nanoparticles – A current perspective // Reviews on Advanced Materials Science. 2011. V. 27. No. 2. P. 99–114.

14. Gupta S., Sharma K., Sharma R. Myconanotechnology and application of nanoparticles in biology // Recent Research in Science and Technology. 2012. V. 4. No. 8. P. 36–38.

15. Kashyap P.L., Kumar S., Srivastava A.K., Sharma A.K. Myconanotechnology in agriculture: a perspective // World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2013. V. 29. No. 2. P. 191–207. doi: 10.1007/s11274-012-1171-6

16. Krumov N., Perner-Nochta I., Oder S., Gotcheva V., Angelov A., Posten C. Production of inorganic nanoparticles by microorganisms // Chemical Engineering & Technology: Industrial Chemistry-Plant Equipment-Process Engineering-Biotechnology. 2009. V. 32. No. 7. P. 1026–1035. doi: 10.1002/ceat.200900046

17. Gade A., Ingle A., Whiteley C., Rai M. Mycogenic metal nanoparticles: progress and applications // Biotechnology letters. 2010. V. 32. No. 5. P. 593–600. doi: 10.1007/s10529-009-0197-9

18. Gade A.K., Bonde P., Ingle A.P., Marcato P.D., Duran N., Rai M.K. Exploitation of *Aspergillus niger* for synthesis of silver nanoparticles // Journal of Biobased Materials and Bioenergy. 2008. V. 2. No. 3. P. 243–247. doi: 10.1166/jbmb.2008.401

19. Narayanan K.B., Sakthivel N. Facile green synthesis of gold nanostructures by NADPH-dependent enzyme from the extract of *Sclerotium rolfsii* // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2011. V. 380. No. 1–3. P. 156–161. doi: 10.1016/j.colsurfa.2011.02.042

20. Vaidyanathan R., Kalishwaralal K., Gopalram S., Gurunathan S. Nanosilver – the burgeoning therapeutic molecule and its green synthesis // Biotechnology Advances. 2009. V. 27. No. 6. P. 924–937. doi: 10.1016/j.biotechadv.2009.08.001

21. Saha S., Sarkar J., Chattopadhyay D., Patra S., Chakraborty A., Acharya K. Production of silver nanoparticles by a phytopathogenic fungus *Bipolaris nodulosa* and its antimicrobial activity // Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. 2010. V. 5. No. 4. P. 887–895.

22. Moaveni P., Karimi K., Valojerdi M.Z. The nanoparticles in plants: review paper // Journal of Nanostructure in Chemistry. 2011. V. 2. No. 1. P. 59–78.

23. Thakkar K.N., Mhatre S.S., Parikh R.Y. Biological synthesis of metallic nanoparticles // Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine. 2010. V. 6. No. 2. P. 257–262. doi: 10.1016/j.nano.2009.07.002

24. Behari J. Principles of nanoscience: an overview // Indian Journal of Experimental Biology. 2010. V. 48. No. 10. P. 1008–1019.

25. Hartikainen H. Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health // Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 2005. V. 18. No. 4. P. 309–318. doi: 10.1016/j.jtemb.2005.02.009

26. Moreda-Piñeiro J., Moreda-Piñeiro A., Bermejo-Barra P. *In vivo* and *in vitro* testing for selenium and selenium compounds bioavailability assessment in foodstuff // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2017. V. 57. No. 4. P. 805–833. doi: 10.1080/10408398.2014.934437

27. Surai P.F., Fisinin V.I. Selenium in poultry breeder nutrition: an update // *Animal Feed Science and Technology*. 2014. V. 191. P. 1–15. doi: 10.1016/j.anifeeds.2014.02.005
28. Thiry C., Ruttens A., De Temmerman L., Schneider Y.J., Pussemier L. Current knowledge in species-related bioavailability of selenium in food // *Food Chemistry*. 2012. V. 130. No. 4. P. 767–84. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.07.102
29. Vinceti M., Maraldi T., Bergomi M., Malagoli C. Risk of chronic low-dose selenium overexposure in humans: insights from epidemiology and biochemistry // *Reviews on Environmental Health*. 2009. V. 24. No. 3. P. 231–248. doi: 10.1515/REVEH.2009.24.3.231
30. Hazane-Puch F., Champelovier P., Arnaud J., Garrel C., Ballester B., Faure P., Laporte F. Long-term selenium supplementation in HaCaT cells: importance of chemical form for antagonist (protective versus toxic) activities // *Biological Trace Element Research*. 2013. V. 154. No. 2. P. 288–298. doi: 10.1007/s12011-013-9709-5
31. Daniels L.A. Selenium metabolism and bioavailability // *Biological Trace Element Research*. 1996. V. 54. No. 3. P. 185–199. doi: 10.1007/BF02784430
32. Ortman K., Pehrson B. Selenite and selenium yeast as feed supplements for growing, fattening pigs // *Journal of Veterinary Medicine Series A*. 1998. V. 45. No. 1–10. P. 551–557. doi: 10.1111/j.1439-0442.1998.tb00859.x
33. Hoefig C.S., Renko K., Köhrle J., Birringer M., Schomburg L. Comparison of different selenocompounds with respect to nutritional value vs. toxicity using liver cells in culture // *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2011. V. 22. No. 10. P. 945–955. doi: 10.1016/j.jnutbio.2010.08.006
34. Mughes G., Singh H.B. Synthetic organoselenium compounds as antioxidants: glutathione peroxidase activity // *Chemical Society Reviews*. 2000. V. 29. No. 5. P. 347–357. doi: 10.1039/A908114C
35. Mandal A., Sahoo H., Baidya M. Copper-catalyzed 8-aminoquinoline-directed selenylation of arene and heteroarene C–H bonds // *Organic Letters*. 2016. V. 18. No. 13. P. 3202–3205. doi: 10.1021/acs.orglett.6b01420
36. Akhoun S.A., Naqvi T., Nisar S., Rizvi M.A. Synthetic Organo-Selenium Compounds in Medicinal Domain // *Asian Journal of Chemistry*. 2015. V. 27. No. 8. P. 2745–2752. doi: 10.14233/ajchem.2015.18834
37. Petronilho F., Michels M., Danielski L.G., Goldim M.P., Florentino D., Vieira A., Mendonça M.G., Tournier M., Piacentini B., Giustina A.D., Leffa D.D., Pereira G.W., Pereira V.D., Rocha J.B.T.D. Diphenyl diselenide attenuates oxidative stress and inflammatory parameters in ulcerative colitis: a comparison with ebselen // *Pathology–Research and Practice*. 2016. V. 212. No. 9. P. 755–760. doi: 10.1016/j.prp.2016.04.012
38. Borges R., Andrade F.C., Schwab R.S., Sousa F.S., de Souza M.N., Savegnago L., Schneider P.H. Straightforward synthesis and antioxidant studies of chalcogenoaziridines // *Tetrahedron Letters*. 2016. V. 57. No. 31. P. 3501–3504. doi: 10.1016/j.tetlet.2016.06.101
39. Sari M.H.M., Souza A.C.G., Rosa S.G., Chagas P.M., da Luz S.C.A., Rodrigues O.E.D., Nogueira C.W. Biochemical and histological evaluations of anti-inflammatory and antioxidant p-chloro-selenosteroid actions in acute murine models of inflammation // *European Journal of Pharmacology*. 2016. V. 781. P. 25–35. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.03.051
40. Hassan W., de Oliveira C.S., Noreen H., Kamdem J.P., Nogueira C.W., Rocha J.B.T. Organoselenium compounds as potential neuroprotective therapeutic agents // *Current Organic Chemistry*. 2016. V. 20. No. 2. P. 218–231. doi: 10.2174/1385272819666150810222632
41. Saeed A., Larik F.A., Channar P.A. Synthetic approaches to the multifunctional drug ebselen and analogs: past and present // *Mini-Reviews in Organic Chemistry*. 2016. V. 13. No. 4. P. 312–324. doi: 10.2174/1570193X13666160618074751
42. Fagan S., Owens R., Ward P., Connolly C., Doyle S., Murphy R. Biochemical comparison of commercial selenium yeast preparations // *Biological Trace Element Research*. 2015. V. 166. No. 2. P. 245–259. doi: 10.1007/s12011-015-0242-6
43. Alissa E.M., Bahijri S.M., Ferns G.A. The controversy surrounding selenium and cardiovascular disease: a review of the evidence // *Medical Science Monitor*. 2003. V. 9. No. 1. P. RA9–RA18.
44. Hagmar L., Persson-Moschos M., Akesson B., Schütz A. Plasma levels of selenium, selenoprotein P, and glutathione peroxidase and their correlations to fish intake and serum levels of thyrotropin and thyroid hormones – a study on Latvian fish consumers // *Trace Elements in Man and Animals*. Springer US, 2002. P. 250–251. doi: 10.1038/sj.ejcn.1600649
45. Milovanović I., Brceski I., Stajic M., Knezevic A., Vukojevic J. Potential enrichment of medicinal mushrooms with selenium to obtain new dietary supplements // *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 2013. V. 15. No. 5. P. 449–455. doi: 10.1615/IntJMedMushr.v15.i5.30
46. Lee C.Y., Park J.E., Kim B.B., Kim S.M., Ro H.S. Determination of mineral components in the cultivation substrates of edible mushrooms and their uptake into fruiting bodies. *Mycobiology*. 2009. V. 37. No. 2. P. 109–113. doi: 10.4489/MYCO.2009.37.2.109
47. Falandysz J. Selenium in edible mushrooms // *Journal of Environmental Science and Health C*. 2008. V. 26. No. 3. P. 256–299. doi: 10.1080/10590500802350086
48. Maseko T., Callahan D.L., Dunshea F.R., Doronila A., Kolev S.D., Ng K. Chemical characterisation and speciation of organic selenium in cultivated selenium-enriched *Agaricus bisporus* // *Food Chemistry*. 2013. V. 141. No. 4. P. 3681–3687. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.06.027
49. Nunes R.G.F.L., Luz J.M.R.D., Freitas R.D.B., Higuchi A., Kasuya M.C.M., Vanetti M.C.D. Selenium bioaccumulation in shiitake mushrooms: a nutritional alternative source of this element // *Journal of Food Science*. 2012. V. 77. No. 9. P. C983–C986. doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02837.x
50. Dong J.Z., Ding J., Pei Z.Y., Lei C., Zheng X.J., Wang Y. Composition and distribution of the main active components in selenium-enriched fruit bodies of *Cordy-*

- ceps militaris* link // Food Chemistry. 2013. V. 137. No. 1. P. 164–167. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.10.021
51. Turło J., Gutkowska B., Herold F., Gajzlerska W., Dawidowski M., Dorociak A., Zobel A. Biological availability and preliminary selenium speciation in selenium-enriched mycelium of *Lentinula edodes* (Berk.) // Food Biotechnology. 2011. V. 25. No. 1. P. 16–29. doi: 10.1080/08905436.2011.547113
52. Espinosa-Ortiz E.J., Gonzalez-Gil G., Saikaly P.E., van Hullebusch E.D., Lens P.N.L. Effects of selenium oxyanions on the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* // Applied Microbiology and Biotechnology. 2015. V. 99. No. 5. P. 2405–2418. doi: 10.1007/s00253-014-6127-3
53. Niedzielski P., Mleczek M., Siwulski M., Gąsecka M., Kozak L., Rissmann I., Mikołajczak P. Efficacy of supplementation of selected medicinal mushrooms with inorganic selenium salts // Journal of Environmental Science and Health. Part B. 2014. V. 49. No. 12. P. 929–937. doi: 10.1080/03601234.2014.951576
54. Milovanović I.N. Ability of selenium absorption and biological activity of mycelial extracts of selected Basidiomycotina species: Doctoral dissertation. Belgrade: University of Belgrade, Faculty of Biology. 2014. 84 p.
55. Turło J., Gutkowska B., Herold F. Effect of selenium enrichment on antioxidant activities and chemical composition of *Lentinula edodes* (Berk.) Pegl. mycelial extracts // Food and Chemical Toxicology. 2010. V. 48. No. 4. P. 1085–1091. doi: 10.1016/j.fct.2010.01.030
56. Gharieb M.M., Wilkinson S.C., Gadd G.M. Reduction of selenium oxyanions by unicellular, polymorphic and filamentous fungi: cellular location of reduced selenium and implications for tolerance // Journal of Industrial Microbiology. 1995. V. 14. No. 3–4. P. 300–311. doi: 10.1007/BF01569943
57. Poluboyarinov P.A., Vikhreva V.A., Leshchenko P.P., Aripovskii A.V., Likhachev A.N. Elemental selenium formation upon destruction of the organoselenium compound DAFS-25 molecule by growing fungal mycelium // Moscow University Biological Sciences Bulletin. 2009. V. 64. No. 4. P. 164–168. doi: 10.3103/S0096392509040075
58. Milovanović I., Brčeski I., Stajić M., Korać A., Vukojević J., Knežević A. Potential of *Pleurotus ostreatus* mycelium for selenium absorption // The Scientific World Journal. 2014. V. 2014. Article ID681834. 8 p. doi: 10.1155/2014/681834
59. Goyal A., Kalia A., Sodhi H.S. Selenium stress in *Ganoderma lucidum*: A scanning electron microscopy appraisal // African Journal of Microbiology Research. 2015. V. 9. No. 12. P. 855–862. doi: 10.5897/AJMR2014.7250
60. Serafin Muñoz A.H., Kubachka K., Wrobel K., Gutierrez Corona J.F., Yathavakilla S.K., Caruso J.A., Wrobel K. Se-enriched mycelia of *Pleurotus ostreatus*: distribution of selenium in cell walls and cell membranes/cytosol // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2006. V. 54. No. 9. P. 3440–3444. doi: 10.1021/jf052973u
61. Drevko B.I., Drevko R.I., Antipov V.A., Chernukha B.A., Yakovlev A.N. Remedy for treatment and prophylactics of Infectious diseases and poisonings of animals and poultry enhancing their productivity and vitality // Patent RU 2171140. Application: 99111064/13, 26.05.1999. Date of publication: 27.07.2001. Bull. 21 (in Russian).
62. Tsivileva O.M., Nikitina V.E., Pankratov A.N., Drevko B.I., Loshchinina E.A., Garibova L.V. Effect of a selenium-containing preparation DAPS-25 on growth and lectin activity of *Lentinus edodes* // Biotechnology in Russia. 2005. No. 2. P. 70–79.
63. Pankratov A.N., Tsivileva O.M., Drevko B.I., Nikitina V.E. Compounds of the 1,5-di(4-R-phenyl)-3-selenopentanediones-1,5 series interaction with the basidiomycete *Lentinula edodes* lectins: computations and experiment // Journal of Biomolecular Structure & Dynamics. 2011. V. 28. No. 6. P. 969–974. doi: 10.1080/07391102.2011.10508622
64. Pankratov A.N., Loshchinina E.A., Tsivileva O.M., Burashnikova M.M., Kazarinov I.A., Bylinkina N.N., Nikitina V.E. Effects of xenobiotic organoselenium compound on the growth and metabolism of basidiomycete *Lentinula edodes* culture // Izvestiya Saratovskogo Universiteta. Novaya Seriya. Khimiya. Biologiya. Ekologiya. 2012. V. 12. No. 1. P. 11–17 (in Russian).
65. 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 // Biological Trace Element Research. 2012. V. 149. No. 1. P. 97–101. doi: 10.1007/s12011-012-9399-4
66. Tsivileva O.M., Nguyen T.P., Vu L.N., Lyubun E.V., Voronin S.P., Gumenyuk A.P., Nikitina V.E. Biotechnologically valuable species as subjects of Russian-Vietnamese research cooperation in 2012-2014 dealt with mycology // Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya. 2014. No. 3 (8). P. 75–77.
67. Perfilova A.I., Tsivileva O.M., Koftin O.V. Growth behavior of phytopathogen *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* treated with selenium biocomposites of mushroom origin // Zhurnal Stress-Fiziologii i Biokhimii. 2016. V. 12. No. 1. P. 13–20 (in Russian).
68. Perfilova A.I., Tsivileva O.M., Ibragimova D.N., Koftin O.V., Fedotova O.V. Effect of selenium-containing biocomposites based on *Ganoderma* mushroom isolates grown in the presence of oxopropyl-4-hydroxycoumarins, on bacterial phytopathogens // Microbiology. 2017. V. 86. No. 2. P. 183–191. doi: 10.1134/S0026261717020163
69. Perfilova A.I., Tsivileva O.M., Drevko Ya.B., Ibragimova D.N., Koftin O.V. Effect of selenium-containing biocomposites from medicinal mushrooms on the potato ring rot causative agent // Doklady Biological Sciences. 2018. V. 479. No. 1. P. 67–69. doi: 10.1134/S0012496618020072
70. Perfilova A.I., Tsivileva O.M., Koftin O.V., Anis'kov A.A., Ibragimova D.N. Selenium-containing nanobiocomposites of fungal origin reduce the viability and biofilm formation of the bacterial phytopathogen *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* // Nanotechnologies in Russia. 2018. V. 13. No. 5–6. P. 268–276. doi: 10.1134/S1995078018030126

Экзометаболиты почвенных цианобактерий как стратегия выживания в естественных и техногенно нарушенных экосистемах

© 2019. Л. И. Домрачева^{1,2}, д. б. н., профессор,
А. И. Фокина³, к. б. н., доцент, А. Л. Ковина¹, к. б. н., доцент,
Т. Я. Ашихмина^{2,3}, д. т. н., профессор,
г. н. с., зав. лабораторией,

¹Вятская государственная сельскохозяйственная академия,
610017, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 133,

²Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
167982, Россия, Республика Коми, г. Сыктывкар,
ул. Коммунистическая, д. 28,

³Вятский государственный университет,
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,
e-mail: dli-alga@mail.ru

В обзоре проведён анализ литературных данных и результатов собственных исследований об экологической роли экзометаболитов (ЭМ) почвенных цианобактерий (ЦБ). Показано, что ЦБ способны синтезировать и выделять в окружающую среду широкий спектр разнообразных органических веществ, в число которых входят полисахариды, сахара, органические кислоты, пептиды, аминокислоты, алкалоиды, антибиотики, токсины. Экссудаты ЦБ становятся местом обитания прокариотных и эукариотных микроорганизмов, вступающих в сложные отношения с цианобактериальным партнёром и обеспечивая ему дополнительные возможности выживания в стрессовых условиях за счёт выделения гидролитических экзоферментов, разрушающих поллютанты. Формирование многовидовых микробных биоплёнок также во многом обусловлено выделением ЭМ. Доказана значимость ЭМ и в процессах обезвреживания токсикантов благодаря их сорбционной активности. Большое практическое значение имеет антимикробная активность ЭМ, что делает их перспективными для получения лекарственных препаратов противовирусной, антибактериальной, антигрибной и антикарцерной направленности.

Ключевые слова: цианобактерии, экзометаболиты, детоксикация поллютантов, обезвреживание патогенов, многовидовые микробные биоплёнки.

Exometabolites of soil cyanobacteria as a survival strategy in natural and technogenically disturbed ecosystems

© 2019. L. I. Domracheva^{1,2} ORCID: 0000-0002-7104-3337, A. I. Fokina³ ORCID: 0000-0001-8265-8882,
A. L. Kovina¹ ORCID: 0000-0003-0503-3402, T. Ya. Ashikhmina^{2,3} ORCID: 0000-0003-4919-0047

¹Vyatka State Agricultural Academy,

133, Oktyabrskiy Prospect, Kirov, Russia, 610017,

²Institute of Biology of Komi Science Center of the Ural Branch of RAS,
28, Kommunisticheskaya St., Syktывkar, Komi Republic, Russia, 167982,

³Vyatka State University,
36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,
e-mail: dli-alga@mail.ru

Cyanobacteria (CB) is one of the oldest and most prosperous groups of prokaryotic microorganisms, autotrophic in carbon (photosynthesis) and nitrogen (nitrogen fixation). Found in any ecological niche, they play a significant role in the geochemical cycles on the planet. The review analyzes the literature data and the results of our own research on the ecological role of exometabolites (EM) of soil cyanobacteria. It is shown that CB are able to synthesize and release into the environment a wide range of various organic substances, including polysaccharides, sugars, organic acids, peptides, amino acids, alkaloids, antibiotics, toxins. Exometabolites of CB not only protect their cells from such abiotic factors as excessive insolation and dehydration, but prevent the penetration of pollutants of different chemical nature, sorbing and binding them. The presence of biologically active substances in the composition of EM, which have antiviral, antibacterial, antifungal activity, provides the CB with a competitive advantage in the settlement of new ecotopes. Exudates of CB become a habitat for prokaryotic

and eukaryotic microorganisms that enter into complex relationships with the cyanobacterial partner and provide it with additional opportunities for survival in stressful conditions due to the release of hydrolytic exoenzymes destroying the pollutants. The formation of multi-species microbial biofilms received practical use in bioremediation measures, is also largely due to the release of EM. Of great practical importance is the antimicrobial activity of EM, which makes them promising objects for obtaining antiviral, antibacterial, antifungal and anticarcinogenic drugs. The ability of the CB to synthesize EM having such properties, is the basis for the creation of multifunctional biological preparations.

Keywords: cyanobacteria, exometabolites, destroying pollutants, neutralization of pathogens, multi-species microbial biofilms.

Цианобактерии (ЦБ), возникшие на Земле более 3 млрд лет тому назад, до сих пор остаются своеобразным «колодцем в прошлое» [1]. Секвенированием ряда генов у 20 штаммов ЦБ было доказано, что эволюционная диверсификация ЦБ произошла между 2,45 и 2,10 млрд лет тому назад путём образования гетероцист, в которых происходит процесс азотфиксации, и акинет, способствующих переживанию неблагоприятных условий [2]. Процессы постепенного накопления кислорода в атмосфере и связанного азота в биосфере напрямую коррелируют с фотосинтезом и азотфиксацией ЦБ [3, 4]. Филогенетическая древность ЦБ, прошедших через все исторические временные катаклизмы, позволяет им и в настоящее время оставаться одной из наиболее процветающих групп клеточных организмов, выживающих в любых экстремальных условиях среды [5]. Являясь важнейшим компонентом не только водной, но и почвенной микробиоты, ЦБ способны к массовому размножению на поверхности почвы. При этом плотность цианобактериальных популяций при «цветении» почвы в различных экотопах варьирует в пределах от 20 до 92 млн кл./см², а длина цианобактериальных нитей может достигать свыше 8 км/см² [6–8].

В процессе эволюции ЦБ выработали различные механизмы детоксикации веществ, способных вызывать гибель других организмов [9, 10]. Конкурентоспособность почвенных ЦБ основана, в частности, и на такой их способности, как синтез биологически активных веществ, обеспечивающих подавление размножения других микроорганизмов (МО), в частности, патогенов [11].

Цель данного обзора – анализ многофункциональной роли внеклеточных метаболитов почвенных цианобактерий в формировании устойчивости к разнообразным факторам внешней среды.

Химическая природа цианобактериальных экзометаболитов

Большая часть исследований химической природы экзометаболитов (ЭМ) связана с во-

дными формами ЦБ. Непременными компонентами ЭМ являются углеводы. Установлено, что на различных фазах роста представители рр. *Nostoc*, *Anabaena*, *Spirulina* выделяют от 19 до 60% от количества внутриклеточных углеводных компонентов [12]. Среди экссудатов водных ЦБ отмечаются также азотсодержащие вещества (аминокислоты, амины, пептиды и полипептиды), витамины и разнообразные органические кислоты, алкалоиды, сапонины, фенольные соединения [13–17]. ЦБ выделяют много летучих органических соединений: терпеноидов, нор-каротиноидов и сульфидов [18]. Доказан цианобактериальный синтез антибиотиков, обладающих, например, альгицидным действием (цианобактерин ЛУ-2 у *Nostoc* sp.) [19]. Токсины, выделяемые ЦБ, могут быть белками, алкалоидами, гетероциклическими соединениями [20, 21]. Существуют данные, что ЦБ синтезируют токсины пептидной природы, контролирующие численность собственной популяции [18].

При действии на микроводоросли ЭМ могут парализовать их подвижность и вызывать их оседание. Эти прокариотно-эукариотные химические взаимодействия способны увеличивать конкурентно-свободную зону для ЦБ [22]. К числу цианотоксинов относятся и нейротоксины, являющиеся преимущественно алкалоидами, которые характеризуются необычно быстрым действием, приводящим к гибели людей или животных в течение нескольких секунд или минут после их потребления без антидотов [23]. Ряд видов ЦБ выделяют цилиндроспермопсин – потенциальный гепатотоксический алкалоид, широко распространённый в пресноводных водоёмах по всему миру [24].

Однако, несмотря на высокую токсичность, эти вещества могут иметь определённое терапевтическое действие, что даёт основания их возможного использования в качестве фармакологических средств [25].

Исследования внеклеточных выделений почвенных ЦБ показали, что среди них, также как и у водных форм, в составе ЭМ содержатся разнообразные органические соединения.

Так, в состав ЭМ природных БП с доминированием *N. commune* входят полисахариды (9,8%), содержащие глюкуроновую кислоту, ксилозу, галактозу, глюкозу, также протеины (до 18,2%) [26]. А в составе полисахаридных ЭМ у *N. muscorum* и *N. flagelliforme* преобладают моносахара: манноза, галактоза, глюкоза и ксилоза [27, 28]. У других ЦБ в составе экзополисахаридов обнаружены уроновые кислоты и их производные (глюкуроновая и галактуроновая), а также их производные, содержащие амино-, метильные и сульфатные группы [29, 30]. Поэтому можно провести аналогию между химическим составом и макромолекулярной организацией цианобактериальных экзополисахаридов и пектином клеточных стенок растений [31]. У некоторых видов ЦБ доказан синтез внеклеточных ростовых веществ (ИУК), что используется, например, для стимуляции прорастания семян табака и индуцирования образования корней из каллуса [32].

Среди других ЭМ значительный интерес представляет липопептид антигрибного действия ностофунгицидин, содержащий в своём составе бета-амино кислоту 3-амино-6-гидроксил стеариновую кислоту, выделенный из наземной ЦБ *N. commune* [33]. Доказана фунгицидная активность экстрактов ЭМ других почвенных ЦБ [34–36]. Из экскретов почвенной ЦБ *Fischerella ambigua* выделен циклический полимер парсигин и алкалоиды амбигол А и амбигол В, обладающие антибактериальной и антигрибной активностью [37–39]. Антимикробная активность отмечается и для других видов данного рода: антифунгальный алкалоид фишереллин выделяет *F. muscicola* [40–42]. Среди ЭМ почвенной ЦБ *N. paludosum* обнаружены такие органические соединения, как фитоин, фитофлуин, N-ацетил глюкозамин, антиоксиданты (ликопин и лютеин), а также гормоны, предшественники гиббереллинов (каурен), витамин А и провитамины, цианопептид борофицин [43].

Экзометаболиты цианобактерий как место обитания и размножения микробов-спутников

Постоянными спутниками ЦБ являются сапротрофные МО, динамика численности которых обусловлена физиологической активностью первичных продуцентов. Изменения активности роста и фотосинтеза ЦБ на различных фазах развития культур ведёт к изменению количественного и качественного

состава ЭМ. В зависимости от фаз роста ЦБ биомасса бактерий по отношению к биомассе цианопрокариот составляет от 3 до 12% [44].

Выделения ЭМ почвенными водорослями и ЦБ способствуют созданию экологически специфичной для обитания других МО зоны – альгосферы. Основными факторами её формирования выступает экскреция значительной части фотоассимилятов (59–89%) [45].

Экзометаболиты, выделяемые ЦБ, остаются в виде диффузной слизи вокруг клеток или формируют очень мощные капсулы и чехлы, которые служат основой возникновения симбиозов ЦБ с другими организмами, для которых цианобактериальные экскреты становятся убежищем, источником влаги и питания [46]. Размножаясь, микробы-спутники выполняют функции, во многом аналогичные функциям ризосферной микробиоты, которые включают: гидролиз полимерных соединений с высвобождением пула макро- и микроэлементов; уничтожение отходов ЦБ, которые могут вызвать процесс самоотравления; накопление дополнительного азота за счёт деятельности азотфиксаторов; выделение дополнительных факторов роста; синтез антибиотиков, усиливающих адаптационный потенциал ЦБ к патогенам [47].

Была выдвинута рабочая гипотеза, по которой физиолого-биохимические свойства, присущие современным ЦБ и их ЭМ, сформировались сопряжённо с эволюцией биосферы [48]. При этом ни одна другая группа МО не использовала в таком объёме симбиотические отношения, как ЦБ. Согласно [49], доказательством того, что свободноживущие ЦБ нельзя рассматривать как дискретные целостные организмы, являются многочисленные примеры того, что в природе ЦБ всегда находятся в единой, биологической системе с гетеротрофами, заселяющими структурированную слизь, окружающую одиночные клетки и чехлы ЦБ. Слизистые ЭМ играют роль инкубационной камеры для бактериальных спутников. Слизь повышает резистентность ЦБ к высыханию, является необходимой предпосылкой для скользящего движения, выполняет роль буфера между клеткой и ОС. Передвижение ЦБ ведёт за собой и перемещение в пространстве сопутствующих МО. Видовой состав бактерий-спутников не является постоянным как по численности клеток, так и по их видовому разнообразию, что определяется экологическими особенностями биотопа. Наиболее постоянными партнёрами ЦБ являются бесспорные грамтрицательные палочки

pp. *Pseudomonas* и *Chromobacterium*, а также грамположительные бактерии pp. *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Sarcina* и *Bacillus* [15].

Помимо прокариот, ЭМ ЦБ становятся местом размножения и жизни эукариотных партнёров – водорослей и микромицетов. Особенно показательны в этом плане природные биоплёнки (БП) с доминированием ЦБ. В частности, существенное внимание уделяют изучению природных БП *N. commune*, которое, в частности, показало, что численность водорослей и ЦБ в подобных консорциумах составляет миллиарды клеток на 1 г воздушно-сухой массы БП [8]. Видовой состав фототрофов, помимо доминанта, включал другие виды ЦБ, а также зелёные и жёлтозелёные водоросли. Сапротрофный комплекс представлен аммонификаторами, азотфиксаторами, актиномицетами и микромицетами, суммарная численность которых превышает 5 млн КОЕ/г БП. При этом складываются особенно благоприятные условия для развития грибов, суммарная длина мицелия которых в данной ассоциации может превышать 2 км/г. Благодаря нитям ЦБ и грибному мицелию, погружённому в цианобактериальную слизь, ностоковый ценоз приобретает структуру лишайниково-подобной «псевдоткани». Агрегация клеток в подобной псевдоткани чрезвычайно прочна и обеспечивается не только наличием мицелиальных и нитчатых форм, но и мощным выделением слизистых ЭМ.

Экзометаболиты цианобактерий в обезвреживании токсикантов и патогенов

Существенную роль в процессе связывания поллютантов, включая ионы тяжёлых металлов (ТМ), неорганических анионов и органических веществ играют экзополисахариды, липиды и тиолы [50–52]. Возможна дегградация поллютантов под действием экзоферментов, в результате чего снижается концентрация загрязняющих веществ в ОС [53]. Экзометаболиты, вырабатываемые ЦБ в отсутствие поллютантов, уже обладают потенциалом связывать или разрушать загрязнители. Однако в присутствии токсикантов усиливается экскреция ЭМ. Например, возрастает скорость их выработки при наличии в среде ионов ТМ [54, 55].

Цианобактериальное обезвреживание токсикантов происходит и косвенно за счёт выработки веществ, стимулирующих развитие МО, осуществляющих непосредственную

утилизацию токсикантов [56–60]. Перспективны пути использования растительно-цианобактериальных комплексов для очистки почвы от ТМ. Так, ассоциация *Sinapis alba* + *F. muscicola*, созданная в результате предпосевной инокуляции семян горчицы белой фишереллой, способствует существенному выносу ионов меди из медьзагрязнённой почвы [61]. Вследствие этого подобный комплекс в дальнейшем можно использовать для разработки мероприятий по фиторемедиации почв с высоким содержанием ионов меди.

В целом, как показывает анализ литературных источников, ЦБ, благодаря способности к продуцированию широкого спектра ЭМ различной химической природы являются наиболее реальными потенциальными биоремедиационными агентами, по сравнению с другими МО [9].

Велика роль ЭМ ЦБ и в нарушении жизнедеятельности патогенных МО. Считают, что среди других прокариот по потенциальной способности синтезировать наиболее важные терапевтические агенты, обладающие антагонистической активностью, ЦБ можно сравнивать только с актиномицетами [62]. Экзометаболиты многих видов ЦБ обладают антивирусной, антибактериальной, антигрибной, антиопухоловой активностью [63]. Например, обнаружено, что ЭМ двух видов *Anabaena* ингибировали развитие *Staphylococcus aureus* [64]. Установлена роль ЭМ таких родов почвенных ЦБ, как *Phormidium* и *Microcoleus*, в ингибировании размножения *E. coli* и *Streptococcus enteritidis* [65]. Этилиминометил-12-(морфолин-4-ил-метокси)-5,8,13,16-тетрааза-гексацен-2,3-дикарбоновой кислоты, выделенный из ЦБ *Nostoc* sp., снижал синтез протеинов, отнесенных к репликации, транскрипции, переводу и транспорту в *E. coli* [66]. Селективный отбор 14 видов ЦБ показал, что ЭМ *Fisherella* sp., *Oscillatoria* sp. и *Anabaena* sp. обладают антагонистической активностью против грамотрицательных бактерий *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, грамположительных бактерий *S. aureus*, *B. cereus* и микромицетов *Aspergillus niger*, *Candida albicans* [11]. Дитерпеноид носкомин, выделенный из ЭМ *N. commune*, показал высокий уровень антагонистической активности против *B. cereus*, *St. epidermidis* и *E. coli* [67]. Экссудаты *Nostoc* sp. эффективны против *Cryptococcus* sp., который является причиной вторичной инфекции у пациентов с синдромом иммунодефицита [68]. ЭМ *Phormidium tenue* и *Pseudoanabaena schidlei* показали активность

против вируса гепатита В [69]. Антикарцерная активность обнаружена у этанольных экстрактов ЭМ нескольких штаммов одноклеточных ЦБ, выделенных из почв различных регионов Египта [70, 71]. Действие этих ЭМ приводило к снижению роста раковых клеток на 66–74%.

В последние годы появился цикл работ, посвящённый антимикробной активности ЦБ р. *Fischerella*. Например, из *F. ambigua* выделен новый антибиотик парсигин, обладающий ярко выраженной антибактериальной и антигрибной активностью против *Staphylococcus epidermidis* и *Candida krusei* [37]. Метанольные и этанольные экстракты этой ЦБ подавляют также развитие таких бактерий и грибов, как *B. subtilis*, *B. putida*, *E. coli*, *Fusarium* sp. [72–73]. В других работах показано, что в зависимости от химической природы экстракта меняется противомикробная мишень фишереллы. Например, водные вытяжки штамма *Fischerella* sp. FS18, выделенного из почвы рисового поля в Иране, ингибировали рост только *B. subtilis*. Этанольные, метанольные, ацетоновые, хлороформные неочищенные экстракты ЭМ *F. muscicola*, выделенной из полевой почвы в Индии, обладали антагонистической активностью против патогенных для человека штаммов *E. coli* и *St. aureus* [74]. В то же время бензиновые и метанольные экстракты ЭМ подавляли рост грамположительной бактерии *St. epidermidis*, грамотрицательных бактерий *Enterococcus faecalis* и *E. coli*, а также гриба *Candida kefyr* [75]. Для другого штамма *Fischerella* sp. BS1-EG была доказана высокая антифунгальная активность против грибов родов *Aspergillus*, *Fusarium* и *Penicillium* [76]. Более того, различные метаболиты данного штамма (жирные кислоты, алкалоиды, фенолы, аминокислоты и более 9 других соединений) оказывали цитотоксическое действие на клетки рака печени, лёгких, кишечника, молочных желез, а также обладали антигипергликемической активностью благодаря тому, что ингибировали ферментативную активность глюкозидазы.

В ряде других исследований показано, что антимикробная, гербицидная и антиканцерогенная активность различных видов фишереллы обеспечивается синтезом индольных алкалоидов, среди которых особое место занимают хапалолиндолы (А, С, G, H, I, J, U), а также фишериндол и фишереллин А и В [77–80]. Получены интересные результаты по антикарцерной и антидиабетической активности ЭМ *Fischerella* sp. [76]. Среди её ЭМ выделены жирные кислоты, алкалоиды,

фенолы, аминокислоты. Девять соединений идентифицированы как агенты, тормозящие рост клеток рака лёгких, языка, кишечника, молочной железы.

Антагонистический эффект чистой культуры *F. muscicola* и её бинарной ассоциации с актинобактерией *Streptomyces wedmorensis* зарегистрирован в опытах с искусственно инфицированными семенами ячменя и пшеницы различными видами фитопатогенных грибов рода *Fusarium* [81]. Микробная инокуляция заражённых семян существенно ограничивала развитие фузариозной инфекции в ризосфере высшего растения и улучшала его морфометрические показатели.

Таким образом, даже краткий обзор возможных путей использования ЦБ даёт представление об их высочайшем биотехнологическом потенциале.

Экзометаболиты в создании многовидовых сообществ

Процветание любых популяций во многом определяется их способностью осваивать новые экониши и заселять территорию. Слизь (ЭМ) ЦБ является матричной основой для формирования БП, которые становятся аналогом многофункциональных тканей высших организмов. Именно существование ЦБ в виде БП во многом обеспечивает их выживание в самых экстремальных природных условиях (пустыни, ледники, горы, поствулканические пеплы), а также при техногенных воздействиях и катастрофах (аварии на АЭС, на полигонах после испытания ядерного оружия, аварийные разливы нефти, в жёстких условиях урбанизированных экосистем, в агроценозах при массовом применении химикатов и т. д.) [47]. Персистентность БП во многом обусловлена физиолого-биохимическими свойствами, входящих в состав БП МО, которые фенотипически отличаются от тех же МО, существующих в виде одновидовых популяций [82–85]. Изучение коммуникативных отношений МО при формировании БП показало, что между партнёрами складываются определённые химические, физические, социальные отношения с формированием определённой архитектоники БП [86]. Даже в искусственно созданных ассоциациях на основе ЦБ и других МО выявляются существенные различия в морфологических и физиолого-биохимических характеристиках, по сравнению с монокультурами. Например, в цианобактериально-актиномицетной ассоциации (*Anabaena variabilis* + *Streptomyces*

pluricolorescens) азотфиксирующая активность ЦБ увеличилась в десятки раз, что стимулирует развитие актиномицета, который, в свою очередь, обеспечивает дополнительную защиту цианобактериального партнёра от патогенных МО за счёт выделения антибиотиков [87].

Многовидовые комплексы ЦБ получили практическое использование в различных биоремедиационных мероприятиях: для очистки нефтезагрязнённых почв [88–90], ускорения сукцессий при борьбе с опустыниванием в обеднённых растительных сообществах для восстановления их биоразнообразия [91]. Цианобактериальные обрастания в виде корок на поверхности почвы и скал в засушливый период способствуют сохранению влаги и снижают эрозию почвы [92–93]. Экзополисахариды ЦБ способствуют также агрегации почвенных частиц при инокуляции ЦБ в почву за счёт взаимодействия между выделяемыми полисахаридами и морфологическими единицами почвенных фракций [94].

Заключение

Цианобактерии, древнейшие организмы планеты, до сих пор играют важнейшую роль в биогеохимических циклах углерода и азота. Выделяя в ОС значительное количество биологически активных веществ, они способны выживать в широчайшем диапазоне стрессовых факторов. Экзометаболиты ЦБ не только предохраняют их клетки от таких абиотических факторов, как избыточная инсоляция и обезвоживание, но препятствуют проникновению внутрь поллютантов различной химической природы, сорбируя и связывая их. Экссудаты ЦБ становятся местом обитания микробов-спутников, чья гидролитическая активность служит ещё одним фактором обезвреживания токсикантов. Наличие в составе ЭМ биологически активных веществ, обладающих антивирусной, антибактериальной, антигрибной активностью обеспечивает ЦБ конкурентное преимущество в заселении новых экотопов.

Способность ЦБ к синтезу ЭМ, обладающих такими свойствами, является основой для создания биопрепаратов многофункционального назначения.

Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии Коми НЦ УрО РАН по теме «Оценка и прогноз отсроченного техногенного воздействия на природные и трансформированные экосистемы подзоны южной тайги» № 0414-2018-0003.

References

1. Zavarzin G.A. Selected works. Moskva: MAKSPress, 2015. 512 p. (in Russian).
2. Tanitani A., Knoll A., Cavanaugh H. Molecular-phylogenetic and paleontological perspective // Proc. Nat. Acad. Sci. 2006. V. 103. No. 14. P. 5442–5447.
3. Paerl H.W. Microscale physiological and ecological studies of aquatic Cyanobacteria: Macroscale implication // Microsc. Res. and Techn. 1996. V. 33. No. 1. P. 47–72.
4. Grula J.W. Evolution of photosynthesis and biospheric oxygenation contingent upon nitrogen fixation // Int. J. Astrobiol. 2005. V. 4. No. 3–4. P. 251–257.
5. Scaloni D. Cyanobacteria: Ecology, niche adaptation and genomic // Microbiol. Today. 2001. V. 28. No. 3. P. 128–130.
6. Domracheva L.I. “Blooming” of soil and regularities of its development. Syktyvkar: Komi NTs UrO RAN, 2005. 336 p. (in Russian).
7. Domracheva L.I., Fokina A.I. Role of cyanobacteria in stabilization of soil ecosystems // Cyanoprokaryota/cyanobacteria: Systematic, ecology, distribution. Syktyvkar, 2019. P. 119–123 (in Russian).
8. Domracheva L.I., Kondakova L.V., Pegushina O.A., Fokina A.I. Biofilms *Nostoc commune* as special microbiota sphere // Theoretical and Applied Ecology. 2007. No. 1. P. 15–19 (in Russian).
9. Kumar B.N.P., Manaboobi S., Satyam S. Cyanobacteria: a potential natural source for drug discovery and bioremediation // Jr. of Industrial Pollution Control. 2016. No. 32 (2). P. 508–517.
10. Microorganisms as agents of biomonitoring and bioremediation of contaminated soils / Eds. T.Ya. Ashikhmina, L.I. Domracheva. Kirov: Nauchnoe izdatel'stvo vyatskogo gosudarstvennogo universiteta, 2018. 254 p. (in Russian).
11. Osman R.K., Goda H.A., Higazy A.M. Evaluation of some extra- and intracellular cyanobacterial extracts as antimicrobial agents // Int. Jr. of Advanced Research. 2015. V. 3. No. 5. P. 852–864.
12. Shnyukova E.I., Romanenko V.M. Extracellular carbohydrates Cyanophyta and their functions // Algologiya. 1999. V. 9. No. 2. P. 162–163 (in Russian).
13. Sakevich A.I. Exometabolites of freshwater algae. Kiev: Naukova dumka, 1985. 200 p. (in Russian).
14. Sirenko L.A., Kozitskaya V.N. Biologically active substances of algae and water quality. Kyiv: Naukova dumka, 1988. 256 p. (in Russian).
15. Andreyuk E.I., Kopteva J.P., Zanina V.V. Cyanobacteria. Kiev: Nauk. Dumka, 1990. 200 p. (in Russian).
16. Scholz B., Libezrit G. Chemical screening for bioactive substances in culture media of microalgae and cyanobacteria from marine and brackish water habitats: First results // Pharm. Biol. 2006. V. 44. No. 7. P. 544–549.
17. Crnkovic C.M., May D.S., Orjala J. The impact of culture conditions on growth and metabolomic profiles of

freshwater cyanobacteria // Journal of Applied Phycology. 2018. V. 30. No. 1. P. 375–384.

18. Koksharova O.A. Functions of secondary metabolites of cyanobacteria: history of the problem and its current status // Cyanoprokaryota/cyanobacteria: Systematic, ecology, distribution. Syktyvkar, Russia, 2019. P. 29–32 (in Russian).

19. Vepritskiy A.A., Gromov B.V., Titova N.N., Mamkayeva K.A. Formation of antibiotic-algicidecyanobacterin LU-2 by filamentous cyanobacteria *Nostoc* sp. // Microbiologiya. 1991. V. 60. No. 6. P. 620–625 (in Russian).

20. Namikoshi M., Rinehart K.L. Bioactive compounds produced by cyanobacteria // J. Ind. Microbiol. 1996. V. 17. No. 5–6. P. 373–384.

21. Rogalska-Kupiec M., Bochnia T. Toksyny syntetyzowane prezez sinice // Wiad. Bot. 1998. V. 42. No. 1. P. 11–19.

22. Kearns K.D., Hunter M.D. Foxin-producing *Anabaena flos-aquae* induces setting of *Chlamydomonas reinhardtii*, a competing motile alga // Microb. ecol. 2001. V. 42 (1). P. 80–86.

23. Biatczyk J., Lechwski Z., Bober B. Neurotoksyny syntetyzowane prezez sinice // Wiad. bot. 2008. V. 52. No. 3–4. P. 43–53.

24. Stüken A., Campbell R., Quesada A., Sukenik A., Dadheech P., Wiedner C. Genetic and morphologic characterization of four putative cylindrospermopsin producing species of the cyanobacterial genera *Anabaena* and *Aphanizomenon* // J. Plankton Res. 2009. V. 31. No. 5. P. 465–480.

25. Kirpenko U.A., Kirpenkon N.I., Parshikov A.B. Natural populations of blue-green algae-producers of biological active substances (BAS) // Gidrobiologicheskij zhurnal. 1999. V. 35. No. 1. P. 77–82 (in Russian).

26. Shubakov A., Patova E., Sivkov M., Mikhaylova E., Zubkova L. General chemical characteristics of polysaccharides and amino acids of cyanobacterium *Nostoc commune* Vauch. from the Arctic latitudes // Butlerov Communications. 2016. V. 47. No. 9. P. 143–150.

27. Su Jianyu, Jia Shiru, Chen Xuefeng, Haifeng Y. Morphology, cell grow, and polysaccharide production of *Nostoc flagelliforme* in liquid suspension culture at different agitation rates // J. Appl. Phycol. 2008. V. 20. No. 3. P. 213–217. doi: 10.1007/s10811-007-9221-4

28. Chubakova A.A., Popeiko O.V., Vityazev F.V., Mikhailova E.A. Polysaccharides of microalgae. Part 1. General chemical characteristics of extracellular polysaccharides of cyanobacteria *Nostoc muscorum* Ag. Ex Born. et Flah. // Butlerov Communications. 2015. V. 44. No. 11. P. 146–150 (in Russian).

29. Shah V., Garg N., Madamwar D. Characterization of the extracellular polysaccharide produced by a marine cyanobacterium, *Cyanothece* sp. ATCC51142, and its exploitation toward metal removal from solution // Curr. Microbiol. 2000. V. 40. P. 274–278. doi: 10.1007/s002849910054

30. Vicente-Garcia V., Rios-Leal E., Calderon-Dominiguez G., Canizares-Villanueva R.O., Olvera-Ramirez R.

Detection, isolation, and characterization of exopolysaccharide produced by strain of *Phormidium* 94a isolated from an arid zone of Mexico // Biotechnol. Bioeng. 2004. V. 85. P. 306–310. doi: 10.1002/bit.10912

31. Baulina O.I., Titel K., Gorelova O.A., Malay O.V., Ewald R. Permeability of mucous surface structures of cyanobacteria for macromolecules // Microbiology. 2008. V. 77. No. 2. P. 232–240 (in Russian).

32. Boopathi T., Balamurugan V., Gopinath S., Sundararamav M. Characterization of IAA production by the mangrove cyanobacterium *Phormidium* sp. MI405019 and its influence on tobacco seed germination and organogenesis // J. Plant Growth Regul. 2013. V. 32. No. 4. P. 758–766. doi: 10.1007/s00344-013-9342-8

33. Kajiyama S., Kanzaki H., Kawazu K., Kobayashi A. *Nostoc* fungicide, an antifungal lipopeptide from the field grown terrestrial blue-green alga *Nostoc commune* // Tetrahedron Lett. 1998. V. 39 (22). P. 3737–3740.

34. Prasanna R., Nain L., Tripathi R., Gupta V., Chaudhary V., Middha S., Joshi M., Ancha R., Kaushik B.D. Evaluation of fungicidal activity of extracellular filtrates of cyanobacteria – possible role of hydrolytic enzymes // J. Basic Microbiol. 2008. V. 48. No. 3. P. 186–194.

35. Pawar S.T., Puranik P.R. Screening of terrestrial and freshwater halotolerant cyanobacteria for antifungal activities // World J. Microbiol. and Biotechnol. 2008. V. 24. No. 7. P. 1019–1025. doi.org/10.1007/s11274-007-9565-6

36. Abed R.M.M., Dobretsov S., Sudesh K. Applications of cyanobacteria in biotechnology // J. Appl. Microbiol. 2009. V. 106. No. 1. P. 1–12. doi: 10.1111/j.1365-2672.2008.03918.x

37. Ghasemi Y., Yazdi M.T., Shafree A., Shokravi S., Zarrini G.B. Parsiguine, a novel antimicrobial substance from *Fischerella ambigua* // Pharmaceutical Biology. 2004. V. 42. No. 4–5. P. 318–322. doi: 10.1080/13880200490511918

38. Falch B.S., König G.M., Wright A.D., Sticher O. Ambigol A and B: new biological active polychlorinated aromatic compounds from the terrestrial blue-green alga *Fischerella ambigua* // J. Org. Chem. 1993. V. 58. P. 6570–6575. doi: 10.1002/chin.199412284

39. Smitka T.A., Bonjouklian R., Doolin L., Jones N.D., Deeter J.B., Yoshida W.Y., Prinsep M.R., Patterson G.M.L. Ambiguine isonitriles, fungicidal hapalindole-type alkaloids from three genera of blue-green algae belonging to Stigonemataceae // J. Org. Chem. 1993. V. 57. P. 857–861.

40. Papke U., Gross E.M., Francke W. Isolation, identification and determination of the absolute configuration of fischerellin B. A new algicide from the freshwater cyanobacterium *Fischerella ambigua* (Thuret.) // Tetrahedron Lett. 1997. V. 38. P. 379–382.

41. Park A., Moore R.E., Patterson G.M.L., Fischerindole L. A new isonitrile from the terrestrial blue-green alga *Fischerella muscicola* // Tetrahedron Lett. 1992. V. 33. P. 3257–3260.

42. Hagmann L., Jütter F. Fischerellin A, a novel photosystem-II-inhibiting allelochemical of the cyanobac-

terium *Fischerella muscicola* with antifungal and herbicide activity // Tetrahedron Lett. 1996. V. 37. P. 6539–6542.

43. Fokina A., Domracheva L., Ogorodnikova S. Influence of cyanobacterium *Nostoc paludosum* and its exometabolites on barley growth // Principy ekologii. 2019. V. 8. No. 3. P. 106–116 (in Russian). doi: 10.15393/j1.art.2019.9182

44. Tiberkevich N.Ya., Sakevich A.I. Bacteria-satellites in cultures of cyanoprokaryotes and green algae // Gidrobiologicheskii zhurnal. 2001. V. 37. No. 1. P. 54–63 (in Russian).

45. Dedish S.N., Zenova G.M. Specific zone around algae cells in soil // Algologiya. 1992. V. 2. No. 4. P. 32–38 (in Russian).

46. Ekman M., Picossi S., Campbell E.L., Meeks J.C., Flores E. A *Nostoc punctiforme* sugar transporter necessary to establish a cyanobacterium-plant symbiosis // Plant. Physiol. 2013. V. 161. P. 1984–1992. doi: 10.1104/pp.112.213116

47. Resistance of soil microbial complexes to anthropogenic environmental factors / Eds. L.I. Domracheva., T.Ya. Ashikmina. Syktyvkar: Komi NC UrO RAN, 2019. 254 p. (in Russian).

48. Pankratova E.M. Establishment of functional peculiarities of Cyanobacteria all the way of their evolution with biosphere // Theoretical and Applied Ecology. 2010. No. 3. P. 4–11 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2010-3-004-011

49. Pankratova E.M., Trefilova L.V. Symbiosis as basis for existence of cyanobacteria in nature and *in vitro* // Theoretical and Applied Ecology. 2007. No. 1. P. 4–14 (in Russian).

50. De Philippis R., Colica G., Micheletti E. Exopolysaccharide-producing cyanobacteria in heavy metal removal from water: molecular basis and practical applicability of the biosorption process // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2001. V. 92. P. 697–708.

51. Meng H., Xia Y., Chen H. Bioremediation of surface water co-contaminated with zinc(II) and linear alkylbenzene sulfonates by *Spirulina platensis* // Physics and Chemistry of the Earth Parts A/B/C. 2012. P. 47–48. doi: 10.1016/j.pce.2011.06.003

52. El-Bestawy E., Abdelsalam A., Lana Saeed Mohamed Abd Allah Efficiency of heavy metals bioaccumulation using free-living environmental cyanobacterial species // J. Biotechnol. Biomater. 2014. V. 3. No. 5. P. 193. doi: 10.4172/2155-952X.S1.028

53. Lakhan K., Navneeta B. Enzymatic bioremediation: a smart tool to fight environmental pollutants // Smart Bioremediation Technologies Microbial Enzymes. Academic Press, 2019. P. 99–118. doi: 10.1016/B978-0-12-818307-6.00006-8

54. Biswanath B.U., Shankar P.U., Gunapati O., Abhijit M., Tarun K.B., Onkar N.T. Characterization, genetic regulation and production of cyanobacterial exopolysaccharides and its applicability for heavy metal removal // Carbohydrate Polymers. 2018. V. 179. P. 228–243. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.09.091

55. Pratima G., Batul D. Bacterial exopolysaccharide mediated heavy metal removal: A review on biosynthesis, mechanism and remediation strategies // Biotechnology Reports. 2017. V. 13. P. 58–71. doi: 10.1016/j.btre.2016.12.006

56. Abed R.M.M., Köster J. The direct role of aerobic heterotrophic bacteria associated with cyanobacteria in the degradation of oil compounds // Int. Biodeterior. Biodegrad. 2005. V. 55. P. 29–37.

57. Madhumanti M.I., Gopinath H., Gunapati O., Thingujam I., Onkar N.T. Bioremediation of organic and inorganic pollutants using microalgae // New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering. Microbial Secondary Metabolites Biochemistry and Applications. Elsevier BV, 2019. P. 223–235. doi: 10.1016/B978-0-444-63504-4.00017-7

58. Muñoz R., Guieysse B., Mattiasson B. Phenanthrene biodegradation by an algal-bacterial consortium in two-phase partitioning bioreactors // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2003. V. 61. P. 261–267.

59. Tang X., He L.Y., Tao X.Q., Dang Z., Guo C.L., Lu G.N. Construction of an artificial microalgal-bacterial consortium that efficiently degrades crude oil // J. Hazard Mater. 2010. V. 181. P. 1158–1162.

60. Kirkwood A.E., Nalewajko C., Fulkorpe R.R. The effects of cyanobacterial exudates on bacterial growth and biodegradation of organic contaminants // Microbial Ecol. 2006. V. 51. No. 1. P. 4–12.

61. Gornostaeva E.A., Domracheva L.I. Kovina A.L., Trefilova L.V. Prospects of biotechnological use of cyanobacteria *Fischerella muscicola* // Biotechnology – from science to practice: Conf. with international. participation. V. 1. Ufa: Basking, 2014. P. 98–101 (in Russian).

62. Chakdar H., Jadhav S., Dhar D., Pabbi S. Potential applications of blue green algae // Journal of Scientific and Industrial Research. January 2012. V. 71. P. 13–20.

63. Sing S., Kate B.N., Banerjee U.C. Bioactive compounds from cyanobacteria and microalgae: an overview // Critical Reviews in Biotechnology. 2005. V. 25. P. 73–95. doi: 10.1080/07388550500248498

64. Bhattacharyya S., Deep P.R., Nayak B., Panigrahi M., Mohapatra B. Antimicrobial activity of two diazotrophic Cyanobacteria against *Staphylococcus aureus* // Int. J. Med. Arom. Plants. 2013. V. 42. No. 2. P. 283–292.

65. Thummajitsakul S., Silprasit K., Sittipraneed S. Antibacterial activity of crude extracts of cyanobacteria *Phormidium* and *Microcoleus* species // African Journal of Microbiol. Research. 2012. V. 6 (10). P. 2574–2579. doi: 10.5897/AJMR12.152

66. Kang Hahk-Soo, Santarsiero B.D., Kim Hyunjung, Kronic A., Shen Qi, Swanson S.M., Chai Heebyung, Kinghorn A.D., Orjala J. Merocyclophanes A and B, antiproliferative cyclophanes from the cultured terrestrial cyanobacterium *Nostoc* sp. // Phytochemistry. 2012. V. 79. P. 109–115.

67. Jaki B., Orjala J., Sticher O. A novel extracellular diterpenoid with antibacterial activity from the cyanobacterium *Nostoc commune* // J. Nat. Prod. 1999. V. 62. P. 502–503.

68. Hirsch C.F., Liesch J.M., Salvatore M.J., Schwartz R.E., Sesin D.F. Antifungal fermentation product and method // Patent US4946835. Submission date: 07.08.1990.
69. Gopalakrishnan V., Pramod N.P., Sundararaman M., Subramanian G., Thiyagarajan S.P. Antimicrobial properties of marine cyanobacteria // Cyanobacterial biotechnology: Proceedings of the international symposium. New Delhi, 1998. P. 456–458.
70. Nermin A.E.S., Manar F. Anticancer activity of *Cyanothece* sp. strain extracts from Egypt: First record // Asian Pac. J. Trop. Biomed. 2015. V. 5 (12). P. 992–995.
71. Mandal S., Rath J. Anticancer drug development from cyanobacteria // Extremophilic cyanobacteria for novel drug development. Switzerland: Springer International Publishers, 2015. P. 63–78. doi: 10.1007/978-3-319-12009-6_4
72. Devi K.M., Mehta S.K. Antimicrobial activity and GC-MS analysis of freshwater cyanobacterium *Fischerella ambigua* // World Journal of Pharmaceutical and Medical Research. 2016. V. 2. No. 5. P. 199–208. doi: 10.20546/ijcmas.2018.701.409
73. Tripathi M.K., Kumar M., Deepali S., Asthana R.K., Nigam S. Proteomic analysis of sensitive and resistant isolates of *Escherichia coli* in understanding target(s) of a cyanobacterial biomolecule Hapalindole-T // J. Aquac Res Development. 2017. V. 8. No. 1. P. 1–5. doi: 10.4172/2155-9546.1000467
74. Singh J., Mishra S.K., Dwivedi N., Agrawal N.K. Antibacterial activity of *Fischerella muscicola* NDUPC001 // IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry. 2017. V. 3. P. 87–90.
75. Soltani N., Zarrini G., Ghasemi Y., Shokravi S., Baftehchi L. Characterization of a soil cyanobacterium *Fischerella* sp. FS18 under NaCl stress // J. of Biological Sciences. 2007. V. 7. No. 6. P. 931–936.
76. Ahmed B.E., Badaw M.H., Mostafa S.S., Higazy A.M. Human anticancers and antidiabetic activities of the cyanobacterium *Fischerella* sp. BS1-EG isolated from River Nile, Egypt // Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2018. V. 7. No. 1. P. 3473–3485. doi: 10.20546/ijcmas.2018.701.409
77. Kim H., Lantvit D., Hwang C.H., Kroll D.J., Swanson S.M., Franzblau S.G., Orjala J. Indole alkaloids from two cultured cyanobacteria, *Westiellopsis* sp. and *Fischerella muscicola* // Bioorg. Med. Chem. 2012. V. 20. No. 17. P. 5290–5295. doi: 10.1016/j.bmc.2012.06.030
78. Asthana R.K., Srivastava A., Singh A.P., Singh S.P., Nath G., Srivastava R., Srivastava B.S. Identification of an antimicrobial entity from the cyanobacterium *Fischerella* sp. isolated from bark of *Azadirachta indica* (Neem) tree // J. of Applied Phycology. 2006. V. 18. P. 33–39.
79. Hagemann L., Jüttner F. Fischerellin A, a novel photosystem-II-inhibiting allelochemical of the cyanobacterium *Fischerella muscicola* with antifungal and herbicidal activity // Tetrahedron Letters. 1996. V. 37. No. 36. P. 6539–6542. doi: 10.1016/0040-4039(96)01445-1
80. Mo S., Krunic A., Chlipata G., Orjala J. Antimicrobial ambiguous isonitriles from cyanobacterium *Fischerella ambigua* // J. Nat Prod. 2009. V. 72. No. 5. P. 894–899. doi: 10.1021/np800751j
81. Gayfutdinova A.R., Domracheva L.I., Trefilova L.V. Prospects of using *Fischerella muscicola* and sodium azide for suppression of *Fusarium solani* development // Theoretical and Applied Ecology. 2013. No. 2. P. 124–128 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2013-2-124-128
82. Costerton J.W., Lewandowski Z., Caldwell D.E., Korber D.R., Lappin-Scott H.M. Microbial biofilms // Annu Rev. Microbiol. 1995. No. 49. P. 711–745. doi: 10.1146/annurev.mi.49.100195.003431
83. Donlan R.M., Costerton J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms // Clin. Microbiol. 2002. V. 15. P. 167–193. doi: 10.1128/cmr.15.2.167-193.2002
84. Sumina U.L. Behavior of filamentous cyanobacteria in laboratory culture // Mikrobiologiya. 2006. V. 75. No. 4. P. 532–537 (in Russian).
85. Plakunov V.K., Strelkova E.K., Zhurina M.V. Persistence and adaptive mutagenesis in biofilms // Mikrobiologiya. 2010. V. 79. No. 4. P. 532–537 (in Russian).
86. Oleskin A.V., Kirovskaya T.A. Population-communicative direction in microbiology // Mikrobiologiya. 2006. V. 75. No. 4. P. 440–445 (in Russian).
87. Zvyagintsev D.G., Zenova G.M., Lobakova E.S., Nikolaev G.M., Omarova E.O., Ivanova E.A., Savelyev I.B. Morphological and physiological changes of cyanobacteria in experimental cyanobacterial-actinomycete associations // Mikrobiologiya. 2010. V. 79. No. 3. P. 329–336 (in Russian).
88. Soprunova O.B., Dzerzhinsky I.R. Problems and prospects of bioremediation development // Biotechnology: condition and perspective development. Mater. II Mosk. int. cong. Part 2. Moskva, 2003. P. 10 (in Russian).
89. Sánchez O., Diestra E., Esteve I., Mas J. Molecular characterization of an oil-degrading cyanobacterial consortium // Microbial Ecol. 2005. V. 50. No. 4. P. 580–588.
90. Gorlenko M.V., Soprunova O.B., Shadrina O.I., Terekhov A.S. Complex assessment of the efficiency of remediation of oil-contaminated soils by introduced cyanobacterial community // Vest. Mosk. Univ. 2006. Ser. 17. No. 1. P. 38–44 (in Russian).
91. Lan S., Zhang Q., Wu L., Liu Y., Zhang D., Hu C. Cyanobacterial inoculation facilitates the succession of vegetation communities // Environ. Sci. and Technol. 2014. V. 48. No. 1. P. 307–315.
92. Williams W., Büdel B., Reichenberger H., Rose N. Cyanobacteria in the Australian northern savannah detect the difference between intermittent dry season and wet season rain // Biodivers. and Conserv. 2014. V. 23. No. 7. P. 1829–1844.
93. Monastersky R. Supersoil // Sci. News. 1989. V. 136. No. 24. P. 376–377.
94. Falchini L., Sparvoli E., Tomaselli L. Effect of *Nostoc* (Cyanobacteria) inoculation of the structure and stability of clay soils // Biol. Fertit soils. 1996. V. 23 (3). P. 346–352.

Концепция обеспечения экологической безопасности воздушной среды городов в природно-технических системах горно-котловинного типа

© 2019. А. П. Щербатюк, к. т. н., доцент,
Забайкальский государственный университет,
672039, Россия, г. Чита, ул. Александро-Заводская, д. 30,
e-mail: andrey.shcherbatyuk.63@mail.ru

Разработана концепция обеспечения экологической безопасности воздушной среды городов в природно-технических системах горно-котловинного типа, в которой рассмотрены концептуальные подходы отечественных и зарубежных авторов к вопросам единой системы расселения, территориальных природно-хозяйственных систем и комплексов, континентально-океанической дихотомии, фрактальной географической трихотомии, географической экспертизы и т. д. Предложена, научно обоснована и подтверждена гипотеза, согласно которой имеется необходимость разработки концепции обеспечения экологической безопасности воздушной среды городов в природно-технических системах горно-котловинного типа. Выявлены геоэкологические аспекты формирования качественного состава атмосферы регионов России, а также городов, расположенных в условиях внутриконтинентальных межгорных котловин с учётом природных и техногенных факторов на примере характерных объектов.

Проведена оценка геоэкологических угроз и географических механизмов их реализации, динамики загрязнения атмосферного воздуха характерных объектов (Читинско-Ингодинской и Тугнуйской впадин и расположенных вблизи городов Чита и Петровск-Забайкальский). Выявлены закономерности проявления чрезвычайно опасных концентраций загрязняющих веществ, позволяющие спрогнозировать показатели условий для жизни населения урбанизированных городов, расположенных в межгорных котловинах.

Ключевые слова: концепция обеспечения, экологическая безопасность, воздушная среда, природно-технические системы, горно-котловинный тип.

Concept of environmental safety of air environment of cities in natural-technical systems of mountain-hollow type

© 2019. A. P. Shcherbatyuk ORCID: 0000-0002-5038-3252
Transbaikal State University,
30, Aleksandro-Zavodskaya St., Chita, Russia, 672039,
e-mail: andrey.shcherbatyuk.63@mail.ru

The concept of ensuring environmental safety of the air environment of the cities in natural and technical systems mountain котловинного type in which conceptual approaches of domestic and foreign authors to questions of a uniform system of resettlement, territorial natural and economic systems and complexes, a continental and oceanic dichotomy, a fractal geographical trichotomy, geographical examination, etc. are considered is developed. The hypothesis according to which there is a need of development of the concept of ensuring environmental safety of the air environment of the cities for natural and technical systems mountain котловинного type is offered, evidence-based and confirmed. Geoeological aspects of formation of qualitative composition of the atmosphere of regions of the Russian Federation and also the cities located in the conditions of midland intermountain hollows taking into account natural and technogenic factors on the example of characteristic objects are revealed.

The assessment of geoeological threats and geographical mechanisms of their realization, dynamics of pollution of atmospheric air of characteristic objects is carried out (The Chita and Ingoda and Tugnuysky hollows and the cities of Chita located close and Petrovsk-Zabaykalsky). The regularities of manifestation of extremely dangerous concentration of pollutants allowing to predict indicators of conditions for life of the population of the urbanized cities located in intermountain hollows are revealed.

Keywords: concept of maintenance, environmental safety, air environment, natural-technical systems, mountain-hollow type.

Проблема загрязнения атмосферного воздуха крупных городов, большая часть которых расположена в понижениях рельефа (на побережьях морей и океанов, в речных долинах и межгорных котловинах), становится актуальной с середины прошлого века. Среди них так называемый «великий смог» – загрязнение воздуха, имевшее место в г. Лондоне в декабре 1952 г., в результате которого погибло несколько тысяч человек [4], масштабное загрязнение в г. Лос-Анджелесе [2].

К настоящему времени признается глобальность проблематики техногенного загрязнения атмосферного воздуха городов в целом и особенно городов, расположенных внутри горных стран и регионов [3]. Так, в Латинской Америке, где около двух третей населения проживает в Андах в условиях горных долин, на снижение качества воздуха влияют выбросы загрязняющих веществ (ЗВ), отходящих как от стационарных источников, так и от автотранспорта [4]. Присутствие значительного количества техногенных загрязнителей фиксируется в городах Альп [5], Кавказа [6], Малоазиатского нагорья [7], на Межгорных плато на западе США [8]. В пределах Внутренней Азии воздействие загрязнителей на атмосферный воздух уже стало серьёзной проблемой для крупных городов Китая [9] и значительно менее населённого Кыргызстана [10].

Так, именно горно-котловинное расположение провинции Сычуань предопределяет то, что она является четвёртым в ряду загрязнённых регионов Китая [11]. В другом китайском регионе – Гуаньчжун, окружённом горами, выявлено воздействие местных циркуляций на загрязнение воздуха в зимнее время [12].

Постоянные температурные инверсии в зимний сезон на североамериканских Межгорных плато, расположенных между Тихоокеанскими Береговыми хребтами и Скалистыми горами, которые могут продолжаться до десяти дней и более и сопровождаются штилевой погодой, ограничивают атмосферное рассеивание и приводят к значительному загрязнению воздуха [13]. Похожая ситуация складывается зимой в горной части бассейна р. Молдова на севере Румынии [14]. Сильное загрязнение атмосферного воздуха в период с декабря по март, а также снежного покрова фиксируется на территории г. Улан-Батор в Монголии, расположенного в котловине Урга, которая характеризуется резкоконтинентальным климатом с большими суточными и годовыми колебаниями температуры и устойчивыми зимними инверсиями [15].

Характеристики атмосферной циркуляции, являющиеся функцией многочисленных параметров географического положения, рельефа и времени года, служат основой моделей, разрабатываемых для прогноза распределения загрязнений в котловинах, адаптации к такой ситуации населения и рационального размещения крупных промышленных объектов [16–18].

Предпринимаются попытки использовать возможности дистанционного мониторинга [19], а также геоинформационные системы и электронное картографирование для оценки экологической обстановки в городах с котловинным фактором территориальной организации [20], контроля и регулирования динамики котловинных геосистем [21–23].

Одним из основных направлений исследований в рамках рассматриваемой тематики является анализ заболеваемости и смертности населения городов в природно-технических системах горно-котловинного типа [24]. Исследования показывают, что высокий уровень загрязнения атмосферного воздуха в Афинах значительно снижают среднюю продолжительность жизни населения [25].

Таким образом, до настоящего времени в рамках рассматриваемой проблематики не до конца решены концептуальные подходы обеспечения экологической безопасности воздушной среды городов в природно-технических системах горно-котловинного типа.

В.С. Хореев в предложенной им концепции единой системы расселения ввёл термин «опорный каркас расселения» (ОК) [26]. Например, Г.И. Швевс свои многолетние наработки подвёл под концепцию территориальных природно-хозяйственных систем [27], у А.М. Котельникова изучение территориальных природно-хозяйственных комплексов (на примере Восточного Забайкалья) [28], у Л.А. Безрукова – концепция континентально-океанической дихотомии [29], у А.Н. Новикова – концепция фрактальной географической трихотомии [30]. И, наконец, труды К.П. Космачева были посвящены разработке понятия географической экспертизы [31].

Исходя из этого, возникает необходимость разработки концепции обеспечения экологической безопасности воздушной среды городов в природно-технических системах горно-котловинного типа.

Объект и методы исследования

Объект исследования – воздушная среда внутриконтинентальных природно-технических

систем горно-котловинного типа (на примере Читинско-Ингодинской и Тугнуйской впадин).

Задача исследования – изучение геоэкологических аспектов функционирования природно-технических систем на основе исследований природных и антропогенных факторов с целью разработки концепции обеспечения экологической безопасности воздушной среды городов в природно-технических системах горно-котловинного типа.

Методологический аппарат проведённых научных изысканий, предлагается на основе известных, классических и новых, современных, разработанных автором [32–34].

Комплексный индекс ИЗА $J(m)$, учитывающий массу загрязняющих веществ, рассчитывается по формуле:

$$\sum_{i=1}^m \text{ИЗА}_i = J(m) = \sum_{i=1}^m J_i = \sum_{i=1}^m \left(\frac{g_{cp_i}}{\text{ПДК}_{cc_i}} \right)^{n_i}$$

где g_{cp_i} – среднегодовая концентрация i -го загрязняющего вещества, мг/м³; ПДК_{cc_i} – среднесуточная предельно допустимая концентрация i -го загрязняющего вещества, мкг/м³; n_i – безразмерный коэффициент, позволяющий привести степень вредности i -того загрязняющего вещества к степени вредности диоксида серы. Значения n_i равны 1,5; 1,3; 1,0 и 0,85 соответственно для 1, 2, 3 и 4 классов опасности загрязняющего вещества. Диоксид серы относится по степени вредности к третьему классу опасности $n_i = 1$, к ней приводится вредность всех веществ.

Для расчёта комплексного индекса загрязнения атмосферы (ИЗА₅) используют значения единичных индексов ИЗА тех пяти веществ, у которых эти значения наибольшие.

Стандартный индекс (СИ) или наибольший единичный индекс загрязнения – наибольшая измеренная в городе максимальная разовая концентрация любого загрязняющего вещества, делённая на ПДК. В г. Чита (Читинско-Ингодинская впадина, двенадцать постов) натурные наблюдения проводились за содержанием 10 веществ, а в г. Петровск-Забайкальский (Тугнуйская впадина, три поста наблюдений) – за содержанием 5 веществ. По каждому химическому соединению выявлялась максимальная разовая концентрация и среднегодовая концентрации загрязняющего вещества в атмосферном воздухе. В СИ учитывается то вещество, максимальная разовая концентрация которого была выше всех других в течение года (месяца).

Результаты и обсуждение

Следует отметить, что территории с превышением предельно-допустимых концентраций среднесуточных (ПДК_{cc}) находятся в Сибирском федеральном округе (ФО), где сконцентрировано 90,9% городов приоритетного списка (2015 г.) (согласно ежегодным данным Главной геофизической обсерватории им. А.И. Воейкова). Все эти города расположены в условиях внутриконтинентальных межгорных котловин, в том числе г. Чита и г. Петровск-Забайкальский Забайкальского края (по результатам исследований автора).

В зимние месяцы повторяемость приземных инверсий в межгорных котловинах достигает 90% [35]. Годовой ход повторяемости приземных инверсий в г. Чита показан на рисунке 1.

В связи с частичными изменениями планировки города и строительством новых микрорайонов, вводом в эксплуатацию новых многоэтажных жилых домов и ключевых транспортных развязок, повышением плотности населения по административным районам, для проведения исследований загрязнения атмосферного воздуха г. Чита выбраны, в отличие, от стационарных пунктов Забайкальского управления по гидрометеорологии и охране окружающей среды, перемещающиеся по определённому маршруту посты натурных наблюдений (ПНН), расположенные на различных высотных отметках заселённых территорий. Исследования проводились на 12 ПНН в течение 2005–2015 гг.

В процессе натурных наблюдений осуществлялся отбор проб воздуха и их анализ на определение среднесуточных и максимальных разовых концентраций.

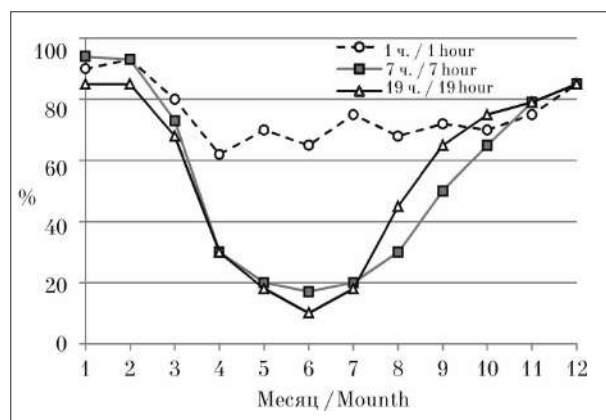


Рис. 1. Годовой ход повторяемости приземных инверсий в г. Чита
Fig. 1. Annual course of repeatability ground inversions in Chita

Таблица 1 / Table 1

Показатели оценки качества атмосферного воздуха по постам природных наблюдений г. Чита за период с 2005 по 2015 гг. / Indicators of assessment of air quality on the posts of field observations of Chita for the period from 2005 to 2015

| Показатели Indicators | Год / Year | | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 |
| СИ / Standard index | 8,0 | 10,4 | 12,8 | 14,2 | 15,5 | 14,9 | 10,5 | 12,6 | 41,4 | 77,5 | 64,2 |
| ИЗА _i / IAP _i | 18,7 | 24,7 | 30,7 | 22,4 | 28,3 | 22,2 | 21,8 | 20,2 | 26,1 | 29,0 | 33,3 |
| ИЗА ₅ / IAP ₅ | 16,7 | 22,4 | 28,1 | 20,9 | 21,5 | 20,4 | 19,8 | 18,7 | 24,4 | 27,2 | 30,0 |

На основании результатов исследований установлено, что только в 2015 г. кратность превышения ПДК по максимальной концентрации ЗВ была установлена: по бенз[а]пирену – в 64,1 раза; по формальдегиду – в 2,9; по оксиду углерода – в 5,3; по диоксиду азота – в 2,4; по сероводороду – в 4,9; по фенолу – в 9,8; по взвешенным веществам – в 24,1 раза; по саже – в 6,6. Комплексный индекс загрязнения атмосферы (ИЗА_i) за период 2005–2015 гг. увеличился в 1,8 раза (табл. 1).

Бенз[а]пирен является одним из основных загрязнителей атмосферного воздуха г. Чита. Годовой ход концентраций бенз[а]пирена, выявленный на двенадцати постах контроля, свидетельствует о том, что концентрация его остаётся чрезвычайно высокой, особенно в зимнее время, и это зависит от высоты местности над уровнем моря и профиля высот.

Проведённые натурные исследования свидетельствуют о том, что территория г. Чита характеризуется как неблагоприятная с экологической точки зрения за счёт загрязнения атмосферного воздуха в тёплый и, в большей степени, холодный периоды года.

Аналогичные исследования с 2005 по 2015 гг. проведены на трёх ПНН в г. Петровск-Забайкальский, в котором уровень загрязнения атмосферы оценивается как повышенный (2005–2007 гг.) и высокий (2008–2015 гг.). Наименьшая кратность превышения ПДК максимальной концентрации бенз[а]пирена составила 9,36 (2010 г.), наибольшая – 26,78 (2014 г.), что также свидетельствует о высоком уровне загрязнения атмосферы.

Нормированием качества атмосферного воздуха является зависимость воздействия ЗВ канцерогенного, раздражающего, токсичного, фиброгенного и мутагенного действия, находящихся в атмосферном воздухе, на здоровье населения. Изучение влияния рельефа местности на ИЗА и заболеваемость населения проводилось на основе анализа результатов натурных наблюдений автора и официальных данных государственной статистики (ГУЗ «Краевая клиническая больница», ГУЗ «За-

байкальский краевой онкологический диспансер»).

Показатели демографических потерь, обусловленные высокой степенью дискомфорта условий жизнедеятельности населения, в городах Забайкальского края с котловинным фактором территориальной организации проанализированы за период 2005–2015 гг.

На рисунке 2 показана оценка влияния рельефа местности на ИЗА бенз[а]пиреном, в таблице 2 приведены показатели демографических потерь по причине болезней органов дыхания в Забайкальском крае и в целом в Российской Федерации за период 2005–2015 гг.

Следует отметить, что смертность населения Забайкальского края по причине болезней органов дыхания за исследуемый период (2005–2015 гг.) увеличивается и выше средних значений по России в 1,76 раза.

ЗВ от автомобильного транспорта ежегодно составляют в среднем 80–85% от общего количества выбросов стационарных и передвижных источников. Различные техногенные источники г. Чита в течение года поставляют в атмосферу города до 65,4 тыс. т ЗВ.

Качество атмосферного воздуха в г. Чита наиболее проблематично в Железнодорожном и Ингодинском районах, расположенных непосредственно в пределах днища Читино-Ингодинской котловины – месте чрезвычайно опасного скопления ЗВ, в особенности – бенз[а]пирена.

После проведения натурных наблюдений и обработки экспериментальных данных по средним годовым показателям выполнен расчёт концентраций ЗВ при различных вариантах прогноза по четырём административным районам города по предложенной автором методике.

Используя методику, разработанную автором и аппроксимирующую функцию отображения средних значений анализируемого показателя ИЗА по бенз[а]пирену, можно осуществлять прогнозирование состояния качества атмосферного воздуха города (идентификацию моментов замедления, изменения направления и разворота текущего тренда).

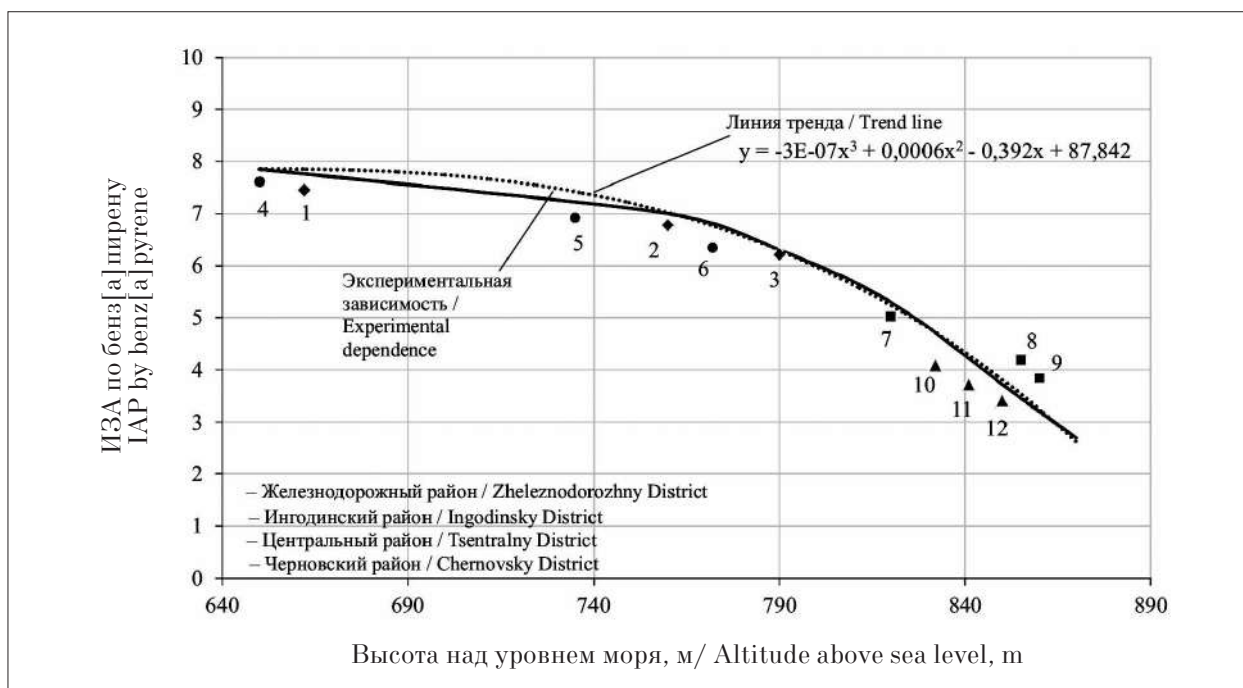


Рис. 2 Оценка влияния рельефа местности на индекс загрязнения атмосферы бенз[а]пиреном. Приведены усреднённые значения ИЗА бенз[а]пиреном за период 2005–2015 гг.
Fig. 2 Assessment of the impact of terrain on the atmospheric pollution (IAP) benz[a]pyrene index. Average IAP benz[a]pyrene value during 2005–2015

Таблица 2 / Table 2

Сравнительный анализ смертности населения РФ и Забайкальского края по причине болезней органов дыхания (на 100 тыс. населения)
 Comparative analysis of mortality of the population of the Russian Federation and the Zabaykalsky Krai due to respiratory diseases (per 100 thousand population)

| Регион / Region | Годы / Years | | | | | | | | | | |
|--|--------------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|------|------|------|
| | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 |
| Россия / Russia | 66,3 | 58,1 | 54,8 | 56,2 | 31,5 | 52,36 | 52,4 | 49,51 | 52,0 | 54,5 | 51,8 |
| Забайкальский край Zabaykalsky Krai | 119,5 | 110,0 | 101,8 | 105,4 | 80,8 | 67,9 | 122,7 | 74,1 | 71,2 | 66,2 | 79,5 |
| Кратность превышения Excess ratio | 1,80 | 1,89 | 1,86 | 1,88 | 2,56 | 1,37 | 2,34 | 1,50 | 1,37 | 1,22 | 1,53 |

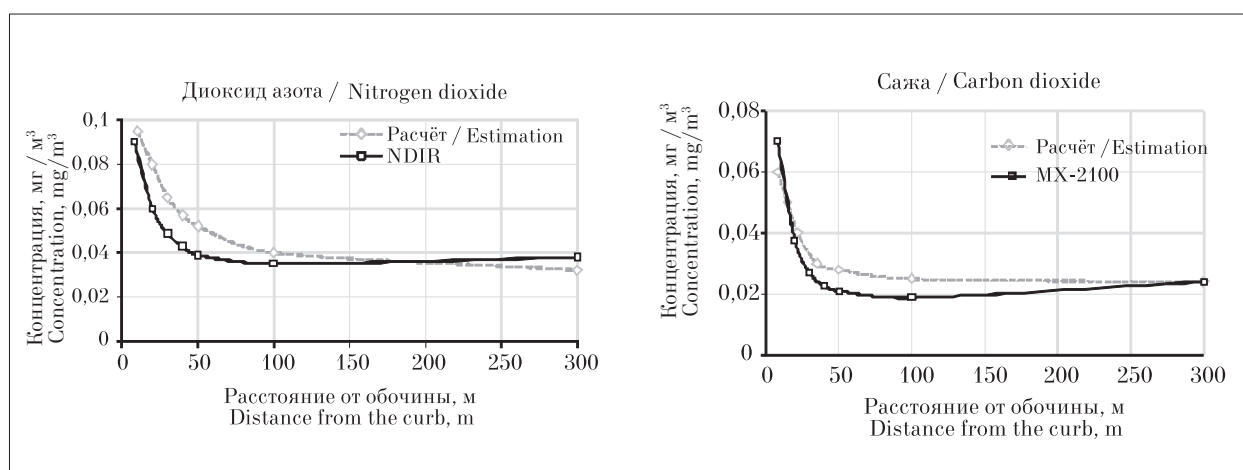


Рис. 3. Сравнение показателей расчёта концентраций загрязняющих веществ с данными натуральных измерений
Fig. 3. Comparison of indicators of calculation of concentration of pollutants with data of natural measurements

Проведено сопоставление результатов расчётов показателей концентраций ЗВ (рис. 3).

Можно сделать вывод, что отклонение природно-климатических условий внутриконтинентальных межгорных котловин от комфортных (термический суточный градиент, температурная инверсия, продолжительный период отрицательных температур, горизонтальная неоднородность атмосферы, высотная и приземная атмосферная циркуляция воздуха, резкая выраженность времени года) обуславливают скопление чрезвычайно опасных концентраций вредных веществ и высокий ИЗА, что создаёт необходимость разработки новых концептуальных подходов в решении геоэкологических проблем таких территорий.

Заключение

Предложенная в статье концепция обеспечения экологической безопасности воздушной среды городов в природно-технических системах горно-котловинного типа учитывает природные и антропогенные факторы, влияющие на формирование загрязнений воздушной среды города.

Результаты географических и геоэкологических научных изысканий и причин, влияющих на качество воздушной среды исследуемых территорий, свидетельствуют о том, что города Восточной Сибири наиболее подвержены антропогенному воздействию, особенно те, которые расположены в природно-технических системах горно-котловинного типа.

References

1. Abalakov A.D., Lopatkin D.A. Landscape Resilience and Mapping // *Izvestiya Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya Nauki o Zemle*. 2014. V. 8. P. 2–14 (in Russian).
2. Abalakov A.D., Lopatkin D.A., Batuev A.R., Korytny L.M. Geoinformation systems and electronic mapping for assessing the environmental situation in urban areas in intermountain depressions, monitoring and controlling the dynamics of depressive geosystems // *Materialy XXXIV Plenuma Geomorfologicheskoy 13 komissii RAN: posvyashchaetsya 80-letiyu volgogradskoy geografii. Volgograd: Volgogradskoe nauch. izd-vo*, 2014. P. 2–14 (in Russian).
3. Apostol L., Ilie N. Thermal hazards in cold semester of the year in the mountain area of Moldova river (sector between Vama and the Springs of Moldova river) // *Present Environment and Sustainable Development*. 2015. V. 9. No. 1. P. 251–261. doi: 10.1515/pesd-2015-0019
4. Air quality in major european cities. Part 1. Scientific background document to Europe's environment /

Ed. R.J. Sluyter. RIVM Report No. 722401004. Belthoven, Netherlands: National Institute of Public Health and Environment, 1995. P. 455–464.

5. Assessment and management of natural risks / Ed. A.L. Ragozin. Moskva: KRUK, 2003. 320 p.
6. Zhang B., Owen R.C., Perlinger J.A., Kumar A., Wu S., Val Martin M., Kramer L., Helmig D., Honrath R.E. A semi-Lagrangian view of ozone production tendency in North American outflow in the summers of 2009 and 2010 // *Atmos. Chem. Phys.* 2014. V. 14. P. 2267–2287. doi: 10.5194/acp-14-2267-2014
7. Batuyev A.R., Korytny L.M. New stage of Siberian cartography // *Nauka Angarskoy oblasti*. 2014. No. 2. P. 66 (in Russian).
8. Bei N.L., Juan G., Cao R.-J., Meng J., Feng N.A., Liu, S., Zhang T., Zhang T., Molina L.T. Typical synoptic situations and their impacts on the wintertime air pollution in the Guanzhong basin, China // *Atmos. Chem. Phys.* 2016. V. 16. P. 7373–7387. doi: 10.5194/acp-16-7373-2016
9. Bezrukov L.A. Continental-oceanic dichotomy in international and regional development. Novosibirsk: Geo, 2008. 369 p. (in Russian).
10. Economopoulos A.A., Economopoulos A.P. Air pollution in athens basin and health risk assessment // *Environmental Monitoring and Assessment*. 2002. V. 80. No. 3. P. 277–299. doi: 10.1023/A:1021124404645
11. Geniatulin R.F. Encyclopedia of Transbaikalia: Chita Region. Novosibirsk: Nauka, 2000. 302 p. (in Russian).
12. Haagen-Smit A.J. The control of air pollution in Los Angeles // *Engineering and Science*. 1954. V. 18 (3). P. 11–16.
13. Incecik C. Air quality status and air quality management efforts in Turkey: An overview // *The 14 th Pasific Regional Science Conference*. 2016. No. 6. P. 27–29.
14. Jacob D., Laurence B. The Great Smog of 1952. The habitable planet: A system approach to environmental science. 2004. [Internet resource] <http://www.learner.org/courses/envsci/index.html> (Accessed 31.10.2019)
15. Jimenez R., Arango C., Peña A. High-altitude valley in the Tropical Andes // *Eos Transactions American Geophysical Union*. New Jersey: John Wiley & Sons, 2011. P. 116.
16. Kosmachev K.P. Geographical examination (methodological aspects). Novosibirsk: Nauka, 1981. 112 p. (in Russian).
17. Vozmilov A.M., Votakh O.A., Kotelnikov A.M. Environment and conditions of sustainable development of the Chita region. Novosibirsk: Nauka, 1995. 248 p. (in Russian).
18. Lavrova O.Yu., Mityagina M.I., Kostoyanov A.G. Satellite methods for detecting and monitoring zones of ecological risk in marine areas. Moskva: IKI RAN, 2016. 334 p. (in Russian).
19. Mammadova Sh. Assessment of pollution of the atmospheric air in the cities of Azerbaijan // *Journal of*

Agriculture and Environmental Sciences. 2013. V. 2. No. 4. P. 15–25.

20. Materials of the XXXIV Plenum of the geomorphological Commission of the Russian Academy of Sciences: exogenous processes: research results in Russia and CIS Countries. Moskva: Planeta, 2014. 250 p. (in Russian).

21. Molina M.J., Molina L.T. Megapolices and air pollution, air log and waste management of the Association // Air Waste Manag. Assoc. 2004. V. 54 (10). P. 1226–1235.

22. National report on the state of the environment of the Kyrgyz Republic for 2014 [Internet recourse] <https://www.kg.undp.org/content/kyrgyzstan/en/home/library/poverty/the-national-report-on-the-state-of-the-environment-of-the-kyrgyz.html-2014> (Accessed: 31.10.2019).

23. Wang N., Mengersen K., Kimlin M., Zhou M., Tong S., Fang L., Wang B., Hu W. Lung cancer and polluting: critical analysis of spatial and temporal analysis of evidence // Environmental research. 2018. V. 164. P. 585–596. doi: 10.1016/j.envres.2018.03.034

24. Novikov A.N. Triune Geography: structure of science and orientation of geographic thinking // Perspectives of Science. 2010. No. 3. P. 10–15 (in Russian).

25. Horev B.S. Problems of cities: economic-geographical study of urban settlement in the USSR. Moskva: Mysl, 1971. 412 p. (in Russian).

26. Petkov ek S. Al-S., Kraigher H., Grebenc T., Simon i P. Types of ectomycorrhiza as pollution stress indicators: case studies in Slovenia // Environmental monitoring and assessment. 2007. V. 128 (1–3). P. 31–45. doi: 10.1007/s10661-006-9413-4

27. Scherbatyuk A.P. Natural and anthropogenic factors of geosystems of Russia with a territorial territorial

organization // Uspekhi sovremennoy nauki. 2017. No. 3. P. 165–170 (in Russian).

28. Scherbatyuk A.P. Protection of the atmospheric air of cities from pollution by exhaust gases of automobiles in regions with a sharp continental climate. Chita: ZabGU, 2011. 97 p. (in Russian).

29. Scherbatyuk A.P. The method of calculating the reduction of air pollution in cities with unfavorable geographic conditions // Vestnik ZabGU. 2016. No. 10. P. 41–54 (in Russian).

30. Schröder P., Bellis C., Schnelle-Kreis J., Herzig R., Prevot A., Fruin S., Winer A. Black carbon concentrations in 312 California vehicles and estimation of in-vehicle diesel exhaust particulate matter exposures // Atmospheric Environment. 2004. V. 3. P. 619–627.

31. Sorokina O.I., Kosheleva N.E., Kasimov N.S., Golovanov D.L., Bazha S.N., Dorjgotov D., Enkh-Amgalan S. Heavy metals in the air in the snow cover of Ulaanbaatar city // Journal of Geography and Natural Resources, Elsevier BV (Netherlands). 2013. V. 34. No. 3. P. 291–301.

32. Schwabes G.I. The concept of natural-economic territorial systems and environmental management issues // Geography and natural resources. 1987. No. 4. P. 30–38.

33. Tomskikh A.A. Intermountain basins of Transbaikalia: geographical aspects of development and environmental protection. Novosibirsk: Izd-vo SO RAN, 2006. 54 p. (in Russian).

34. Hu H., Li T., Chen X. The concentration distribution of exposures to particulate air pollution on different road sections // Transportation Research Procedia. 2017. V. 25. P. 3347–3357. doi: 10.1016/j.trpro.2017.05.199

Подходы для оценки и управления качеством компонентов урбоэкосистемы с помощью методов нейросетевого моделирования

© 2019. Ю. А. Тунакова¹, д. х. н., профессор, зав. кафедрой,
С. В. Новикова¹, д. т. н., профессор,
А. Р. Шагидуллин², к. ф.-м. н., с. н. с., В. С. Валиев², с. н. с.,
А. Х. Мораис³, профессор, зав. кафедрой,

¹Казанский национальный исследовательский технический университет
им. А. Н. Туполева (КАИ),

420126, Россия, г. Казань, ул. Четаева, д. 18,

²Институт проблем экологии и недропользования АН РТ,
420087, Россия, г. Казань, ул. Даурская, д. 28,

³Лиссабонский университет,

1349-063, Португалия, г. Лиссабон, ул. Са Нугейра, д. 1,

e-mail: juliaprof@mail.ru, artur.shagidullin@tatar.ru, ajmorais@iol.pt

Разработана методология оценки и управления качеством компонентов урбоэкосистемы, основанная на использовании новых информационных методов, обоснования маркерных биологических объектов и способов оценки их отклика на антропогенное воздействие, путей свёртки массивов данных, используемых для оценки. В представленной методологии учтены процессы поступления, накопления и отклика биологических объектов на воздействие маркерных веществ. Представлен подход для одновременного учёта и анализа разнородных и разноразмерных данных, имеющих различную степень влияния на состояние исследуемых компонентов урбоэкосистемы с использованием метода кластерного анализа. Зонирование территории урбоэкосистемы осуществлялось с помощью нейронных самоорганизующихся сетей Кохонена, реализованных в авторской модели нейросетевой фильтрации. С использованием вероятностных подходов предложен способ определения вероятностей превышения пороговых значений концентраций маркерных веществ-металлов в исследуемых компонентах урбоэкосистемы. Оценивалась вероятность того, что на территории, к которой относится то или иное наблюдение, будет отмечаться превышение заданного порога хотя бы одним из исследуемых показателей. В качестве порогов этих событий приняты медианы непрерывных рядов наблюдений концентраций металлов. В результате нами были рассчитаны вероятности превышения в каждой зоне половины исследуемых параметров заданных для них порогов. Факты превышения установленных таким образом порогов (события) регистрировались во всей совокупности наблюдений, выделенных в виде кластеров, сформированных с помощью нейросетевой классификации. При этом пространственное распределение выбранных наблюдений, имеющих конкретные адресные привязки, формирует соответствующие территориальные зоны. Даны рекомендации по использованию полученных результатов для оперативного и планового управления качеством компонентов урбоэкосистемы на локальном уровне.

Ключевые слова: урбоэкосистема, оценка риска, отклик организма человека, биосубстраты, нейросетевые технологии, металлы.

Approaches for evaluation and quality management of urban ecosystem components using neural network modeling methods

© 2019. Y. A. Tunakova¹ ORCID: 0000-0002-8826-8639[?]

S. V. Novikova¹ ORCID: 0000-0001-8207-1010[?], A. R. Shagidullin² ORCID: 0000-0003-3837-6110[?]

V. S. Valiev² ORCID: 0000-0002-8848-5326[?], A. J. Morais³ ORCID: 0000-0002-5673-0315[?]

¹Kazan National Research Technical University named after A. N. Tupolev – KAI,
18, Chetaeva St., Kazan, Russia, 420126,

²Research Institute for Problems of Ecology and Mineral Wealth Use
of Tatarstan Academy of Sciences,
28, Daur'skaya St., Kazan, Russia, 420087,

³University of Lisbon,

1, Sa Nugeira St., Lisbon, Portugal, 1348-063,

e-mail: juliaprof@mail.ru, artur.shagidullin@tatar.ru, ajmorais@iol.pt

The methodology of evaluation and quality management of components of the urban ecosystem, based on the use of new information methods, substantiation of marker biological objects and methods for assessing their response to anthropogenic impact, and ways of data arrays folding used for evaluation has been developed. The presented methodology takes into account the processes of receipt, accumulation and response of biological objects to the effects of marker substances. The approach for the simultaneous recording and analysis of heterogeneous and different-sized data having different degrees of influence on the state of the studied urban ecosystem components using the cluster analysis method is presented. The territory of the urban ecosystem was zoned using the neural self-organizing networks of Kohonen, implemented in the author's model of neural network filtering. A method for determining the probabilities of exceeding the threshold values of concentrations of marker substances-metals in the studied components of the urban ecosystem is proposed. We estimated the probability that in the territory to which a particular observation belongs, an excess of a given threshold will be marked by at least one of the studied indicators. As thresholds for these events, we have taken the medians of continuous series of observations of metal concentrations. As a result, we calculated the probabilities of exceeding half of the studied parameters of the specified thresholds in each zone. The facts of exceeding the thresholds (events) established in this way were recorded in the totality of observations selected in the form of clusters formed by neural network classification. At the same time the spatial distribution of selected observations with specific address bindings forms the corresponding territorial zones. Recommendations on the use of the obtained results for operational and planned quality management of the urban ecosystem components at the local level are given.

Keywords: urban ecosystem, risk assessment, response of the human body, biosubstrates, neural network technologies, metals.

В настоящее время работа Комитета по экологическим индикаторам и Комиссии по устойчивому развитию при ООН направлена на способы систематизации разнородной экологической информации, а также путей оценки и снижения экологического риска, в том числе и для экосистем, находящихся под интенсивным антропогенным воздействием – урбоэкосистем [1–2]. Согласно современным подходам, урбоэкосистему принято рассматривать как системный набор компонентов, взаимосвязанных между собой потоками вещества в процессе функционирования: 1) приземный слой атмосферы; 2) биологические объекты; 3) депонирующие среды. Наибольшие перспективы для исследования урбоэкосистем имеет объединение различных научных областей знания для решения данной задачи, особенно на локальном уровне. Антропогенные источники воздействия в урбоэкосистеме имеют свои локальные особенности, факторы экологического риска специфичны на каждом антропогенно нагруженном участке территории, системы принятия природоохранных решений их реализуют на локальном уровне, поэтому система оценки уровня экологического риска на урбанизированной территории должна создаваться именно на локальном уровне [3–6].

Любая урбоэкосистема является не простой совокупностью различных компонентов, а представляет собой сложную систему, в которой доминирует аэрогенный привнос загрязняющих веществ, происходит накопление в депонирующих компонентах и формируется отклик биологических компонентов на воздействие [3–5]. Поэтому в качестве маркерных веществ были выбраны металлы, которые без трансформации мигрируют в ди-

намичных и депонирующих компонентах урбоэкосистемы, обеспечивая взаимосвязь между ними и формируя отклик биологических компонентов на воздействие [6]. Поступление металлов на территорию урбоэкосистем происходит обычно с малой интенсивностью в течение длительного времени с накоплением в депонирующих компонентах. Оценку полиметаллической нагрузки в урбоэкосистеме необходимо проводить с учётом показателей, характеризующих как антропогенное полиметаллическое воздействие, так и отклик компонентов на воздействие. Количественные характеристики статичных и динамичных биосубстратов организма человека являются чувствительными маркерами состояния компонентов урбоэкосистемы, особенно на локальном уровне. Локализованное местонахождение детей-подростков и их большая чувствительность к антропогенному воздействию с откликом составов биосубстратов позволяет учитывать воздействие антропогенной полиметаллической нагрузки с территориальной дифференциацией [7, 8].

Элементы-металлы постоянно поступают в организм человека по водно-пищевому пути и с вдыхаемым воздухом и имеют значительный по времени период полувыведения из организма, что приводит к их накоплению в биосубстратах. В среднестатистическом выражении, если водно-пищевой путь поступления металлов в организмы детей-школьников в пределах единой территории можно принять в качестве фактора постоянного и равномерного действия, то качество воздуха варьирует в значительных пределах, обеспечивая постоянно действующему фоновому фактору значительный градиент.

Анализ снежного и почвенного покровов характеризует длительно формирующийся уровень загрязнения атмосферного воздуха, охватывающий значительный временной промежуток (сезон). Более того, почва является источником пыли, которая содержит металлы, формируя дополнительное загрязнение воздуха жилых зон [6]. Поэтому нами выбраны в качестве объектов исследования почвенный и снежный покровы, кровь и волосы детей-школьников для интегральной оценки и управления качеством компонентов урбоэкосистемы, а также для решения задач зонирования территории урбоэкосистемы.

Зонирование пространственной неравномерности показателей, характеризующих полиметаллическую нагрузку в урбоэкосистеме, является нетривиальной задачей, а обобщение многомерных массивов и их классификация по совокупности признаков – важнейшей проблемой системного анализа [8–10].

Поскольку стоит задача одновременного учёта и анализа разнородных и разноразмерных данных, имеющих различную степень влияния на состояние исследуемого компонента урбоэкосистемы, то идея построения аналитической модели расчёта была отвергнута. Был выбран другой подход, заключающийся в учёте всех факторов, характеризующих состояние объектов исследования, в процессе кластерного анализа комплексных данных. При фиксации изменений проводится агрегация информации с кластерным анализом разнородных данных.

Для решения данной проблемы предлагается использовать разработанную авторами методику поэтапной (каскадной) кластеризации, названную методикой каскадной фильтрации. Разработанная методика отличается от стандартной кластеризации повышением точности, которое достигается многократной декомпозицией. Суть методики изложена в работе [9], заключается в многократном повторении процедуры декомпозиции данных неким алгоритмом кластеризации для тех групп данных, детализация в которых недостаточна с точки зрения эксперта. В процессе исследований было рассмотрено несколько кластеризующих алгоритмов, пригодных для решения поставленной задачи. Точность кластеризации оценивалась по критерию SWC (Silhouette Width Criterion – коэффициент силуэта), коэффициенту FM (Folkes and Mallows), а также на основе экспертного оценивания. Тесты показали, что и для данных, изначально топологически образующих

плотные группы, и для данных с изначально смешанной, существенно неоднородной структурой, наилучшие результаты по точности демонстрирует алгоритм нейронных самоорганизующихся сетей Кохонена (SOM-карт). Именно этот алгоритм был нами отобран для построения модели каскадной нейросетевой фильтрации. Данный алгоритм анализирует ряды распределений исследуемых параметров и выделяет зоны (локации), различающиеся интенсивностью исследуемых параметров.

Методы исследования

Нами проведены химико-аналитические определения содержания металлов (Cd, Pb, Co, Cu, Ni, Zn, Cr, Mn, Fe) в снежном (суммарно, мкг/л) и почвенном покрывах (подвижные формы, мг/кг) (косвенные характеристики уровня загрязнения приземного слоя атмосферного воздуха), динамичных (кровь (мкг/мл)) и аккумулирующих (волосы (мкг/г)) биосубстратах детей-подростков (общая выборка составляла 342 человека) 9–16 лет (в качестве отклика биологических компонентов урбоэкосистемы на полиметаллическое загрязнение) с математическим анализом полученных результатов, которые подробно описаны в работах [11–12]. Для учёта поступления металлов от стационарных источников выбросов производился расчёт концентраций указанных металлов (мг/м³) в приземном слое атмосферного воздуха, поступающих от стационарных источников выбросов на территории исследования в пределах г. Казани. Для пробоотбора были выбраны 170 точек урбоэкосистемы на территории г. Казани, находящихся под воздействием стационарных и передвижных источников поступления металлов.

На первом этапе исследования была проведена экспертная оценка исходных данных для подготовки адекватных для исследования массивов и определения направления исследований. Поскольку при оперативном управлении качеством атмосферного воздуха в первую очередь используются данные автоматизированных постов наблюдений, определяющих приоритетность и программу управления выбросами, необходимо учесть территориальную привязку участков пробоотбора к зонам охвата действующими автоматическими станциями контроля загрязнения атмосферы (АСКЗА) на территории исследуемой урбоэкосистемы. При помощи нейросетевых SOM-карт производилась группировка имеющихся векторов

данных в 3 кластера. Кластеризующие нейросетевые SOM-карты имеют размерность 16 x 12 нейронов, обучение производится согласно модифицированному алгоритму WTA. Для моделирования использован пакет Deductor Studio 4.3 (оформляется свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ).

Нами предложена авторская методика, изложенная в работе [13], позволяющая рассчитать вероятности превышения параметрами их пороговых значений в пределах разных зон, а в качестве обобщающего показателя мы предлагаем использовать вероятность превышения порога хотя бы по одному из оцениваемых параметров. Массив экспериментальных данных представлен как D , а событие достижения порога используемых параметров как S . В этом случае условную вероятность при заданном наборе данных обозначали как $p(S|D)$. Полная вероятность события S равна сумме всех вероятностей, учитывая как вероятность $p(D)$, так и условную вероятность $p(S|D)$:

$$P(S) = \sum_{i=1}^n p(D_i)p(S|D_i).$$

Если события D_i ($i = 1, 2, 3... n$) образуют полную группу событий

$$\sum_{i=1}^n p(D_i) = 1,$$

при этом событие S происходит обязательно и происходит в одном из D_i , то в этом случае вероятность определяется формулой:

$$P(D_i|S) = \frac{p(D_i)p(S|D_i)}{p(S)}.$$

Вероятность $p(S|D)$ называют апостериорной вероятностью, а $p(S)$ – априорной вероятностью. Следует отметить, что знаменатель дроби является интегралом (или, в случае дискретных случайных величин, суммой) числителя по всем возможным значениям параметра, нормализующим апостериорную вероятность.

Для практического применения вероятностной модели, сформулируем соответствующие события S , которые фиксируют факт превышения содержания некоторого показателя его порогового значения (например, значения, соответствующие 0,5-квантили или предварительно установленные региональные нормативы), а также события D_i – которые отмечают, что превышение произошло в i -той

зоне, предварительно сформированной с помощью нейросетевой классификации факторов воздействия, которую мы рассмотрим ниже. Тогда $p(D_i) = n_i/N$, где N – сумма всех n ($N = n_1 + n_2 + ... n_i$), а $p(S|D_i) = 1$.

При этом вероятность отдельного события в конкретной зоне будет равна отношению произведения доли всех событий в этой зоне с долей относительного числа наблюдений зоны к сумме всех подобных произведений по всем участкам. Таким образом, мы можем рассчитать вероятности превышения параметрами их пороговых значений в пределах разных зон, а в качестве обобщающего показателя мы предлагаем использовать вероятность превышения порога хотя бы по одному из оцениваемых параметров.

Так как мы рассматриваем независимые в совокупности события S_1, S_2, S_3 , то вероятности событий, противоположных событиям S_1, S_2, S_3 , соответственно равны $qS_1 = 1 - p(S_1)$, $qS_2 = 1 - p(S_2)$, $qS_3 = 1 - p(S_3)$, так как общая вероятность того, что событие S_i произойдет или не произойдет, равна 1, то есть $p_i + q_i = 1$.

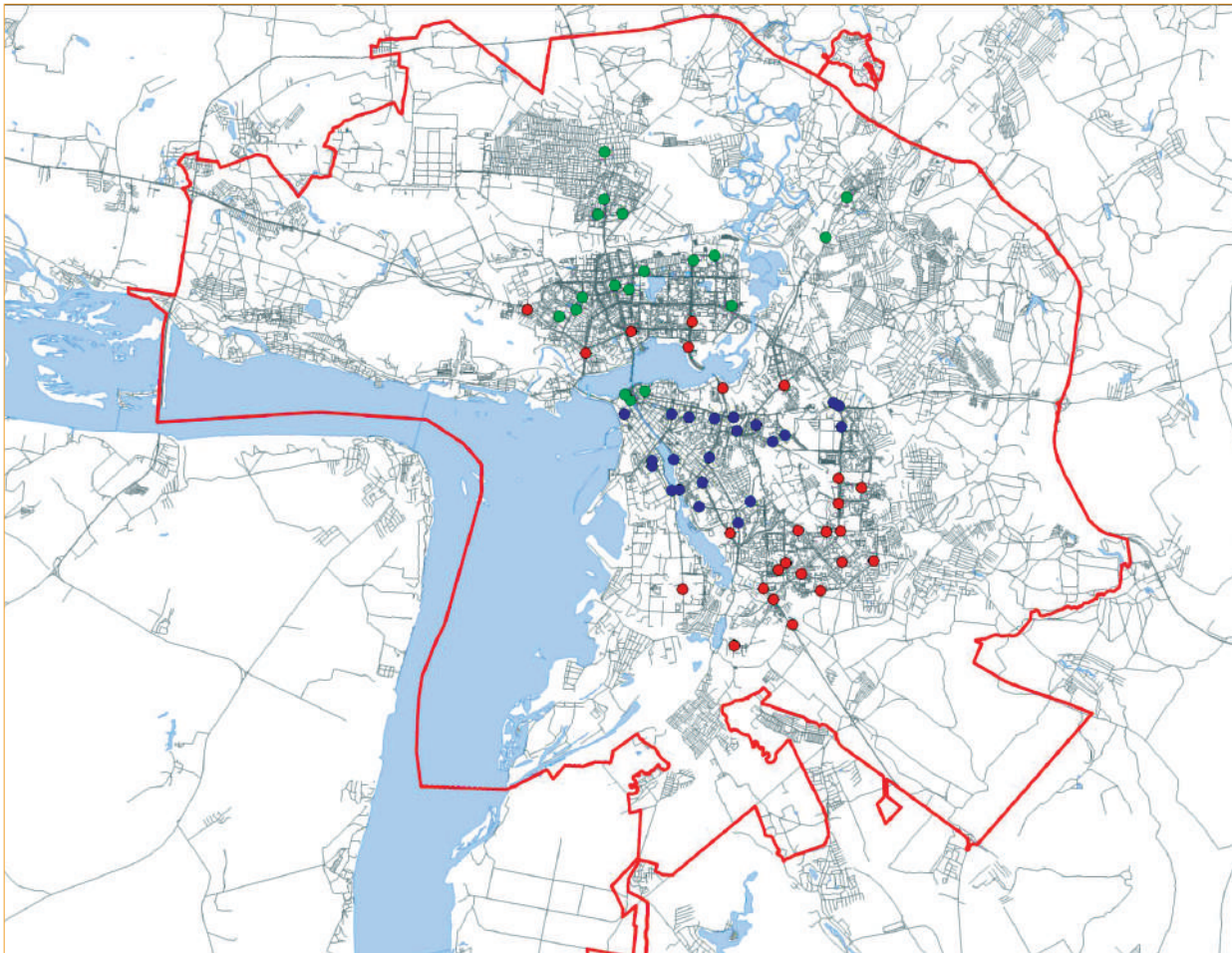
Согласно теореме умножения вероятностей для независимых событий и теореме сложения вероятностей для совместных событий, искомая вероятность $P(S) = 1 - q_1q_2q_3$.

В качестве пороговых значений мы использовали величины концентраций металлов, соответствующих 0,5-квантили распределения (медиане). Факты превышения установленных таким образом порогов (события) регистрировались во всей совокупности наблюдений, выделенных в виде кластеров, сформированных с помощью нейросетевой классификации. При этом пространственное распределение выбранных наблюдений, имеющих конкретные адресные привязки, формирует соответствующие территориальные зоны – кластеры.

Результаты и обсуждение

Результаты кластеризации демонстрируют компактное расположение точек, отнесённых системой к одному и тому же кластеру (см. рис. на цв. вкладки). Кластер 0 включает большие открытые территории в сочетании с высотной застройкой и высокой плотностью автомобильных потоков. Кластер 1 характеризуется невысокой неплотной застройкой с широкими улицами с расположением крупных промышленных предприятий, вынесенных за городскую черту. Кластер 2 характеризуется плотной невысокой застройкой, нагруженным авто-

**Ю. А. ТУАКОВА, С. В. НОВИКОВА, А. Р. ШАГИДУЛЛИН,
В. С. ВАЛИЕВ, А. Х. МОРАИС
«ПОДХОДЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ И УПРАВЛЕНИЯ
КАЧЕСТВОМ КОМПОНЕНТОВ УРБОЭКОСИСТЕМЫ С ПОМОЩЬЮ
МЕТОДОВ НЕЙРОСЕТЕВОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ», С. 31**



● кластер 0 / cluster 0

● кластер 1 / cluster 1

● кластер 2 / cluster 2

Рис. Топологическое расположение точек пробоотбора на территории г. Казани с распределением по трём кластерам
Fig. Topological location of sampling points on the territory of Kazan with the distribution of three clusters

Вероятности (*P*) неблагоприятных событий, рассчитанные для содержания металлов в почве, снежном покрове и биосубстратах
 Probabilities (*P*) of adverse events calculated for the content of metals in the soil, snow cover and biosubstrates

| Кластер Cluster | Снег Snow | Биосубстраты / Biosubstrates | | Почва Soil |
|--------------------|--------------|------------------------------|---------------|---------------|
| | | кровь / blood | волосы / hair | |
| 0 | 0,27 | 0,23 | 0,35 | 0,15 |
| 1 | 0,34 | 0,24 | 0,38 | 0,33 |
| 2 | 0,39 | 0,30 | 0,42 | 0,56 |

транспортным потоком с невысокой скоростью передвижения.

В результате проведённых расчётов получены вероятности проявления неблагоприятного события, по крайней мере, у одного из оцениваемых параметров и вероятности неблагоприятного события у половины оцениваемых параметров, рассчитанные в пределах выделенных кластеров. Если сопоставить вероятности превышения пороговых содержаний металлов, рассчитанных для крови и волос с вероятностями загрязнения снежного покрова и почвы, то можно заметить, что эти вероятности чётко коррелируют друг с другом (табл.).

Из представленной таблицы следует, что наибольший риск накопления металлов в организме детей-подростков отмечен среди точек, отнесённых к кластеру 2. Причём для этого кластера характерны наибольшие вероятности высоких концентраций металлов, как в волосах, так и в крови. Вместе с этим, следует отметить, что кластер 1 также имеет неблагоприятную вероятностную характеристику, хотя и несколько лучшую, чем кластер 2. Наиболее благоприятная ситуация складывается на точках, объединённых кластером 0, в котором отмечены относительно невысокие вероятности накопления металлов в волосах и крови детей.

Выводы

Таким образом, можно с высокой степенью надёжности утверждать, что выделенный нами кластер 0 объединяет наблюдения, в которых доля высоких концентраций металлов в биосубстратах детей значительно ниже, чем в кластере 1 и, особенно, в кластере 2. Кроме того, указанные распределения вероятностей превышения металлами их пороговых значений свидетельствуют о значительном отклике урбоэкосистемы на воздействие и позволяют использовать выделенные кластеры для её зонирования.

Полученные результаты можно использовать для планового управления качеством компонентов урбоэкосистемы, которое поз-

воляет в зависимости от результатов зонирования территории осуществить регулирование планировки и застройки и варьировать стратегические планы дальнейшего хозяйственного освоения территории.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Республики Татарстан в рамках научного проекта № 18-41-160020.

References

1. Sornette D., Maillart T., Kroger W. Exploring the limits of safety analysis in complex technological systems. RiskCenter, Zurich. 2013. [Internet resource] <http://arxiv.org/pdf/1207.5674.pdf> (Accessed: 18.04.2019).
2. Sprenger J. Environmental risk analysis: robustness essential for precaution // Philosophy of Science. 2012. No. 79 (5). P. 881–892. doi: 10.1086/667873
3. Suter G.W. Ecological risk assessment in the United States Environmental Protection Agency: a historical overview // Integrated Environmental Assessment and Management. 2008. V. 4. No. 3. P. 285–289. doi: 10.1897/IEAM_2007-062
4. Janssen C. Putting ecological realism in environmental risk assessment // Report on 14th Annual CEFIC-LRI Workshop “Evolution or Revolution – Research priorities for future risk assessment”. 2012.
5. Yayli E.A., Muzalevskiy A.A. The methodology and way for assessing the quality of environmental components of urbanized territories based on indicators, indices and risk // Ekologicheskie sistemy i pribory. 2006. No. 12. P. 23–29 (in Russian).
6. Elpatyevsky P.V. Geochemistry of migration flows in natural and natural-technogenic geosystems. Moskva, 1993. 253 p. (in Russian).
7. Blaurock-Busch E., Amin O.R., Dessoki H.H., Rabah T. Toxic metals and essential elements in hair and severity of symptoms among children with Autism // Maedica (Buchar). 2012. No. 7 (1). P. 38–48.
8. Zainullin V.G., Bodnar I.S., Kondratenok B.M. Features of accumulation of chemical elements in the hair of the children's population of the Komi Republic // Izvestiya Komi nauchnogo tsentra UrO RAN. 2014. No. 2 (18). P. 24–31 (in Russian).

9. Novikova S.V., Tunakova Yu.A., Shagidullin A.R., Valiev V.S., Gabdrakhmanova G.N. Synergistic neuro-expert model based on SOM MAPS for integrated analysis of environmental objects // Chemistry and environmental engineering XVIII: Sbornik trudov mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii. Kazan: Izd-vo KNITU-KAI, 2018. P. 318–322 (in Russian).

10. Guojun G., Ma Ch., Wu J. DataClustering: theory, algorithms, and applications // ASA-SIAM series on statistics and applied probability. SIAM, Philadelphia, ASA, Alexandria, VA, 2007. 466 p.

11. Tunakova Y.A., Ivanov D.V., Shagidullin A.R., Valiev V.S. Soil cover as an indicator of polymetallic pollution

of a ground layer of atmospheric air // Rossiyskiy zhurnal prikladnoy ekologii. 2019. No. 1 (17). P. 53–58 (in Russian).

12. Tunakova Yu.A., Novikova S.V., Faizullin R.I., Valiev V.S. Approximation of the dependency of trace elements concentrations in internal media upon their contents in environment objects // BioNanoScience. 2018. No. 8. P. 288–295. doi: 10.1007/s12668-017-0487-y

13. Tunakova Yu.A., Novikova S.V., Shagidullin A.R., Valiev V.S. Methodology of evaluation of regional ecological risk in the urban ecosystem (on the example of Kazan) // Transformation of ecosystem under the influence of natural and anthropogenic factors: Materialy mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii. 2019. P. 263–267 (in Russian).

Методы лишеноиндикации в оценке загрязнения атмосферного воздуха соединениями фосфора

© 2019. Е. А. Домнина^{1,2}, к. б. н., доцент, с. н. с.,
С. Ю. Огородникова², к. б. н., с. н. с., С. В. Пестов^{1,2}, к. б. н., доцент, н. с.,
Т. Я. Ашихмина^{1,2}, д. т. н., г. н. с., профессор, зав. лабораторией,

¹Вятский государственный университет,

610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,

²Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,

e-mail: svetao_05@mail.ru

Изучено проективное покрытие и содержание общего фосфора в талломах лишайника *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. на участках, расположенных в районе функционирования объекта уничтожения фосфорсодержащих отравляющих веществ в Кировской области. Участки мониторинга представлены лесными фитоценозами (подзона южной тайги) и расположены на разном удалении от источника загрязнения (1,2–9,6 км). Содержание общего фосфора в талломах *H. physodes* за период наблюдений (2010–2019 гг.) изменялось в пределах 409–1532 мкг/г сухой массы. На основании кластерного анализа по содержанию фосфора выделяется две группы участков. К первому кластеру относятся участки с повышенным накоплением соединений фосфора в талломах лишайников, они расположены вблизи источника загрязнения в направлении преобладающих ветров. На участках, относящихся ко второму кластеру, выявлены незначимые различия по содержанию фосфора в талломах *H. physodes*. Среднее значение общего проективного покрытия гипогимнии на участках мониторинга находится в пределах 24–41%. На основании кластерного анализа данных по проективному покрытию выделяется также два кластера. К первому кластеру относятся участки с повышенным значением проективного покрытия (более 30%), они максимально удалены от источника загрязнения. Ко второму кластеру, который характеризуется меньшими значениями проективного покрытия, относятся участки, расположенные вблизи техногенного объекта, а также с подветренной стороны. Выявлена отрицательная корреляция между изученными показателями лишеноиндикации: по мере приближения к источнику загрязнения происходит снижение проективного покрытия и повышенное накопление соединений фосфора. Данная зависимость максимально проявилась в 2013–2015 гг. Показано, что с 2015 г. уровень фосфора в талломах лишайников, независимо от расположения участка наблюдений, снижался. Это обусловлено уменьшением поступления соединений фосфора в окружающую среду и вовлечением накопленного фосфора в процессы жизнедеятельности *H. physodes*.

Ключевые слова: лишайники, *Hypogymnia physodes*, содержание фосфора, проективное покрытие, биоиндикаторы, загрязнение воздуха.

Lichenoindication methods for assessing atmospheric air pollution by phosphorus compounds

© 2019. E. A. Domnina^{1,2} ORCID: 0000-0002-5063-8606, S. Yu. Ogorodnikova² ORCID: 0000-0001-8865-4743,
S. V. Pestov^{1,2} ORCID: 0000-0002-5464-793X, T. Ya. Ashikhmina^{1,2} ORCID: 0000-0003-4919-0047

¹Vyatka State University,

36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,

²Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of RAS,
28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Komi Republic, Russia, 167982,

e-mail: svetao_05@mail.ru

Projective cover and total phosphorus content in thalli of *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. in the area of operation of the facility for the destruction of phosphorus-containing toxic substances (Kirov region) was studied. Monitoring sites are represented by forest phytocenoses (subzone of the southern taiga) and are located at different distances from the source of pollution (1.2–9.6 km). The total phosphorus content in the thalli of *H. physodes* during the research period (2010–2019) varied in the range of 409–1532 µg/g dry weight. Based on the cluster analysis by the phosphorus content,

two groups of sites are distinguished. The first cluster includes areas with increased accumulation of phosphorus compounds in lichen thalli; they are located near the pollution source in the direction of prevailing winds. In areas belonging to the second cluster, insignificant differences in the phosphorus content in the thalli of *H. physodes* were revealed. The average value of the total projective cover of hypogymnia in monitoring sites is in the range of 24–41%. Based on a cluster analysis of data on projective cover, 2 clusters are also distinguished. The first cluster includes areas with an increased value of projective cover (more than 30%), they are maximally distant from the source of pollution. The second cluster, which is characterized by lower values of the projective cover, includes areas located near the technogenic object, as well as on the leeward side. A negative correlation between the studied lichen indices was revealed: as we approach the source of pollution, the projective cover decreases and the accumulation of phosphorus compounds increases. This dependence was maximally manifested in 2013–2015. It has been shown that since 2015, the phosphorus level in lichen thalli, regardless of the location of the observation site, has been decreasing. This is due to a decrease in the intake of phosphorus compounds in the environment and the involvement of accumulated phosphorus in the life processes of *H. physodes*.

Keywords: lichens, *Hypogymnia physodes*, phosphorus content, projective coating, bioindicators, air pollution.

В Кировской области на объекте «Марадыковский» с 2006 г. по 2015 г. проводилось уничтожение химического оружия [1]. В процессе деструкции фосфорсодержащих отравляющих веществ образуются неорганические соединения фосфора [2], которые могли поступать в окружающую среду в составе отходящих газов от печей сжигания реакционных масс.

Лишайники, благодаря анатомо-морфологическим и физиологическим особенностям, активно и пассивно поглощают из воздуха различные поллютанты. Лишайники являются чувствительными аккумулятивными индикаторами промышленных загрязнений и применяются для ранней диагностики негативных изменений состояния окружающей среды, когда реакции других компонентов ещё не выражены [3], а также, позволяют отслеживать загрязнение воздуха в динамике.

Для оценки степени атмосферного загрязнения используют различные индикаторные свойства лишенобиоты: химический состав, физиолого-биохимические показатели жизнедеятельности, анатомия, морфология, видовой состав, популяционная структура [4–10]. Показано изменение проективного покрытия лишайников под влиянием загрязняющих веществ [6, 11, 12]. Ряд исследований посвящён изучению поглощения поллютантов лишайниками при их переносе в экологически неблагоприятные районы [13–16]. Авторами работы [17] отмечается, что при приближении к объекту загрязнения, увеличивается содержание фосфора в лишайниках. Накопление фосфора в лишайниках отмечено в зоне влияния горно-металлургических предприятий и связано с поглощением из атмосферы [18]. Ранее нами также было показано, что эпифитные лишайники, в отличие от хвой сосны и мхов в большей степени накапливают соединения фосфора [19]. Фосфор может поступать в лишайники в составе твёрдых взвешенных частиц [20].

Целью работы было изучить пространственные закономерности накопления соединений фосфора в талломах лишайника *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. и его проективного покрытия в районе функционирования объекта уничтожения фосфорсодержащих отравляющих веществ.

Объекты и методы исследования

Исследования проводили в 2010–2019 гг. на территории Оричевского района Кировской области (подзона южной тайги). Участки мониторинга представлены находились в лесных фитоценозах на разном удалении от объекта уничтожения химического оружия (ОУХО). Фоновый участок расположен на значительном расстоянии (9,6 км) на юго-запад от источника загрязнения. Характеристика участков представлена в таблице 1.

Почвы района исследования являются подзолами, которые характеризуются низким содержанием соединений фосфора [2]. Основным источником поступления соединений фосфора в слоевище лишайников являются атмосферные выпадения.

В качестве объекта исследования был выбран эпифитный листоватый лишайник *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. Гипогимния доминирует в эпифитном покрове основных лесобразующих пород (сосна, ель) на изучаемой территории. Лишайник *H. physodes*, по сравнению с другими видами, устойчив к действию поллютантов и может существовать в условиях загрязнения атмосферного воздуха промышленными выбросами длительное время [21].

Известно, что содержание фосфора в талломах *H. physodes*, произрастающих на коре сосны, больше, чем в образцах, отобранных с коры ели и берёзы [22]. В связи с этим, в условиях загрязнения воздуха соединениями фосфора, наибольший интерес представляет

Таблица 1 / Table 1

Характеристика участков мониторинга / Characteristics of monitoring sites

| Номер участка Site number | Расстояние от источника загрязнения, км The distance from the source of pollution, km | Сторона света Side of the world | Тип фитоценоза Type of phytocenosis |
|------------------------------|--|---------------------------------------|---|
| 4 | 1,22 | северо-восток northeast | березово-сосняк разнотравный birch-pinery with motley grass |
| 9 | 1,63 | восток east | сосняк мёртвopокровный pinery with dead covering |
| 18 | 1,49 | юг-юго-запад south-southwest | сосняк бруснично-зеленомошный с вейником lingonberry-green moss pinery with reed |
| 19 | 1,49 | юг-юго-запад south-southwest | сосняк зеленомошный green moss pinery |
| 28 | 1,09 | север-северо-запад north-northwest | сосняк чернично-брусничный с вейником blueberry-lingonberry pinery with reed |
| 30 | 1,36 | север-северо-запад north northwest | сосняк чернично-брусничный с вейником blueberry-lingonberry pinery with reed |
| 34 | 3,12 | юг-юго-запад south-southwest | сосняк чернично-брусничный с вейником blueberry-lingonberry pinery with reed |
| 47 | 2,16 | запад-юго-запад west-southwest | березово-сосняк вейниково-черничный с костяникой birch-pinery with reed, blueberry and stone berry |
| 112 | 9,63 | юго-запад southwest | сосняк бруснично-вейниковый pinery with lingonberry and reed |

накопление фосфора в слоевищах *H. physodes*, отобранных с сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.).

Общее проективное покрытие эпифитными лишайниками на участке рассчитывали на основе оценки проективного покрытия на 10 деревьях сосны с северной и южной стороны на высоте 1,5 м [11].

На каждом участке с деревьев сосны отбирали талломы *H. physodes*. Талломы очищали от коры и высушивали до воздушно-сухого состояния. Содержание фосфора в лишайниках определяли по ГОСТ 26657-97. В муфельной печи при температуре 525 °С проводили минерализацию проб лишайников. В результате сухого озоления соединения фосфора, содержащиеся в составе лишайника, переходят в фосфаты. Количество фосфатов в золе лишайников определяли фотометрически на спектрофотометре UNICO 2800 (США). Рассчитывали содержание фосфора в лишайниках в мкг/г сухой массы. Определение фосфора в лишайниках на разных участках мониторинга проводили в трёхкратной биологической повторности и в двухкратной аналитической повторности. В таблицах и рисунках представле-

ны средние арифметические значения и стандартные ошибки.

Карты распределения концентрации строили в программе QGIS 2.18. Для интерполяции данных использовали метод обратных взвешенных расстояний (IDW) [23].

Результаты и обсуждение

Лесные экосистемы играют важную роль в накоплении загрязняющих веществ (газов, твёрдых взвешенных частиц) из атмосферного воздуха. В составе поллютантов содержатся не только вредные вещества, но и необходимые для живых организмов биогенные элементы. Фосфор характеризуется значительной биогеохимической активностью [18], он относится к числу элементов биологического накопления, коэффициент его биологического поглощения больше 1 [22].

Известно, что большая часть необходимых для жизнедеятельности минеральных веществ улавливается лишайниками из воздуха и дождевой воды. Вместе с водой слоевище лишайника всей своей поверхностью впитывает растворённые в воде соединения, в том числе

Таблица 2 / Table 2

Содержание общего фосфора в талломах *H. physodes* (мкг/г сухой массы), отобранных на разных участках мониторинга / Total phosphorus content in the thalli of *H. physodes* (µg/g dry weight), selected at different monitoring sites

| Год Year | Номер участка / Site number | | | | | | | |
|-------------|-----------------------------|---------|---------|---------|----------|--------|----------|--------|
| | 4 | 9 | 18 | 19 | 28 | 30 | 47 | 112 |
| 2010 | 860±122 | 697±93 | 909±323 | 978±464 | 982±104 | 999±46 | 1528±160 | 433±44 |
| 2011 | 1392±121 | 1570±60 | 866±123 | 817±65 | 1108±104 | 931±33 | 785±6 | 944±49 |
| 2012 | 663±41 | 667±2 | 511±46 | 409±50 | 490±2 | 450±33 | 574±94 | 637±39 |
| 2013 | 1468±155 | 1138±9 | 641±12 | 698±25 | – | 493±29 | 631±116 | 535±3 |
| 2014 | 1476±150 | 1203±34 | 723±57 | 763±65 | 744±23 | 515±27 | 603±52 | 701±41 |
| 2015 | 1532±170 | 977±113 | 760±26 | 788±71 | 737±14 | 588±81 | 762±70 | 730±6 |
| 2016 | 1112±82 | 1208±46 | 811±49 | 707±70 | 701±21 | 661±26 | 694±38 | 728±11 |
| 2017 | 1103±97 | 902±76 | 821±64 | 789±29 | 768±32 | 603±27 | 529±37 | 603±97 |
| 2019 | 880±7 | 963±105 | 707±30 | 642±29 | – | – | 577±17 | 722±58 |

Примечание: «–» нет данных.
Note: “–” no data.

и загрязняющие вещества [4], поглощение которых из дождевой воды сопровождается накоплением в слоевище. Гипогимния также поглощает вещества из окружающей среды.

Данные по накоплению фосфора в талломах *H. physodes* приведены в таблице 2. Содержание общего фосфора в талломах за период наблюдений варьировало в пределах 433–1532 мкг/г, что согласуется с данными других исследователей [13, 22].

На основе многолетних данных построена карта-схема содержания фосфора в эпифитных лишайниках, произрастающих на участках в районе размещения ОУХО (рис. 1, см. цв. вкладку). На карте-схеме исследуемой территории выделяется область с повышенным накоплением соединений фосфора в талломах лишайников только на участках 4 и 9.

На основании проведенного кластерного анализа выделяются две группы участков по содержанию фосфора (рис. 2). К первому кластеру относятся участки 4 и 9, они отличаются повышенным накоплением соединений фосфора в талломах лишайников и находятся вблизи источника загрязнения в юго-западном и северо-восточном направлении (направления преобладающих ветров). Повышенное содержание соединений фосфора в сравнении с фоном в талломах *H. physodes* на участках 4 и 9, вероятно, обусловлено поступлением фосфорсодержащих соединений в атмосферу в ходе функционирования ОУХО.

Положение участков внутри второго кластера (участки 18, 19, 28, 30, 47, 112) связано с незначимыми ненаправленными изменениями содержания фосфора в талломах гипогимнии.

Проведён анализ содержания соединений фосфора в талломах лишайников по годам. В 2010 г. зависимости между содержанием общего фосфора в эпифитных лишайниках и расположением участка относительно ОУХО не установлено (рис. 3). С 2011 г. прослеживается тенденция повышенного накопления соединений фосфора в талломах лишайников, отобранных с участков 4 и 9, относящихся к первому кластеру, по сравнению с остальными участками наблюдений (кластер 2), включая фоновую территорию. Максимальное содержание фосфора в талломах гипогимнии отмечено

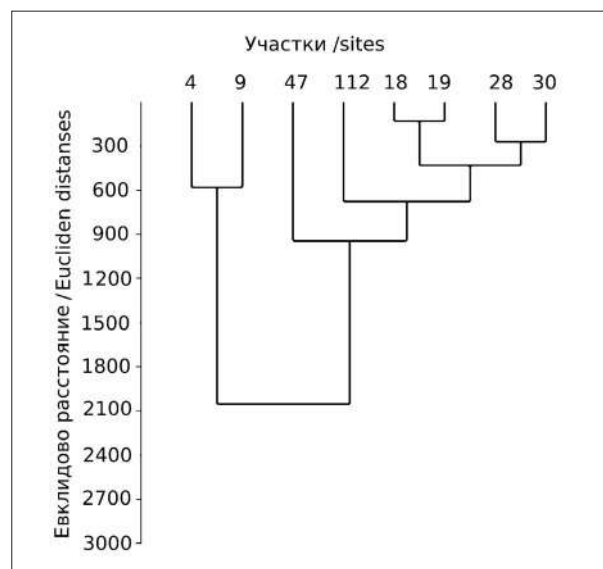


Рис. 2. Сходство участков мониторинга по среднемулетним данным содержания фосфора в лишайниках
Fig. 2. Cluster diagram of similarity of monitoring sites according to long-term average data of phosphorus content in lichens

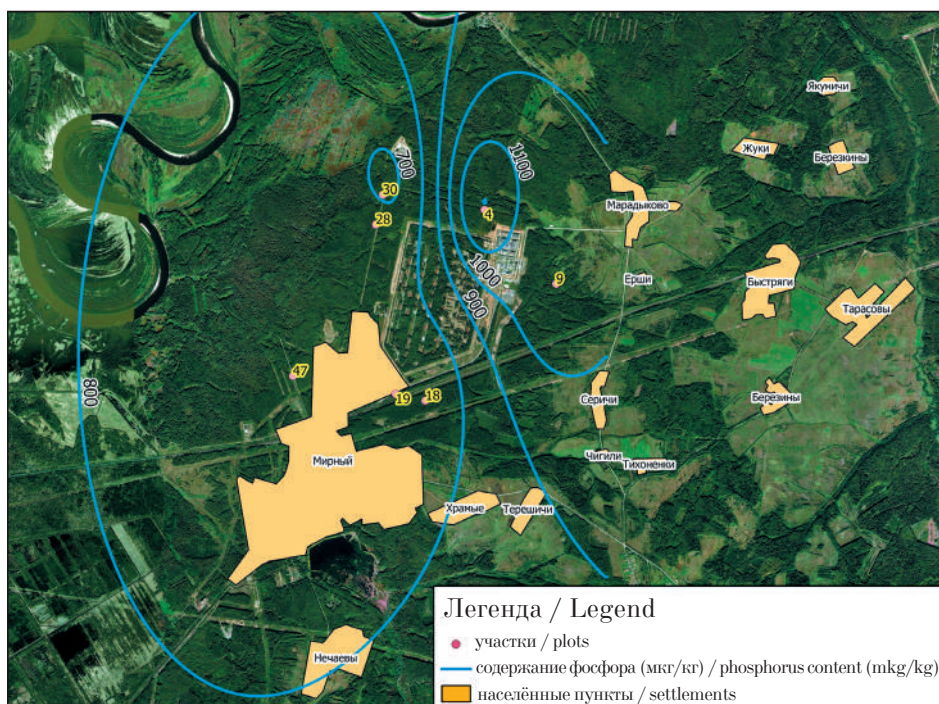


Рис. 1. Среднегодовое содержание фосфора, мкг/г на участках
вблизи объекта уничтожения химического оружия на цветную вкладку
Fig. 1. The long-term average phosphorus content, µg/g in areas near
the chemical weapons destruction facility

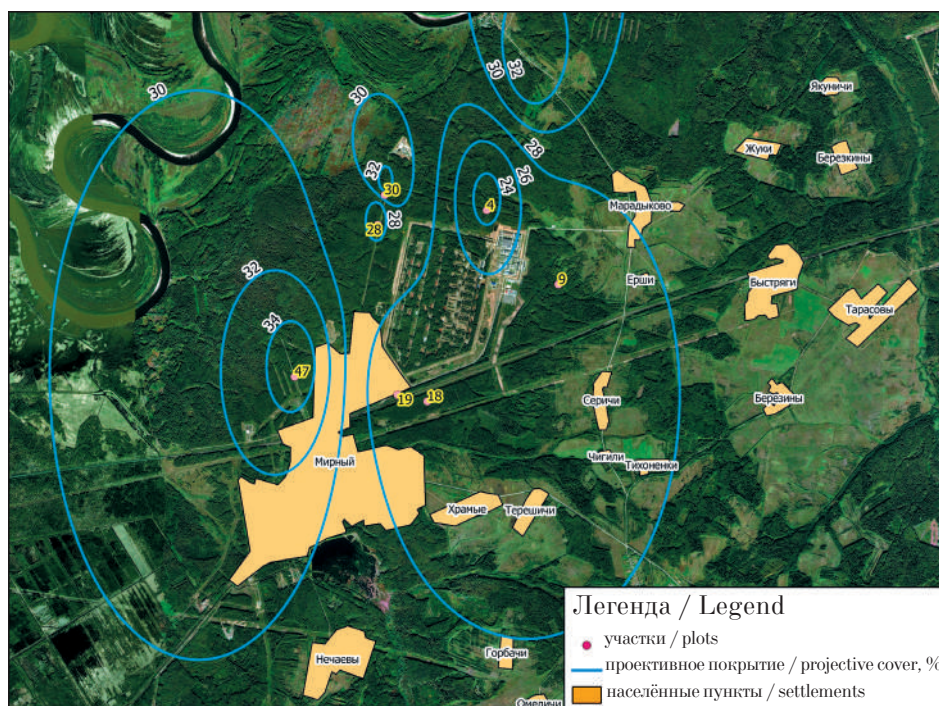


Рис. 4. Среднегодовое проективное покрытие лишайников (%) на участках
вблизи объекта уничтожения химического оружия цветная вкладка
Fig. 4. The average long-term projective cover of lichens (%) in areas near
the chemical weapons destruction facility

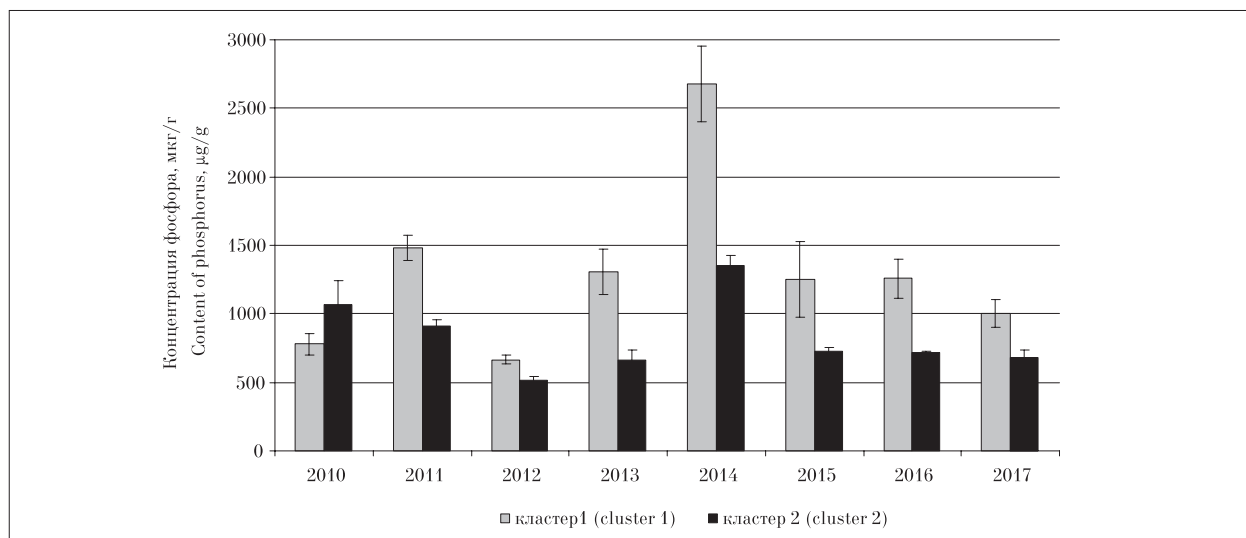


Рис. 3. Содержание фосфора в талломах *H. physodes*, отобранных на участках, относящихся к разным кластерам / **Fig. 3.** The phosphorus content in the thalli of *H. physodes*, selected in areas belonging to different clusters

Таблица 3 / Table 3

Общее проективное покрытие лишайникового покрова (%) на участках мониторинга
Total projective cover of lichen cover (%) at monitoring sites

| Год Year | Номер участка / Site number | | | | | | | | |
|-------------|-----------------------------|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| | 4 | 9 | 18 | 19 | 28 | 30 | 34 | 47 | 112 |
| 2008 | 26 | 24 | 29 | 24 | 24 | 35 | 34 | 40 | 34 |
| 2009 | 26 | 29 | 29 | 26 | 23 | 29 | 37 | 37 | 37 |
| 2010 | – | 18 | 27 | 26 | 22 | 28 | 28 | 33 | 32 |
| 2011 | 29 | 34 | 22 | 31 | 33 | 39 | 41 | 37 | 41 |
| 2012 | 19 | 31 | 21 | 27 | 33 | 36 | 30 | 36 | 36 |
| 2013 | 19 | 32 | 22 | 29 | 31 | 35 | 34 | 36 | 40 |
| 2014 | 26 | 32 | 32 | 24 | 29 | 39 | 40 | 39 | 42 |
| 2015 | 21 | 30 | 37 | 26 | 31 | 40 | 41 | 38 | 37 |
| 2016 | 22 | 14 | 15 | 24 | 19 | 14 | 18 | 14 | 16 |
| 2017 | – | – | 28 | 35 | – | – | 36 | 42 | 47 |

Примечание: «–» нет данных.
Note: “–” no data.

в 2014 г., возможно, это связано с наибольшим выбросом фосфорсодержащих соединений в ходе работы ОУХО. В последующие годы исследований (2015–2017 гг.) уровень фосфора в талломах лишайников, независимо от расположения участка наблюдений, снижался и продолжает снижаться по данным 2018–2019 гг. Известно, что лишайники – организмы с замедленным протеканием физиологических процессов. Можно предположить, что соединения фосфора, поглощённые лишайниками в период деятельности ОУХО, используются ими для обеспечения их жизнедеятельности и по настоящее время.

На участках мониторинга изучено общее проективное покрытие (ПП) лишайникового

покрова (табл. 3). Сравнение данных по ПП за 2008–2017 гг. позволяет заключить, что этот показатель находится в пределах средних значений по участку за период наблюдений. Среднее значение общего ПП было в пределах 24–41%, что в целом соответствует значениям, полученным при фоновом обследовании.

Выявлена тенденция увеличения ПП лишайникового покрова по мере удаления от ОУХО. В период наблюдений повышенное значение ПП лишайниками отмечали на участках максимально удалённых от ОУХО. Самое высокое значение ПП отмечено на фоновом участке 112.

На основе многолетних данных построена карта-схема ПП эпифитными лишайниками

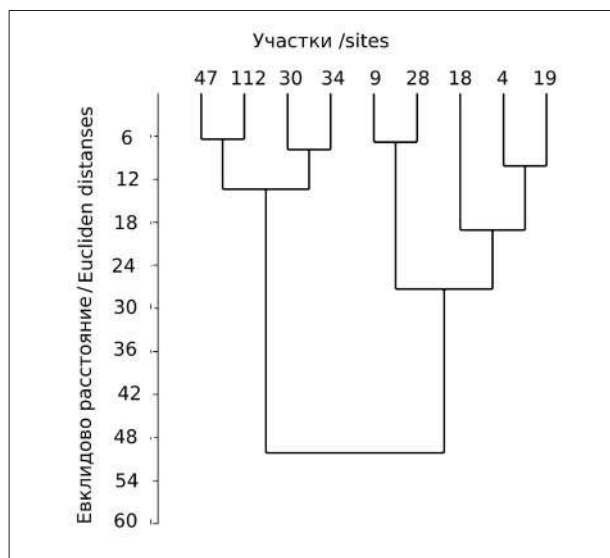


Рис. 5. Сходство участков пробоотбора по среднегодовым данным проективного покрытия лишайников
Fig. 5. Site similarity according to long-term average data of projective cover of lichens

на участках мониторинга (рис. 4, см. цв. вкладку). На карте-схеме выделяется область с низкими значениями ПП – участки 4, 9, 18, 19, 28.

На основании кластерного анализа данных по ПП можно выделить 2 кластера (рис. 5). К первому кластеру относятся участки 30, 34 и 47. На этих участках ПП было значительно выше, чем на других участках. Исключение составляет 2016 г., когда ПП лишайников на этих участках было несколько ниже, чем на остальных. Ко второму кластеру, который характеризуется меньшими значениями ПП, относятся участки: 4, 9, 18, 19, 28. Низкие значения ПП (менее 30%) могут быть обусловлены особенностями фитоценозов (видовой состав растений, освещённость, сомкнутость крон и др.), а также состоянием атмосферного воздуха в районе деятельности ОУХО. Участки 4 и 9, которые обособлены в кластер 2, находятся ближе остальных к ОУХО, а также расположены с подветренной стороны.

Проведено изучение зависимости между показателями состояния эпифитной лишайной биоты в районе исследования: ПП и содержание общего фосфора. По данным 2013–2015 гг. выявлена корреляция между показателями ПП и содержанием общего фосфора в лишайниках на участках, расположенных на разном удалении от ОУХО (рис. 6). Корреляция меж-

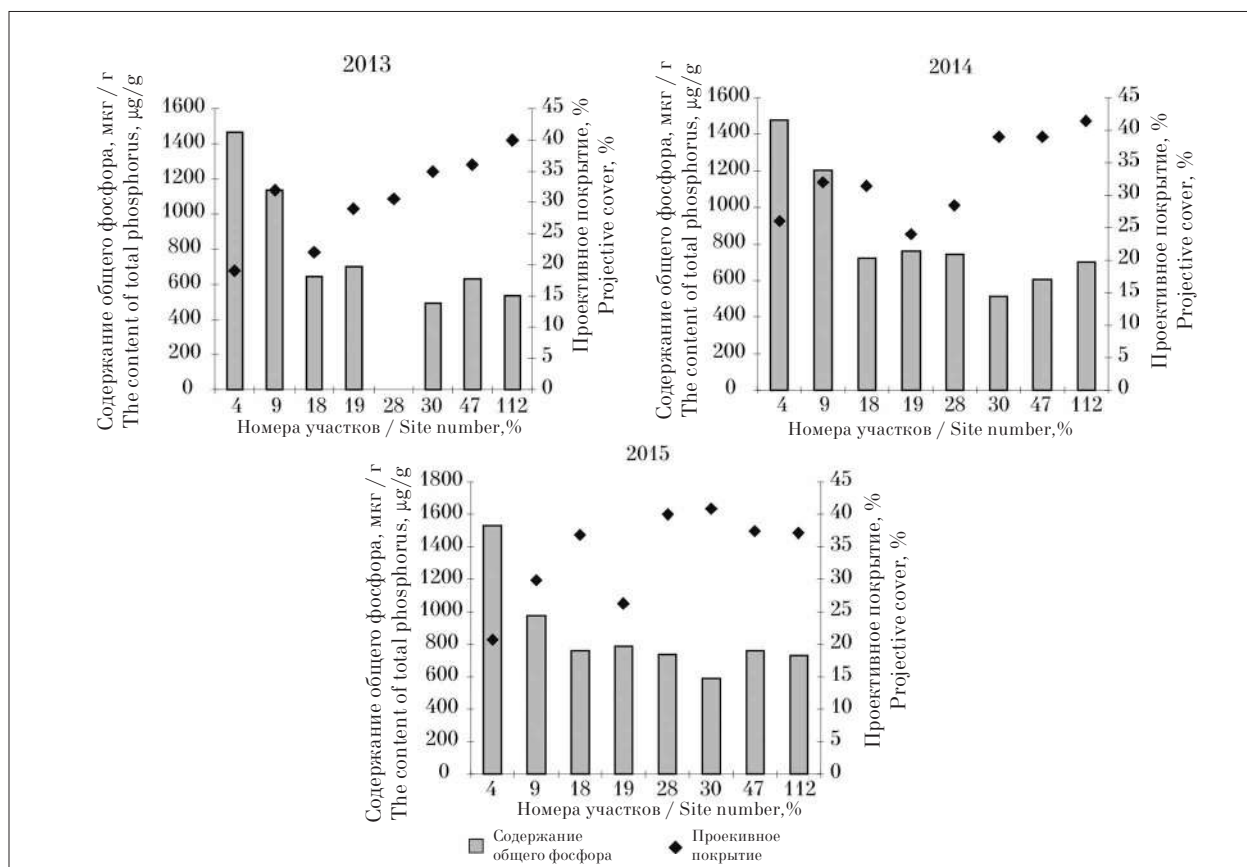


Рис. 6. Содержание общего фосфора и проективное покрытие лишайников на участках мониторинга (2013–2015 гг.) / **Fig. 6.** The content of total phosphorus and the projective coverage of lichens in monitoring sites (2013–2015)

ду изученными показателями за 2014 г. составляет $-0,56$, (зависимость достоверна при $p < 0,15$), за 2013 г. $-0,64$ (зависимость достоверна при $p < 0,1$), за 2015 г. $-0,79$ (зависимость достоверна при $p < 0,1$).

В 2013–2015 гг. на участках, расположенных с подветренной стороны от ОУХО, отмечено снижение ПП лишайниками и увеличение содержания общего фосфора в талломах. Вероятно, при функционировании ОУХО происходило попадание фосфорсодержащих соединений в атмосферный воздух, что негативно сказывалось на жизнедеятельности лишайников и вызывало сокращение площади ПП. В другие годы исследования зависимости между изучаемыми показателями не выявлено.

Заключение

Таким образом, с 2010 г. по настоящее время изучается состояние эпифитной лишенобиоты в районе функционирования ОУХО и в период ликвидации последствий его деятельности в Кировской области. На основе многолетних данных выявлены зоны повышенного накопления соединений фосфора в талломах лишайников, расположенные с подветренной стороны от источника загрязнения. С 2011 по 2015 гг. прослеживается закономерное повышенное содержание соединений фосфора в лишайниках, отобранных на участках вблизи ОУХО. Установлено, что величина ПП лишайниками максимальна на участках, наиболее удалённых от ОУХО.

Выявлена отрицательная корреляция между изученными показателями лишеноиндикации: по мере приближения к ОУХО происходит снижение ПП и повышенное, в сравнении с фоном, накопление соединений фосфора. Данная зависимость свидетельствует о влиянии объекта «Марадыковский» на состояние эпифитной лишенобиоты, которое особенно проявилось в 2013–2015 гг. Выявленная зависимость, показанная разными методами лишеноиндикации, позволяет рекомендовать их применение для диагностики загрязнения атмосферы соединениями фосфора.

Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии Коми НЦ УрО РАН по теме «Оценка и прогноз отсроченного техногенного воздействия на природные и трансформированные экосистемы подзоны южной тайги» № 0414-2018-0003.

References

1. Kapashin V.P., Kholstov V.I., Kondratiev V.B. 20 years since the adoption of the federal target program “Destruction of chemical weapons stocks in the Russian Federation” // *Theoretical and Applied Ecology*. 2016. No. 4. P. 6–11 (in Russian).
2. Ashikhmina T.Ya. Integrated environmental monitoring of chemical weapons storage and destruction facilities. Kirov: Vyatka, 2002. 544 p. (in Russian).
3. Lishtva A.V. Lichenology. Irkutsk: Izd-vo Irkut. gos. un-ta, 2007. 121 p. (in Russian).
4. Byazrov L.G. Lichens in environmental monitoring. Moskva: Nauchnyy mir, 2002. 336 p. (in Russian).
5. Meysurova A.F., Khizhnyak S.D., Pakhomov P.M. Toxic effect of nitrogen and sulfur dioxides on the chemical composition of *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl.: IR spectroscopic analysis // *Contemporary Problems of Ecology*. 2011. V. 4. No. 2. P. 186–194. doi: 10.1134/S199542551102010X
6. Mikhailova I.N., Vorobeichik E.L. Dimensional and age structure of populations of epiphytic lichen *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. under conditions of atmospheric pollution // *Russian Journal of Ecology*. 1999. V. 30. No. 2. P. 111–118.
7. Golovko T.K., Shelyakin M.A., Zakhozhiy I.G., Tabalenkova G.N., Pystina T.N. Reaction of lichens to environmental pollution during mining of bauxite ore in the taiga zone // *Theoretical and Applied Ecology*. 2018. No. 2. P. 44–52 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2018-2-044/2-053/1
8. Hauck M., Zöller T. Copper sensitivity of soredia of the epiphytic lichen *Hypogymnia physodes* // *Lichenologist*. 2003. No. 35 (3). P. 271–274. doi: 10.1016/S0024-2829(03)00023-9
9. Klos A., Ziembik Z., Rajfur M., Dolhanczuk-Srodka A., Bochenek Z., Bjerke J.W., Tommervik H., Zagajewski B., Ziokowski D., Jerz D., Zielinska M., Krems P., Godyn P., Marciniak M., Swisłowski P. Using moss and lichens in biomonitoring of heavy-metal contamination of forest areas in southern and north-eastern Poland // *Science of the Total Environment*. 2018. V. 627. P. 438–449. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.211
10. Saitova Z.R., Farkhutdinov R.G. Physiological and biochemical parameters of lichen *Physcia stellaris* Nyl. in an industrial city // *Lichens: from molecules to ecosystems: Programma i tezisy dokladov Mezhdunarodnoy konferentsii*. Syktyvkar, 2019. P. 74–75. doi: 10.31140/book-2019-04
11. Gorshkov V.V. The effect of atmospheric pollution by sulfur oxides on the epiphytic lichen cover of northern taiga pine forests // *Forest ecosystems and atmospheric pollution*. Leningrad: Nauka, 1990. P. 144–159 (in Russian).
12. Golubkova N.S., Malysheva N.V. The impact of urban growth on lichens and lichen indication of air

- pollution in Kazan // *Botanicheskiy zhurnal*. 1978. V. 63. No. 8. P. 1145–1154 (in Russian).
13. Bennett J.P., Dibben M.J., Lyman K.J. Element concentration in the lichen *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. after 3 years of transplanting along lake Michigan // *Environmental and experimental botany*. 1996. V. 36. No. 3. P. 255–270. doi: 10.1016/0098-8472(96)01022-2
14. Purvis O.W., Longden J., Shaw G., Chimonides P.D.J., Jeffries T.E., Jones G.C., Mikhailova I.N., Williamson B.J. Biogeochemical signatures in the lichen *Hypogymnia physodes* in the mid Urals // *Journal of Environmental Radioactivity*. 2006. V. 90. P. 151–162. doi: 10.1016/j.jenvrad.2006.06.008
15. Rusu A.-M., Jones G.C., Chimonides P.D.J., Purvis O.W. Biomonitoring using the lichen *Hypogymnia physodes* and bark samples near Zlatna, Romania immediately following closure of a copper ore-processing plant // *Environmental Pollution*. 2006. V. 143. P. 81–88. doi: 10.1016/j.envpol.2005.11.002
16. Bergamaschi L., Rizzio E., Giaveri G., Loppi S., Gallorini M. Comparison between the accumulation capacity of four lichen species transplanted to a urban site // *Environmental Pollution*. 2007. No. 148. P. 468–476. doi: 10.1016/j.envpol.2006.12.003
17. Vyugovsky A.A. Assessment of territory pollution in the places of destruction of chemical weapons by the method of lichen indication: Avtoreferat.... kand. biol. nauk. Bryansk, 2010. 18 p. (in Russian).
18. Sukhareva T.A. Elemental composition of the thalli of the lichen *Cladonia stellaris* under atmospheric pollution // *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN*. 2016. No. 4. P. 70–82 (in Russian). doi: 10.17076/eco259
19. Domnina E.A., Ogorodnikova S.Yu. Phosphorus content in biological objects in the area of the Maradykovsky chemical weapons storage and destruction facility // *Fundamental and Applied Biomorphology in Botanical and Environmental Studies: Materialy Vserossiyskoy nauchnoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem*. Kirov: OOO “Raduga-Press”, 2014. P. 319–322 (in Russian).
20. Kauppi M. The influence of nitrogen-rich pollution components on lichens // *Acta Univ. Ouluen*. 1980. No. 101. Ser. A, Biologica. No. 9. 25 p.
21. Gorbach N.V., Getko N.V. The content of sulfate ions in lichens as an indicator of air pollution by sulfur compounds // *Lichenindication of the state of the environment*. Tallin: Izd-vo AN ESSR, 1978. P. 82–86 (in Russian).
22. Soldatenkova Yu.P. Some data on the composition of ash elements in *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. // *Lichenindication of the state of the environment*. Tallin: Izd-vo AN ESSR, 1978. P. 98–102 (in Russian).
23. Pavlova A.I. Analysis of methods for interpolating point heights to create digital elevation models // *Avtometriya*. 2017. V. 53. No. 2. P. 86–94 (in Russian). doi: 10.15372/AUT20170210

***Ursus arctos horribilis*: dynamic modeling of Canadian population**© 2019. I. Bica¹ ORCID: 0000-0003-0791-3016, M. Solomonovich¹ ORCID: 0000-0002-3210-2904K. Deutscher² ORCID: 0000-0003-4323-3915, A. Garrett¹ ORCID: 0000-0002-8111-3407K. Burak³ ORCID: 0000-0001-7119-7777, H. Peacock¹ ORCID: 0000-0001-9657-1235¹MacEwan University,

Building 7, 10700 – 104, Avenue NW, Edmonton, Alberta, Canada, T5J 4S2,

²University of Alberta,

110 45, Saskatchewan Dr NW, Edmonton, Canada, AB T6G 2B4,

³University of Calgary,

2500, University Dr NW, Calgary, Canada, AB T2N 1N4,

e-mail: bicai@macewan.ca, solomonovichm@macewan.ca

The grizzly bears are *K*-strategists and their innate tendency is to reach homeostasis. In the First Nations folklore grizzly bears are viewed as “spirits” that bring balance in their untamed habitat where they roam, this being an indication that they do not overpopulate their habitat and their gene flow is “designed” to reach homeostasis without surpassing it. In the present article we study the dynamics of the grizzly bear population in the Southwest Alberta, Canada. Based on the dynamical model with three parameters, we obtain estimates for the carrying capacity and the minimum viable population of the grizzly bear population in their dynamical habitat. The article starts with the discussion of the rationale for choosing the Logistic Growth Model as the most appropriate for describing the dynamics of grizzly population. In addition to the usual for this kind of models parameters of the growth rate and the carrying capacity, in the current model we consider the parameters of Minimum Viable Population (*MVP*) and Safe Harbour (*SH*) – a measurement introduced by the Alberta Grizzly Bear Recovery Plan. The first of these parameters (*MVP*) is determined by the essential number of the individuals that would allow the survival of the species. The latter measurement (*SH*) is related to the so-called Grizzly Bear Priority Areas, where the risk of mortality is low. Then, based on Verhulst model and Statistical data, the carrying capacity and growth rate for the female grizzly bears in Alberta have been obtained. Mathematical analysis of the model has shown that the equilibria at *K* (carrying capacity) and *MVP*·*SH* are, respectively, stable and unstable. The time of possible extinction for the populations with the initial conditions below the threshold *MVP*·*SH* has been numerically estimated. The correlation between the system parameters and its influence on the survival of the population has been analyzed and the recommendations on ensuring the survival have been given.

Keywords: grizzly bears, *Ursus arctos horribilis*, population dynamics, mathematic modeling, Southwest Alberta, Canada.

УДК 51.76

**Медведь гризли (*Ursus arctos horribilis*):
математическое моделирование канадской популяции**

© 2019. И. Бика¹, доктор философии, доцент,М. Соломонович¹, доктор философии, доцент,К. Дойчер², студент, А. Гаррет¹, студент,К. Бурак³, студент, Х. Пикок¹, студент,¹Университет Макьюэна,

7, 10700 – 104, Авеню Северо-Запад, Эдмонтон, Альберта, Канада, Т5Ж 4S2,

²Университет Альберты,

110 45, Саскачеванский проезд Северо-Запад, Эдмонтон, Канада, АВ Т6Г 2В4,

³Университет Калгари,

2500, Университетский проезд Северо-Запад, Калгари, Канада, АВ Т2Н 1Н4,

e-mail: bicai@macewan.ca, solomonovichm@macewan.ca

Стратегия размножения североамериканских медведей гризли относится к *K*-типу, и их врождённая тенденция – достигать гомеостаза. В фольклоре коренных жителей северной Америки – индейцев медведи гризли рассматриваются как «духи», которые приводят в баланс дикую среду обитания, где они свободно бродят, не перенасыщая свой ареал, и они генетически предрасположены к достижению гомеостаза, не допуская перенаселения популяции. В настоящей статье построена модель динамики популяции гризли в юго-западной части провинции Альберта

(Канада), дана оценка ёмкости среды (K) и минимальной жизнеспособной численности популяции гризли в их динамичной среде обитания. Приведена аргументация в пользу выбора логистической модели роста как наиболее подходящей для описания динамики численности популяции медведей гризли. В дополнение к обычному набору параметров, присущему таким моделям – скорости роста численности популяции и ёмкости среды, в данную модель включены также параметры «минимальная жизнеспособная численность популяции» (MVP) и «безопасная зона» (SH). Последний параметр был введён Программой по восстановлению численности медведей гризли в провинции Альберта. Параметр MVP определяется минимальным числом особей, необходимым для выживания популяции. Параметр SH приписывается так называемым «приоритетным областям проживания медведей гризли», где условия для их проживания благоприятны, а смертность невысока. Далее, основываясь на модели Ферхюльста и статистических данных, дана оценка ёмкости среды и скорости роста численности популяции для медведиц гризли в Альберте. Математический анализ модели показывает, что равновесие системы при значении численности, стремящемся к ёмкости среды K – устойчивое, в то время как равновесие около значения $MVP \cdot SH$ – неустойчивое. Получена численная оценка для времени вымирания популяции с начальными условиями ниже этого значения. Проанализированы корреляции между параметрами и их влияние на выживание популяции медведей. На основании анализа даны рекомендации по обеспечению выживания популяции.

Ключевые слова: медведи гризли, *Ursus arctos horribilis*, динамика популяции, математическое моделирование, юго-западная Альберта, Канада.

The grizzly bears are K-strategists and their innate tendency is to reach homeostasis. In the First Nations folklore grizzly bears are viewed as “spirits” that bring balance in their untamed habitat where they roam, this being an indication that they do not overpopulate their habitat and their gene flow is “designed” to reach homeostasis without surpassing it [1]. In the present article we study the dynamics of the grizzly bear population in the Southwest Alberta, Canada, giving estimates for the carrying capacity and the minimum viable population of the grizzly bear population in their dynamical habitat.

The origins of the logistic model goes all the way back to 1798, when the Reverend Thomas Robert Malthus (alias Joseph Johnson) published An Essay on the Principle of Population [2]. His essay opened the idea that populations of any origins and species can be measured mathematically. In his own words he said: “I said that population, when unchecked, increased in a geometrical ratio, and subsistence for man in an arithmetical ratio. Let us examine whether this position be just...”.

The Malthusian growth is known as:

1. $P_t = P_0 r^t$, geometric population growth, when the population size is modeled in discrete time intervals, and organisms have non-overlapping generations. $r > 0$, all the time constant, is the net reproductive rate & intergenerational rate of change (i. e. the geometric rate of increase), P_0 is the initial population, and P_t is the population size at time t where the time t is measured in time units or generations.

2. $P(t) = P_0 e^{rt}$, exponential population growth, when the population growth depends on conditions at the current moment, and the population growth is continuous (continuous reproduction/overlapping generations). $r > 0$

represents the instantaneous rate of increase, P_0 is the initial population, and $P(t)$ is the population size at time t where the time t is measured continuously (i. e. $t \geq 0$). The geometric growth is the discrete form of the exponential growth. The exponential growth is the solution of the elementary ODE model

$$\frac{dP}{dt} = rP .$$

The Malthusian model is appropriate for density-independent populations, while the grizzly bear population shows density-dependent feedback, i. e.:

- From all historical data, the bear population never showed an indefinite exponential increase.
- Resources for the bear population are limited, influencing birth and death.
- From historic data, the bear population growth rate showed decline.

Therefore the Malthusian model is not adequate for such population. An adequate model for studying the grizzly bear population is the Verhulst's model, the classic Logistic Growth Model:

$$\frac{dP}{dt} = rP \left(1 - \frac{P}{K} \right), \quad (1)$$

where K is the carrying capacity (a function of supply of limiting resources), its function being to assure a sustainable population size for the grizzlies based on prevailing environmental conditions. We have population growth positive below K , and negative above K . The thresholds of the Verhulst model are $P = 0$ and $P = K$. In the Figure 1 it is shown an example of the Verhulst's model with carrying capacity $K = 1000$.

We notice the negative growth rate of the population if the initial population is above the threshold $P = K$, and the positive growth rate

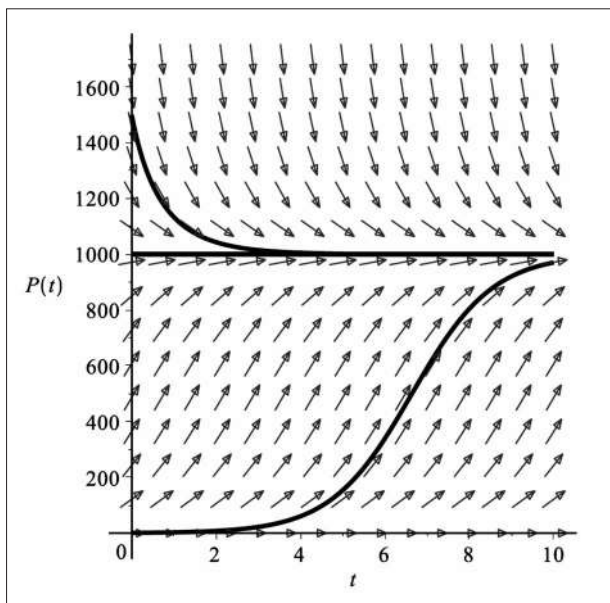


Fig. 1. The classic Verhulst's model for carrying capacity $K = 1000$

if the initial population is below the threshold $P = K$. Biologically the threshold $P = 0$ is not realistic. The model that we consider for studying the dynamics of the grizzly bear population, which represents the motivation of the present article, introduces an Allee type effect, the threshold $P = SH \cdot MVP$ by replacing the threshold $P = 0$ as follows:

$$\frac{dP}{dt} = r \left(\frac{P}{SH \cdot MVP} - 1 \right) \left(1 - \frac{P}{K} \right) \quad (2)$$

SH represents the **Safe Harbour**, a new measuring function introduced by the Alberta Grizzly Bear Recovery Plan 2008–2013 [3], which speaks of the creation of **Grizzly Bear Priority Areas** in high quality habitat where there is a low risk of mortality; the Safe Harbour (SH) is a combination of high quality habitat and reduced risk. The MVP is referred to the **Minimum Viable Population**, a measure that specifies the necessary amount of individuals in order for the species to survive. While the threshold $P = K$ is a stable equilibrium point of the dynamical system, the threshold $P = SH \cdot MVP$ is an unstable equilibrium point of the system. SH acts as a buffer zone for the MVP ; it allows it to be depressed and then to rebound. Using SH as a buffer of the MVP we are able to extract, using an inverse problem, an estimate for the MVP . What is very important to be realized is that the model (2), when the population is situated under the $SH \cdot MVP$ -threshold it is biologically relevant only up to the time of extinction! Once the popu-

lation is extinct, the relevance of a population dynamics model is no longer necessary, as it is irrelevant. We believe that we bring something new in the field of Conservation Biology, as until now the MVP is only estimated statistically by using computer simulations for Population Viability Analysis (PVA), some important resources in this direction being [4] and [5].

Carrying capacity and female growth rate estimates for grizzly bears in the province of Alberta, Canada

The grizzly bear is a flagship/umbrella species that occupies an estimated area of $2.98 \cdot 10^6 \text{ km}^2$ in Canada [6]. They are habitat generalists, and they can be found from sea level to high alpine, temperate coastal rain forest, alpine tundra, mountain slopes, upland boreal forest, taiga, grasslands, and tundra. In Alberta there are seven Bear Management Areas (BMA): BMA 1 – Chinchaga (boreal grizzly habitat in Alberta), BMA 2 – Grande Cache, BMA 3 – Yellowhead, BMA 4 – Clearwater, BMA 5 – Livingstone, BMA 6 – Waterton-Castle, BMA 7 – Swan Hills. Our assumption is that grizzly bears have a dynamic habitat (no fixed boundaries / home range with extensions). One reason supporting this assumption is the resource pressure that forces micro-migration. Then the carrying capacity becomes a dynamic variable, which depends on the density of natural resources of the particular habitat frequented by the grizzly bear during a certain time of the year (e. g. salmon feeding). The assumption of dynamical habitat for the grizzly bear supports the known fact that the grizzly bear is an umbrella species (influences the survival of other species). Estimating the carrying capacity of the grizzly bear in their dynamical habitat can make us understand better the limitations of the home range habitat for the grizzly bear. Figure 2 (see color insert) shows the distribution of grizzly bears in the BMA 2–7 (the areas on which we focused our present work) outlining the home range and shared habitat for grizzlies with the estimated population numbers as specified in the document prepared for Alberta Sustainable Resource Development (ASRD), Alberta Conservation Association (ACA) [7].

The grizzly bears have a slow reproductive rate due to the fact that the female grizzly bears have a late reproductive maturity, combined with small litter and long inter-litter intervals [8, 9].

To obtain an estimate for the carrying capacity and for the female growth rate we are using the Verhulst model (1); the carrying capacity

estimate will be for the female grizzly bears, then we will adjust it to the overall population of grizzly bears male & female. The solution of the model (1) with the initial condition $P(0) = P_0$ can be found by elementary integration to be:

$$P(t) = \frac{KP_0}{e^{-rt}(K - P_0) + P_0} \quad (3)$$

We are interested to find K, r and P_0 knowing the total number of female population at three equally-spaced times $d, 2d$ and $3d$ respectively, where d is our time unit. We obtain then the following system of nonlinear equations:

$$\frac{KP_0}{e^{-ird}(K - P_0) + P_0} = P(id), \quad i=1,2,3 \dots \quad (4)$$

which transforms into the system:

$$e^{-ird}(x_0 - M) = P_i - M, \quad i = 1 \dots 3, \quad (5)$$

where:

$$x_0 = 1/P_0, \quad M = 1/K, \quad P_i = 1/P(id), \quad i = 1 \dots 3. \quad (6)$$

The system (5) provides the exact solution:

$$M = P_1 - C, \quad C = \frac{P_1 - P_2}{1 - x}, \quad x = \frac{P_2 - P_3}{P_1 - P_2},$$

$$r = -\frac{1}{d} \ln x,$$

$$x_0 = P_1 + \frac{P_1 - P_2}{x}.$$

Using (6) we get the exact solution of the system (4):

$$K = \frac{1}{P_1 - C}, \quad C = \frac{P_1 - P_2}{1 - x}, \quad x = \frac{P_2 - P_3}{P_1 - P_2}, \quad (7)$$

$$r = -\frac{1}{d} \ln x, \quad (8)$$

$$P_0 = \frac{1}{P_1 + \frac{P_1 - P_2}{x}}. \quad (9)$$

We used the following data for the female grizzly bear population [10–11]:

| | | | | | | |
|----------------------------------|------|------|------|------|------|------|
| Year | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 |
| Female population size estimates | 441 | 489 | 539 | 588 | 636 | 677 |

The first estimates for K, r and P_0 were obtained by considering the three consecutive years 2009, 2010 and 2011. The value obtained for P_0 was compared with the known data for the female population size estimate from the previous year, i.e. the year 2008. Then we used two more sequences of consecutive years to find estimates for K, r and P_0 : 2010, 2011, 2012 and 2011, 2012, 2013, as this was the only available data that we could find. In the Population Size and Trends Section in the COSEWIC Assessment and Status Report on the Grizzly Bear *Ursus arctos* in Canada – 2012 [6] it is explained how difficult it is to obtain such data, and yet the limited data that we found allowed us to

show that the method used has a great potential in the population ecology/computational biology research fields. We expected that the values obtained for P_0 for each trial of three consecutive years to be close to the estimate of the female population size from the year prior to the first year in the sequence of the three consecutive years, which it did happen. Here are our estimates; in each table we start with the year prior to the first year (**in bold font**) in the sequence of the three consecutive years (the three consecutive years are *in italic font*) that we used in order to compare the estimate obtained for P_0 (the estimate found for P_0 is **in bold font** as well), as explained above.

| | | | | | | |
|------------|------------|------------|------------|-----|------|------------|
| 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | K | r | P_0 |
| 441 | <i>489</i> | <i>539</i> | <i>588</i> | 980 | 0.20 | 439 |

| | | | | | | |
|------------|------------|------------|------------|------|------|------------|
| 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | K | r | P_0 |
| 489 | <i>539</i> | <i>588</i> | <i>636</i> | 1058 | 0.19 | 489 |

| | | | | | | |
|------------|------------|------------|------------|-----|------|------------|
| 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | K | r | P_0 |
| 539 | <i>588</i> | <i>636</i> | <i>677</i> | 830 | 0.30 | 533 |

We averaged the values for K and r as shown in the tables below

**I. BICA, M. SOLOMONOVICH, K. DEUTSCHER, A. GARRETT,
K. BURAK, H. PEACOCK
"URSUS ARCTOS HORRIBILIS: DYNAMIC MODELING
OF CANADIAN POPULATION", P. 45**

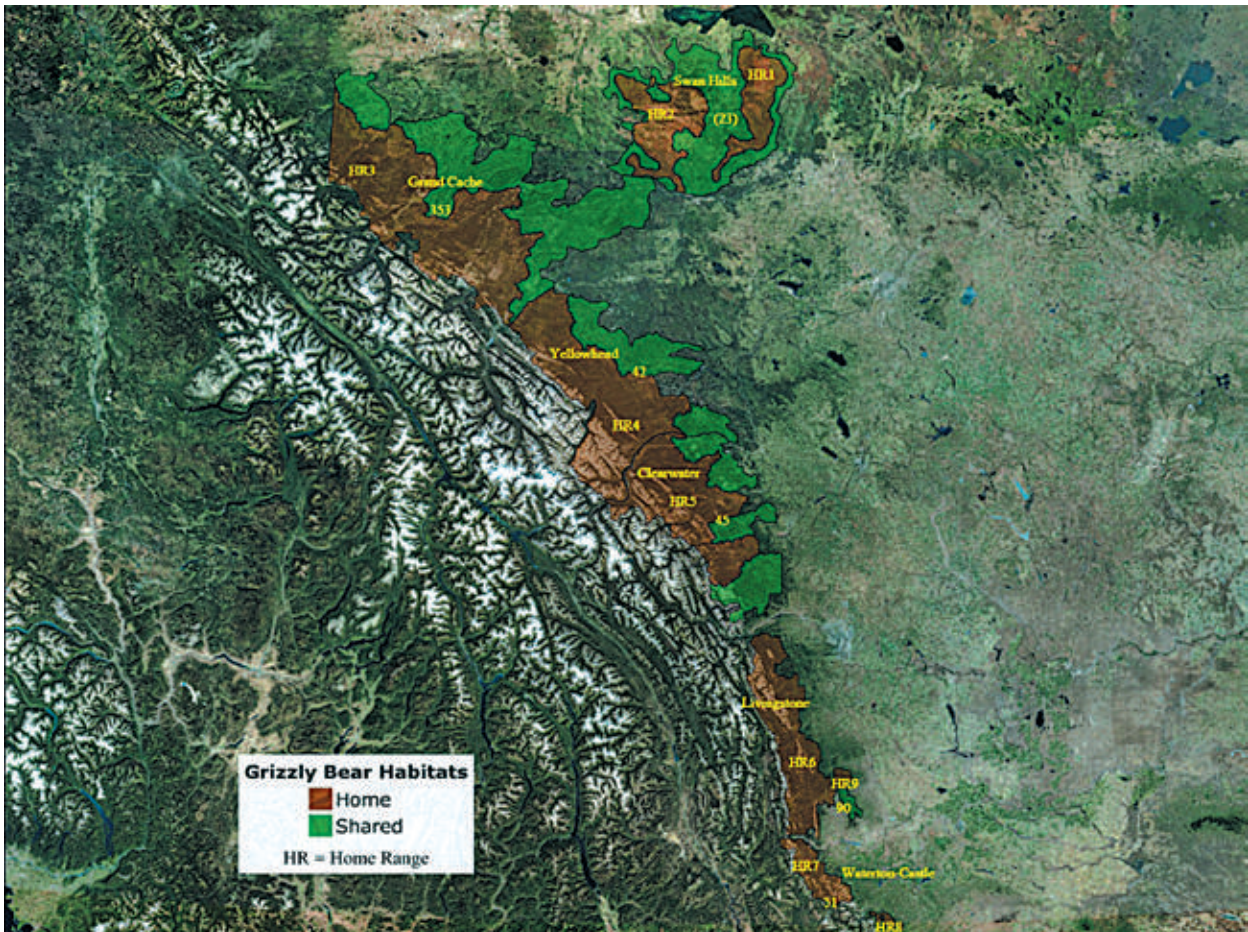


Fig. 2. BMA 2-7. Home range and shared habitat

| | |
|--|------------------|
| Kp = carrying capacity for the entire grizzly population, male & female The mean of the three estimates of K for females – 100/64 | Estimate 1493 |
| r = female reproductive rate The mean of the three estimates of r | Estimate 0.23 |

The value of $r = 0.23$ for the female reproductive rate is in agreement with [9]. The division by 64 in estimating Kp is due to the inclusion of the male population as well. Using the data provided by [9] we have for 690 bears: Female Demographics – 52 cubs, 74 yearlings, 83 sub-adults, 227 adults, total female population size = 436; total male population size $690 - 436 = 254$. Male and female ratio of the population for all ages: 36% males and 64% females.

The ratio found above is very comparable with the one found by [11] much earlier in 1994 for grizzly bears in the Northwest Territories (a study done between 1987 and 1989); 33% males and 67% females. We would have gotten the same ratio if we would have truncated off the female proportion first.

Mathematical analysis of the new proposed model

As we mentioned in Section 1, biologically the threshold $P = 0$ is not realistic. The model that we consider for studying the dynamics of the grizzly bear population is the model (2), which introduces the Allee type effect given by the new threshold $P = SH \cdot MVP$, replacing the threshold $P = 0$ in the Verhulst model (1):

$$\frac{dP}{dt} = r \left(\frac{P}{SH \cdot MVP} - 1 \right) \left(1 - \frac{P}{K} \right), \quad (10)$$

where SH represents the Safe Harbour that refers to the Grizzly Bear Priority Areas, and MVP is the Minimum Viable Population, the measure that specifies the necessary amount of individuals in order for the species to survive. While the threshold $P = K$ is a stable equilibrium point of the dynamical system, the threshold $P = SH \cdot MVP$ is an unstable equilibrium point of the system.

Safe Harbour for the Grizzly Habitat. In 2009 the Alberta Sustainable Resource Development Directors Council officially approved the designation of Grizzly Bear Core Areas and Secondary Areas. A Core Area or a Secondary Area for a grizzly bear is called Grizzly Bear Watershed Unit (GBWU), a unit which rep-

resents a subdivision of major watersheds to approximate the home range of a female grizzly bear, which is 700 km² [12]. The Core Areas are prime areas for grizzlies with a high resource factor that promotes their survival, and where the mortality risk is low; the mortality risk is currently measured through open road densities. The Secondary Areas reflect the broader range of grizzly bears, and are considered good grizzly bear habitat areas [12]. The quality of a grizzly bear habitat is measured in term of:

- The interaction with their biotic environment; a good habitat will offer a balanced interaction of grizzlies with their biotic and abiotic environment, which will be measured by an optimum resource availability for grizzlies while not depleting the resource availability of the biotic environment they reside in (they are an umbrella species). The resource availability is modeled as Resource Selection Function (RSF), which is the relative probability of grizzly bear occurrence on the landscape.

- The safety of the habitat; a good habitat will offer an optimum security for accessing resources (resource availability) that will encourage reproduction, and it will provide a safe environment to raise offsprings. The safety of the habitat is related to the security for the grizzlies, which is related to human-caused mortality. The human-caused mortality is associated to Open Road Density (the sum of all human- infrastructure within the habitat), which through the suggestion of the Grizzly Bear Recovery Team is eventually replaced with Mortality Risk, quote from [12]: “Open Road Density is eventually replaced with Mortality Risk. Mortality Risk is a spatial model that represents the relative probability of human-caused grizzly bear mortality. It is a function of terrain ruggedness, distance from roads, streams, cutlines, and forest edges and land status (protected area, Green/White Area). For the purpose of this analysis, both Open Road Density and Mortality Risk will be used. Safe Harbour is a combination of habitat quality and risk. A safe harbour is an area of good habitat (high RSF values), to which bears are attracted by an abundance of resources, but also where the bear faces a low risk of human caused

mortality (low Mortality Risk). Safe harbour was calculated using the following expression:

$$SF = RSF \cdot (10 - RISK)''.$$

– The connectivity of the habitat; a good habitat will assure access to other resources outside the home range, a home range with extensions.

On the stability of equilibrium points $P = K$ and $P = SH \cdot MVP$. Proving that:

$$\lim_{P \rightarrow K} \frac{dP}{dt} = 0, \tag{11}$$

let $\varepsilon > 0$ and choose $|P - K| < \delta_\varepsilon$, with:

$$\delta_\varepsilon = \frac{-r \left[\left(\frac{K}{SH \cdot MVP} - 1 \right) + \sqrt{r^2 \left(\frac{K}{SH \cdot MVP} - 1 \right)^2 + \frac{4rK\varepsilon}{SH \cdot MVP}} \right]}{2r / (SH \cdot MVP)} > 0$$

Then the new model (10) will give us the following:

$$\left| \frac{dP}{dt} \right| \leq \frac{r}{K \cdot SH \cdot MVP} |P - K|^2 + \frac{r}{K} \left| \frac{K}{SH \cdot MVP} - 1 \right| |P - K| < \frac{r}{K \cdot SH \cdot MVP} \delta_\varepsilon^2 + \frac{r}{K} \left| \frac{K}{SH \cdot MVP} - 1 \right| \delta_\varepsilon = \varepsilon \Rightarrow \lim_{P \rightarrow K} \frac{dP}{dt} = 0$$

Similarly it can be proven that:

$$\lim_{P \rightarrow SH \cdot MVP} \frac{dP}{dt} = 0. \tag{12}$$

Figure 3 shows the way the slopes of the tangents to the integral curves of the model (10)

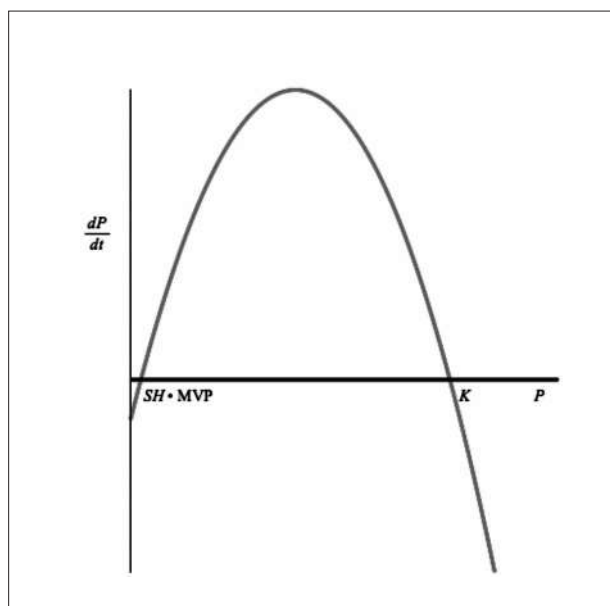


Fig. 3. dP/dt vs. P in the model (10)

vary with respect to $P(t)$ for some prescribed values of the parameters. The elementary analysis of the right hand side quadratic in $P(t)$ in the model (10) gives us the following:

– In the vicinity of $P = SH \cdot MVP$ we have:

$$\frac{dP}{dt} < 0, \text{ if } P < SH \cdot MVP, \tag{13}$$

$$\text{and } \frac{dP}{dt} > 0, \text{ if } P > SH \cdot MVP.$$

– In the vicinity of $P = K$ we have:

$$\frac{dP}{dt} > 0, \text{ if } P < K, \tag{14}$$

$$\text{and } \frac{dP}{dt} < 0, \text{ if } P > K.$$

The relationships (11) and (14) as well as (12) and (13) prove that the equilibrium points $P = K$ and $P = SH \cdot MVP$ of the model (10) are stable and unstable, respectively.

If the the density of the population is located under the threshold $P = SH \cdot MVP$, then the time of extinction for the population is obtained from the model (10) to be:

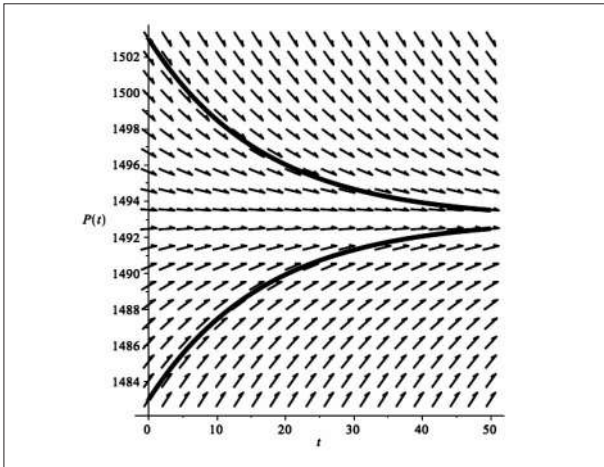


Fig. 4. $P = K$ is a stable equilibrium point of the model (10). The following values were considered for parameters: $K = 1493$, $r = 1.04$, $MVP = 40$, $SH = 0.433$. The value of r was taken from [9], the value of SH was taken from [12], and we used our estimate that we found for $K = K_p$

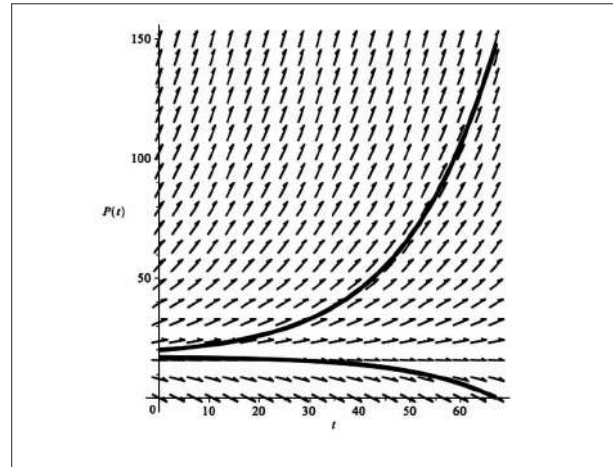


Fig. 6. $P = SH \cdot MVP$ is an unstable equilibrium point of the model (10). The following values were considered for parameters: $K = 1493$, $r = 1.04$, $MVP = 40$, $SH = 0.433$, $P_0 = 17$. The value of r was taken from [9], the value of SH was taken from [12], and we used our estimate that we found for $K = K_p$. The estimated time of extinction evaluated, using the formula (15): $T_{ext} \approx 67.06$.

$$T_{ext} = \frac{SH \cdot MVP \cdot K \cdot \ln \left(\frac{SH \cdot MVP \cdot (K - P_0)}{K(SH \cdot MVP - P_0)} \right)}{r(K - SH \cdot MVP)}, \quad (15)$$

where P_0 represents the initial population given by the initial condition $P(0) = P_0$.

Figures 4 and 5 show the stability of the thresholds $P = SH \cdot MVP$ and $P = K$ respectively; $P = SH \cdot MVP$ is unstable and $P = K$ is stable. For the threshold $P = SH \cdot MVP$ the time span used is considered only until extinction (i. e.

$t \in [0; T_{ext}]$), where the model (10) is biologically relevant.

Initial Value Problem for the model (10). Using the model (10) we create the Initial Value Problem (IVP):

$$\frac{dP}{dt} = r \left(\frac{P}{SH \cdot MVP} - 1 \right) \left(1 - \frac{P}{K} \right), \quad (16)$$

$$P(0) = P_0. \quad (17)$$

The IVP (16–17) has the unique solution:

$$P(t) = \left[SH \cdot MVP \left(K \left(\frac{P_0 - SH \cdot MVP}{SH \cdot MVP(K - P_0)} \right)^{\frac{K}{K - SH \cdot MVP}} \cdot e^{\frac{rt}{SH \cdot MVP}} + \left(\frac{P_0 - SH \cdot MVP}{SH \cdot MVP(K - P_0)} \right)^{\frac{SH \cdot MVP}{K - SH \cdot MVP}} \cdot e^{\frac{rt}{K}} \right) \right] / \left[\left(\frac{P_0 - SH \cdot MVP}{SH \cdot MVP(K - P_0)} \right)^{\frac{SH \cdot MVP}{K - SH \cdot MVP}} \cdot e^{\frac{rt}{K}} + SH \cdot MVP \left(\frac{P_0 - SH \cdot MVP}{SH \cdot MVP(K - P_0)} \right)^{\frac{K}{K - SH \cdot MVP}} \cdot e^{\frac{rt}{SH \cdot MVP}} \right]. \quad (18)$$

Fitness – MVP Correlation. In this article, by fitness we understand simply the total number of offspring in a chosen time unit. We define the fitness function to be:

$$F(MVP, SH, t) = P(t) - P_0, \quad (19)$$

where $P(t)$ is given by (18), and P_0 represents the initial population size in a BMA. Simplifying (19) we obtain:

$$\left(SH \cdot MVP \cdot (K - P_0) \left(\frac{P_0 - SH \cdot MVP}{SH \cdot MVP \cdot (K - P_0)} \right)^{\frac{K}{K - SH \cdot MVP}} e^{\frac{rt}{SH \cdot MVP}} + (SH \cdot MVP - P_0) \left(\frac{P_0 - SH \cdot MVP}{SH \cdot MVP \cdot (K - P_0)} \right)^{\frac{SH \cdot MVP}{K - SH \cdot MVP}} e^{\frac{tr}{K}} \right) / \left(\left(\frac{P_0 - SH \cdot MVP}{SH \cdot MVP \cdot (K - P_0)} \right)^{\frac{SH \cdot MVP}{K - SH \cdot MVP}} e^{\frac{tr}{K}} + SH \cdot MVP \left(\frac{P_0 - SH \cdot MVP}{SH \cdot MVP \cdot (K - P_0)} \right)^{\frac{K}{K - SH \cdot MVP}} e^{\frac{rt}{SH \cdot MVP}} \right). \quad (20)$$

The model (20) correlates the fitness with the *MVP*, i. e. the model gives an estimate of the *MVP* based on an observed fitness in one year (our time unit of choice) in a BMA. In general the model is designed to give predictions of the *MVP* based on an estimated fitness for a density-dependent population under observation. Considering the equation $F(MVP, SH, t) = EF$, the value of the *MVP* obtained by solving the equation tells us what population size is necessary for the grizzly bear to continue surviving when the fitness in one year in the BMA is *EF*.

For *SH* and *t* given, the function $F(MVP, SH, t)$ is a single variable function, say $f(MVP)$. We want to see whether there exists a unique *MVP* such that $f(MVP) = EF$ when *MVP* is part of a certain open interval *U*. For

the set of data that we used, Grande Cache BMA; core and secondary areas [12], numerically we could show that for *MVP* in the open interval $U = (0, 811)$ (more than enough realistic interval for *MVP*), $f'(MVP) \neq 0$ on *U* (Fig. 6). Then from the Inverse Function Theorem there exists an open interval *V* containing *EF* (realistically *EF* is well contained in between $f(1) \approx 801.35$ and $f(810) \approx 0.0046$) such that *f* maps *U* onto *V* in a one-to-one correspondence. Then there will be a unique *MVP* in *U* such that $f(MVP) = EF$.

For the general case, working under the hypothesis that P_0 is located in between the thresholds $P = SH \cdot MVP$ and $P = K$, i. e. $S \cdot MVP < P_0 < K$, we can prove that $f'(MVP) \neq 0$. Indeed we have:

$$f'(MVP) = \left(\left((P_0 - SH \cdot MVP)(K - SH \cdot MVP)rt + SH^2 \cdot MVP^2 (K - P_0) \right) \left(\frac{P_0 - SH \cdot MVP}{SH \cdot MVP (K - P_0)} \right)^{\frac{K + SH \cdot MVP}{K - SH \cdot MVP}} \cdot e^{\frac{rt(SH \cdot MVP - K)}{SH \cdot MVP \cdot K}} + SH \cdot MVP (SH \cdot MVP - P_0) \left(\frac{P_0 - SH \cdot MVP}{SH \cdot MVP (K - P_0)} \right)^{\frac{2SH \cdot MVP}{K - SH \cdot MVP}} e^{\frac{2rt}{K}} \right) / \left(\left(\frac{P_0 - SH \cdot MVP}{SH \cdot MVP (K - P_0)} \right)^{\frac{SH \cdot MVP}{K - SH \cdot MVP}} \cdot e^{\frac{rt}{K}} + SH \cdot MVP \left(\frac{P_0 - SH \cdot MVP}{SH \cdot MVP (K - P_0)} \right)^{\frac{K}{K - SH \cdot MVP}} \cdot e^{\frac{rt}{SH \cdot MVP}} \right)^2. \quad (21)$$

Assuming that $f'(MVP) = 0$, one can get the following:

$$\left(\frac{(P_0 - SH \cdot MVP)(K - SH \cdot MVP)}{SH^2 \cdot MVP^2 (K - P_0)} + 1 \right) e^{rt \left(\frac{1}{SH \cdot MVP} - \frac{1}{K} \right)} = 1, \quad (22)$$

which is impossible due to the fact that:

$$\frac{(P_0 - SH \cdot MVP)(K - SH \cdot MVP)}{SH^2 \cdot MVP^2 (K - P_0)} + 1 > 1,$$

for any MVP in any open set, as $SH \cdot MVP < P_0 < K$, the hypothesis we work under, and:

$$e^{r \left(\frac{1}{SH \cdot MVP} - \frac{1}{K} \right)} = e^{r \frac{K - SH \cdot MVP}{SH \cdot MVP \cdot K}} > e^0.$$

Hence $f'(MVP) \neq 0$ for any MVP in any open set, which assures us that the Inverse Function Theorem, to extract MVP , will work all the time!

Using the data for the Grande Cache Core area [12], we obtained the following estimates for MVP :

| | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|----|----|----|
| Fitness for time unit $t = 1$ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| MVP estimate | 361 | 232 | 171 | 135 | 112 | 95 | 83 | 74 | 66 | 60 |

Using the data for the Grande Cache Secondary area [12], we obtained the following estimates for MVP :

| | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| Fitness for time unit $t = 1$ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| MVP estimate | 548 | 352 | 259 | 205 | 170 | 145 | 126 | 112 | 101 | 91 |

The results obtained are not contradictory:

– The fitness and MVP are correlated by an inverse process; a depression in the fitness triggers a larger requirement for MVP , which it would be expected. One important factor that can trigger a depression in the fitness may be strongly correlated to genetic diversity [13] specially when the initial population density is small, which if weakened may result in reducing the fitness and fecundity of the grizzly bears, and a larger requirement for MVP may require introducing new individuals into the existing population for avoiding “genetic meltdown” that

eventually may lead to extinction of the grizzly population in the monitored area.

– SH regulates accordingly the value of MVP ; higher SH (better quality habitat for grizzly bears) induces lower requirement for MVP . The latter two tables above and the Figures 7 & 8 show clearly this phenomenon.

Conclusion

As mentioned in [5], “Estimating minimum viable population and reserve size is a fundamental cornerstone of conservation biol-

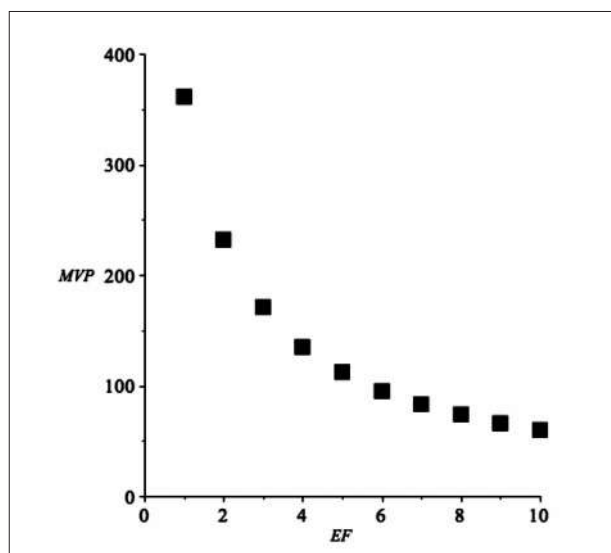


Fig. 6. $f'(MVP) \neq 0$ on the interval $U = (0, 811)$. The time unit considered was $t = 1$, and the following values were considered for parameters: $K = 1493$, $r = 1.04$, $SH = 0.433$, $P_0 = 353$. The value of r was taken from [9], the values of P_0 and SH were taken from [12], and we used our estimate that we found for $K = Kp$

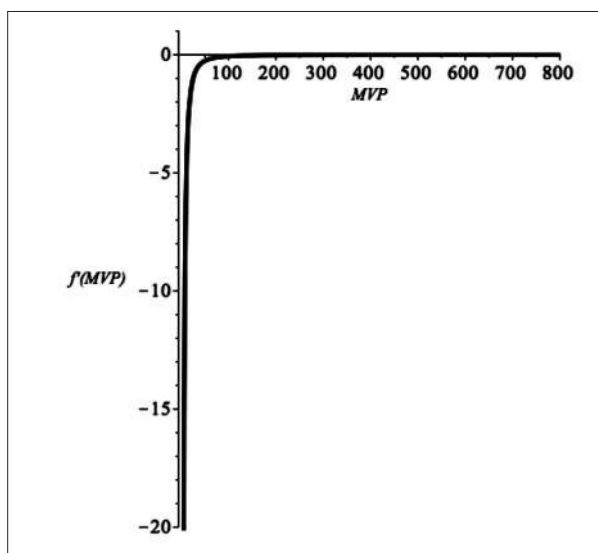


Fig. 7. The following values were considered for parameters: $K = 1493$, $r = 1.04$, $SH = 0.433$, $P_0 = 353$. The value of r was taken from [9], the values of P_0 and SH were taken from [12], and we used our estimate that we found for $K = Kp$

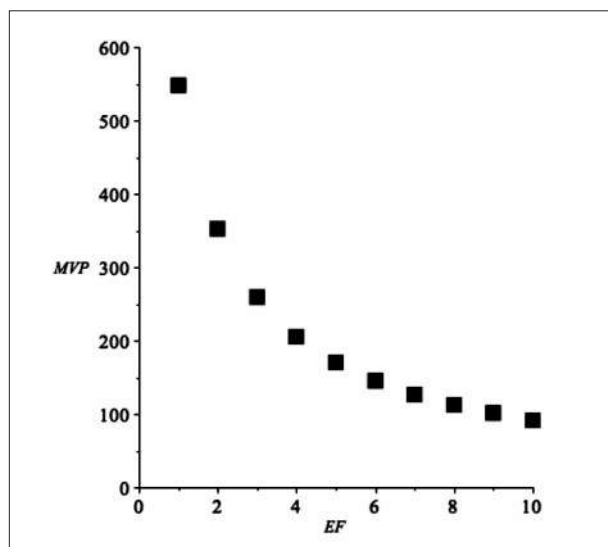


Fig. 8. The following values were considered for parameters: $K = 1493$, $r = 1.04$, $SH = 0.433$, $P_0 = 353$. The value of r was taken from [9], the values of P_0 and SH were taken from [12], and we used our estimate that we found for $K = K_p$

ogy”, we bring a new approach on estimating the minimum viable population. Our approach is by correlating the minimum viable population with the fitness of the population and the Safe Harbour (SH), the new measuring function introduced by the Government of Alberta. Studies on the estimation of the minimum viable population correlated with the fitness of a population have been performed on different species in botany and zoology, as for example in [14–16]. Our analytical model has the advantage of relying on a small number of parameters, and it can be enhanced by adding new ones, such as the coefficient of inbreeding in the species, or by taking into account other factors that may influence the dynamics of the grizzly bear population. Yet, a viable analysis of the population involves a substantially greater number of parameters that must be taken into account, and many of these parameters cannot be feasibly determined [4].

References

1. Clarke D.A., Slocombe D.S. Respect for Grizzly Bears: an aboriginal approach for co-existence and resilience, geography and environmental studies faculty publications, geography and environmental studies. Laurier: Wilfrid Laurier University, Scholars Commons, 2009.
2. Malthus T. An essay on the principle of population / Printed for J. Johnson. St. Paul’s Church-Yard, 1798.
3. Alberta Grizzly Bear recovery plan 2008–2013 // Alberta Sustainable Resource Development, Fish and

Wildlife Division, Alberta Species at Risk Recovery Plan No. 15. Edmonton, AB. 2008.

4. Thompson G.G. Determining Minimum Viable Populations under the Endangered Species Act. NOAA // Technical Memorandum NMFS-F/NWC-198. U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Marine Fisheries Service. 1991.

5. Wielgus R.B. Minimum viable population and reserve sizes for naturally regulated grizzly bears in British Columbia // Biological Conservation. 2002. V. 106. P. 381–388. doi: 10.1016/S0006-3207(01)00265-8

6. COSEWIC assessment and status report on the Grizzly Bear *Ursus arctos* in Canada // COSEWIC. 2012. Committee on the Status of Endangered Wildlife in Canada. Ottawa, 2012. 84 p.

7. Festa-Bianchet M. Status of the Grizzly Bear (*Ursus arctos*) in Alberta // Alberta Sustainable Resource Development (ASRD), Alberta Conservation Association (ACA). Alberta Wildlife Status Report. 2010. No. 37.

8. Weaver J.L., Paquet P.C., Ruggerio L.F. Resilience and conservation of large carnivores in the Rocky Mountains // Conservation Biology, Conservation Biology. 1996. V. 10. No. 4. P. 964–976. doi: 10.1046/j.1523-1739.1996.10040964.x

9. Garshelis D.L., Gibeau M.L., Herrero S. Grizzly bear demographics in and around Ban National Park and Kananaskis Country, Alberta // Journal of Wildlife Management. 2005. V. 69. No. 1. P. 277–297.

10. Grizzly bear conservation in Alberta: [year] management activities and recovery implementation [Internet resource] <https://open.alberta.ca/publications/9781460116722> (Accessed: 22.11.2019).

11. Clarkson P.L., Liepins I.S. Grizzly bear population estimate and characteristics in the Anderson and Horton Rivers area, Northwest Territories, 1987–89 // Bears: Their Biology and Management. 1994. V. 9. Part 1: A Selection of Papers from the Ninth International Conference on Bear Research and Management. P. 213–221.

12. Appendix 6: Analysis of Forest Management Activities on Grizzly Bear Habitat in FMU E8 Government of Alberta, 2009. 40 p.

13. Draper J.P., Waits L.P., Adams J.R., Seals Ch.L., Steury T.D. Genetic health and population monitoring of two small black bear (*Ursus americanus*) populations in Alabama, with a regional perspective of genetic diversity and exchange. PLOS ONE. 2017. doi: 10.1371/journal.pone.0186701.

14. Reed D.H. Relationship between population size and fitness // Conservation Biology. 2005. V. 19. No. 2. P. 563–568.

15. Schueller A.M., Hayes D.B. Minimum viable population size for lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*) using an individual-based model of demographics and genetics // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 2011. V. 68. P. 62–73. doi: 10.1139/F10-129

16. Reed D.H., Bryant E.H. Experimental tests of minimum viable population size // Animal Conservation. 2000. V. 3. P. 7–14. doi: 10.1017/S13679430000069X

Использование системы дифференциальных уравнений для прогнозирования долгосрочной динамики запасов лекарственных растений в лесных фитоценозах

© 2019. Н. И. Федоров¹, д. б. н., доцент, зав. лабораторией,
С. Н. Жигунова¹, к. б. н., с. н. с., О. И. Михайленко², к. х. н., доцент,
К. И. Михайленко³, к. ф.-м. н., доцент, с. н. с.,
Л. Г. Наумова⁴, к. б. н., профессор, В. П. Путенихин⁵, д. б. н., профессор,

¹Уфимский Институт биологии Уфимского федерального
исследовательского центра РАН,
450054, Россия, г. Уфа, Проспект Октября, д. 69,

²Уфимский государственный нефтяной технический университет,
450062, Россия, г. Уфа, ул. Космонавтов, д. 1, корп. 1,

³Институт механики Уфимского федерального исследовательского центра РАН,
450054, Россия, г. Уфа, Проспект Октября, д. 71,

⁴Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы,
450008, Россия, г. Уфа, ул. Октябрьской революции, д. 3а,

⁵Башкирский государственный университет,
450076, Россия, г. Уфа, ул. Заки Валиди, д. 32,

e-mail: fedorov@anrb.ru, trioksan@mail.ru, const@uimech.org,
leniza.gumerovna@yandex.ru, vpp99@mail.ru

На примере сосново-берёзовых лесов ассоциации *Bupleuro longifoliae* — *Pinetum sylvestris* центральной части горно-лесной зоны Республики Башкортостан разработан способ моделирования долгосрочного изменения площадей разновозрастных лесов и вырубок. При построении модели использована система дифференциальных уравнений. В качестве предикторов модели использованы данные о площадях разновозрастных лесов с доминированием сосны, лиственницы, берёзы и осины, площади вырубок на момент проведения лесоустройства, действующая лесосека, а также рекомендации по лесовосстановлению и площади рекомендуемого проведения лесовосстановительных мероприятий на вырубках лесов с разным исходным составом древостоя. При моделировании также анализировались последствия использования других рекомендуемых в лесохозяйственной практике лесосек (первая и вторая возрастные, интегральная). Модель позволяет делать долгосрочные прогнозы динамики запасов видов, основным местом сбора сырья которых являются вырубки. В качестве примера приведён долгосрочный прогноз изменения биологического запаса на вырубках листьев *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop., используемых в фитотерапии, а также в производстве тонизирующего напитка «Иван-чай». В качестве исходных данных использовалась рассчитанная ранее средняя продуктивность листьев *C. angustifolium* на молодых вырубках до 5 лет и зарастающих вырубках от 5 до 10 лет. Установлено, что при соблюдении действующей лесосеки в полном объёме запас листьев этого вида будет увеличиваться в связи с увеличением площадей вырубок и через 40–50 лет стабилизируется на уровне, значительно превышающем современный.

Ключевые слова: моделирование, дифференциальные уравнения, лекарственные растения, ресурсный запас, вырубки, Южный Урал.

Using a system of differential equations to predict the long-term dynamics of stocks of medicinal plants in forest phytocenoses

© 2019. N. I. Fedorov¹ ORCID: 0000-0002-0167-7449¹, S. N. Zhigunova¹ ORCID: 0000-0002-7129-8292²

O. I. Mikhaylenko² ORCID: 0000-0001-5835-9145³, K. I. Mikhaylenko³ ORCID: 0000-0001-8703-442X⁴

L. G. Naumova⁴ ORCID: 0000-0001-7776-0786⁵, V. P. Putenikhin⁵ ORCID: 0000-0002-9809-4468⁶

¹Ufa Institute of Biology, Subdivision of the Ufa Federal Research Centre
of the Russian Academy of Sciences,
69, Prospect Oktyabrya, Ufa, Russia, 450054,

²Ufa State Petroleum Technological University,
building 1, 1, Kosmonavtov St., Ufa, Russia, 1450062,

³Institute of Mechanics, Subdivision of the Ufa Federal Research Center
of the Russian Academy of Sciences,
71, Prospect Oktyabrya, Ufa, Russia, 450054,

⁴Bashkir State Pedagogical University n. a. M. Akmulla,
3a, Oktyabrskoy revolyucii St., Ufa, Russia, 450008,

⁵Bashkir State University,
32, Zaki Validi St., Ufa, Russia, 450076,
e-mail: fedorov@anrb.ru 32, trioksan@mail.ru, const@uimech.org,
leniza.gumerovna@yandex.ru, vpp99@mail.ru

The method of modeling of long-term changes of the area size of different-age forests and felled areas up to 10 years has been developed. It was developed on the example of pine-birch forests of the *Bupleuro longifoliae* – *Pinetum sylvestris* association in the central part of the mountain-forest zone of the Republic of Bashkortostan. A system of differential equations is used for the building of model. Data of the areas of different-age pine, larch, birch and aspen forests, the cutting area at the time of forest management, the current annual allowable cut, as well as recommendations for reforestation on felled areas with different initial composition of the timber stand were used as the predictors for modeling. The consequences of the possible use of other recommended calculations of annual allowable cut in the forest practice (the first and second age-, integral annual allowable cut) were also analyzed in the modeling. The model based on differential equations allows to make long-term forecasts of the dynamics of stocks of medicinal species, the main harvesting point for raw materials are felled areas. Long-term forecast of change of the stock of *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop. on felled areas is given as an example. This species is used in phytotherapy and the production of the tonic Ivan-tea, which is in great demand. As basic dates, the previously calculated average leaf productivity of *C. angustifolium* on different-aged felled areas was used. It has been established, the stock of leaves of this species will increase due to the increase in the cutting area that if the current annual allowable cut will be fully implemented. After 40–50 years the stock of leaves of this species will stabilize at a level significantly higher than current level.

Keywords: medicinal plants, differential equations, forecasting of the resource reserves, felled areas, Southern Urals.

На территории Республики Башкортостан (РБ) собирается и реализуется более 300 видов лекарственных растений [1], большая часть из которых заготавливается в горно-лесной зоне. На залесённых территориях наибольшее влияние на ресурсную базу лекарственных растений оказывает лесохозяйственная деятельность, которая ведёт к изменению соотношения площадей лесов и вырубок. На примере анализа вырубок на месте сосново-берёзовых лесов ассоциации *Bupleuro longifoliae* – *Pinetum sylvestris* было показано, что разнообразие и продуктивность лекарственных трав существенно различаются под пологом леса, на вырубках до пяти лет и на зарастающих вырубках возрастом от пяти до десяти лет [2]. Большинство этих видов в исходных лесах не имеют достаточной для заготовок продуктивности, но на вырубках происходит разрастание некоторых из них (*Aconitum septentrionale* Koelle, *Bupleurum longifolium* L., *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop., *Origanum vulgare* L., *Valeriana wolgensis* Kazak., *Primula macrocalix* Bunge и др.). При этом на вырубках нет необходимости нормировать их заготовки, так как разросшиеся в начале восстановительной сукцессии виды в любом случае снижают своё обилие после формирования сомкнутого дре-

востоя. Поэтому для прогнозирования ресурсной базы лекарственных видов растений на залесённых территориях есть необходимость долгосрочного моделирования изменения площадей вырубок. Прогнозирование изменения пространственной структуры лесного покрова затруднительно в силу нескольких причин. Лесопокрываемые территории представляют собой «лоскутное одеяло» из разновозрастных участков леса, на которых в разное время и в разной последовательности будут проводиться рубки. При этом, так как прогноз составляется для значительных по площади территорий, невозможно точно спрогнозировать, где и когда будут проводиться рубки. Во-вторых, лесосека, рассчитываемая для каждой лесобразующей породы, может не реализовываться в полном объёме. Тем не менее, в материалах лесоустройства содержится достаточное количество характеристик древостоя и планы по лесопользованию и лесовосстановлению, которые могут быть использованы в качестве предикторов модели для прогноза изменения ресурсной базы лекарственных растений.

Цель работы – разработка модели долгосрочной динамики запасов сырья лекарственных видов растений в условиях различных режимов лесопользования с использованием

системы дифференциальных уравнений на примере центральной части горно-лесной зоны РБ.

Объекты и методы

Объект исследования – сосново-берёзовые леса ассоциации *Bupleuro longifoliae – Pinetum sylvestris* на территории Авзянского лесхоза, расположенного в центральной части горно-лесной зоны РБ и занимающего площадь 271399 га. Леса этой ассоциации занимают более 70% лесопокрытой территории лесхоза [2]. В конце XX века они подвергались интенсивной рубке. Доминантами древесного яруса в этих лесах могут выступать *Pinus sylvestris* L., *Betula pendula* Roth, *Populus tremula* L. и реже *Larix sibirica* Ledeb. На вырубках этих лесов возрастом до десяти лет формируются растительные сообщества ассоциации *Chamaenerio angustifolii – Deschampsietum cespitosae*. При расчёте запасов лекарственных видов использовались данные об их продуктивности на вырубках до пяти и от пяти до десяти лет, рассчитанные ранее [2, 3].

При построении модели использованы данные о площади разновозрастных лесов с доминированием сосны, лиственницы, берёзы и осины, площади вырубок на момент проведения лесоустройства, действующая лесосека, рекомендуемые возраста рубок основных древесных пород, а также рекомендации по лесовосстановлению и площади рекомендуемого проведения лесовосстановительных мероприятий на вырубках лесов с разным исходным составом древостоя. Кроме того, при моделировании рассматривались варианты использования других рекомендуемых в лесохозяйственной практике лесосек [4].

Современный подход к изучению сообществ предполагает интеграцию и совместную обработку больших массивов наблюдений [5], что особенно актуально при анализе структуры лесных сообществ. Для построения модели долгосрочной динамики запасов сырья лекарственных видов растений в условиях различных режимов лесопользования использовалась система дифференциальных уравнений. Дифференциальные уравнения широко используются при моделировании в экологических исследованиях [6]. Применительно к исследованию лесных сообществ дифференциальные уравнения были использованы для моделирования динамики численности взрослых деревьев [7–9], для оценки роста и продуктивности древостоя [10], оценки

устойчивости заготовок постоянного объёма древесины леса в зависимости от начального распределения по возрасту древостоя [11], прогнозирования влияния изменения климата на оптимальный режим проведения рубок леса [12] и др.

Для численного решения дифференциальных уравнений использован программный модуль, написанный на языке Python. Высокоуровневый язык программирования Python активно используется в научных исследованиях, что определяется значительной и быстро расширяющейся базой специализированных библиотек, охватывающих различные аспекты моделирования, анализа и визуализации данных [13]. В программном модуле численное решение реализуется по методу Рунге-Кутты [14, 15]. Этот метод широко используется в биологических исследованиях [16]. Написанные на языке Python с использованием расширения SciPy программы для расчёта по математическим моделям биологических процессов имеют малое время разработки/отладки и зачастую нетребовательны к вычислительным ресурсам [17].

Результаты и обсуждение

В ходе проведения лесохозяйственной деятельности происходит ежегодная рубка перестойных лесов и переход части лесов из одной возрастной группы в другую, что может быть описано системой дифференциальных уравнений, характеризующих изменения площадей, занимаемых лесами и вырубками. При создании алгоритма долгосрочного прогнозирования было использовано разделение древостоя на четыре возрастные группы (молодняки I–II классов возраста; средневозрастные III класса возраста; приспевающие IV класса возраста; спелые и перестойные V класса возраста и выше), а вырубок на две группы (молодые до пяти лет и зарастающие – от пяти до десяти лет). Класс возраста для хвойных и твёрдолиственных пород семенного происхождения (дуб, клен, вяз и др.) составляет 20 лет, а для твёрдолиственных и мягколиственных пород порослевого происхождения (осина, липа, берёза, ольха и др.) – 10 лет [18]. Изменение площадей для каждого возрастного периода доминирующей породы можно описать системой уравнений вида:

$$\frac{dS_0}{dt} = S_0 - \xi_0 S_0 + \alpha\beta P S_N,$$

$$\frac{dS_i}{dt} = S_i - \xi_i S_i + \xi_{i-1} S_{i-1}, \quad i \in [2, N - 1],$$

$$\frac{dS_N}{dt} = S_N - PS_N + \xi_{N-1} S_{N-1},$$

где S_0 – площадь вырубок до пяти лет; S_N – площадь спелых и перестойных деревьев; S_i – площади леса всех остальных, промежуточных, возрастных периодов (S_1 – вырубки от 6 до 10 лет, S_2 – молодняки, S_3 – средневозрастные леса, S_4 – припевающие леса); элементы вектора ξ определены как $\xi_i = 1/y_i$, y_i – размер i -го временного периода в годах, $i \in [2, N-1]$; P – процент ежегодных рубок от площади спелых и перестойных лесов данной лесной породы согласно лесохозяйственному регламенту.

Коэффициент α характеризует долю площади вырубок, на которой происходит возобновление леса с преобладанием этой же породы путём самозарастания или создания монодоминантных культур. При коэффициенте α , равном единице, вся площадь вырубок возобновляется той же породой. Если коэффициент α составляет меньше единицы – часть площади вырубок возобновляется лесами иных пород, при коэффициенте α больше единицы происходит расширение площадей, занятых этой породой, за счёт посадок на местах вырубок лесов с другим древесным доминантом. Коэффициент β отражает долю выполнения лесосеки. Лесосека, которая рассчитывается для каждой породы, может не реализовываться в полном объёме. Часто рубят представляющие коммерческую ценность хвойные породы, а лесосека для менее ценных пород (осина, берёза), как правило, не реализуется даже на половину, что приводит к накоплению перестойных березняков и осинников. В РБ ситуация на данный момент изменилась в связи со строительством деревообрабатывающего завода «Кроношпан», поэтому можно ожидать, что в последующие годы лесосека по всем породам будет реализовываться в полном объёме.

Коэффициент α может быть рассчитан на основе планов создания лесных культур. В Авзянском лесхозе при рубке сосны на всех участках происходит самозарастание сосной или проводятся мероприятия по лесовосстановлению этой же породы. На вырубках берёзы происходит самозарастание берёзой, за исключением небольших площадей (0,15% от площади всех березняков), которые планируется засаживать сосной, елью и лиственницей. Осинные леса лесхоза гораздо чаще подлежат замене на более ценные породы. Всего подлежат замене 12,52% от об-

щей площади осинников. При этом вырубки осинового леса восстанавливают сосной, елью, лиственницей, дубом и берёзой. Кроме того, в лесхозе имеются незначительные площади перестойных липняков, 23,14% которых подлежат замене на другие древесные породы, в том числе на сосну, лиственницу и берёзу. Также сосной планируется заменить 33,53% вырубок ельников, которые также занимают небольшие площади в лесхозе. В подавляющем большинстве случаев на месте посадок сосны формируются леса, флористически сходные с лесами ассоциации *Bupleuro longifoliae* – *Pinetum sylvestris*. Таким образом, коэффициент α для сосны может быть рассчитан по формуле:

$$\alpha_{C1} = \alpha_{C0} + \alpha_B + \alpha_{Oc} + \alpha_{Лп} + \alpha_E,$$

где α_{C1} – коэффициент перехода древесных пород; α_{C0} – коэффициент, равный единице, когда 100% площадей вырубок сосняков в дальнейшем возобновляются сосной; α_B – доля площадей, засаживаемых сосной на вырубках леса с доминированием берёзы; α_{Oc} – доля площадей, засаживаемых сосной на вырубках леса с доминированием осины; $\alpha_{Лп}$ – доля площадей, засаживаемых сосной на вырубках леса с доминированием липы; α_E – доля площадей, засаживаемых сосной на вырубках леса с доминированием ели.

Аналогично находятся коэффициенты α для осины, берёзы и лиственницы. Коэффициент α для осинников будет уменьшаться на доли площадей, которые планируется засадить другими породами (сосной, елью, лиственницей, дубом и берёзой). Коэффициент α для березняков будет уменьшаться на доли площадей, которые планируется засадить сосной, елью и лиственницей и увеличиваться за счёт посадок берёзы на вырубках осины и липы. Коэффициент α для лиственничников будет увеличиваться за счёт посадок лиственницы на вырубках осины, берёзы и липы. В нашем случае коэффициент α для сосняков, рассчитанный по этой формуле, равен 1,095, для осинников – 0,875, для березняков – 1,047, для лиственничников – 1,012. Таким образом, при соблюдении лесохозяйственного регламента площади сосняков и березняков лесхоза должны ежегодно увеличиваться за счёт посадок сосны и берёзы на площадях, ранее занятых другими породами, площади осинников будут уменьшаться, а площади лиственничников практически не изменятся. С учётом того, что площади вырубок липняков и ельников,

которые планируется засаживать сосной, незначительны, площади всех лесов ассоциации *Bupleuro longifoliae* – *Pinetum sylvestris* при соблюдении лесохозяйственного регламента будут увеличиваться незначительно (менее 1,5% за сто лет), но изменится соотношение лесов с доминированием сосны, берёзы и осины. Площади сообществ ассоциации с доминированием в древесном ярусе сосны увеличатся за этот период на 9%, в основном за счёт сокращения площадей осинников.

При долгосрочном моделировании необходимо учитывать, что в ходе лесохозяйственной деятельности могут изменяться расчётные лесосеки для древесных пород на территории проведения исследований. Согласно методике [4] рекомендованы три основных алгоритма расчёта лесосеки: первая возрастная, вторая возрастная и третья интегральная расчётные лесосеки.

На рисунке 1 (см. цв. вкладку) приведены результаты моделирования с использованием системы дифференциальных уравнений динамики площадей вырубок возрастом до 10 лет при использовании различных лесосек в сосново-берёзовых лесах центральной части горно-лесной зоны Южного Урала в течение 100 лет. В модели предусмотрены два варианта использования каждой из расчётных лесосек: при однократном расчёте лесосеки и при пересчёте лесосеки каждые 15 лет (рекомендованный срок проведения повторного лесоустройства). При построении модели предполагалось, что коэффициент β будет равен единице, т. е. лесосека будет выполняться в полном объёме.

Из рисунка 1 видно, что при соблюдении расчётных лесосек на начальных этапах (через 10–15 лет) площадь вырубок возрастает, а затем снижается и стабилизируется на более высоком уровне, чем в начальный период. При повторных пересчётах расчётных лесосек каждые 15 лет площади вырубок возрастают.

Модель позволяет делать долгосрочные прогнозы динамики запасов видов, основным местом сбора сырья которых являются вырубки. В качестве примера можно привести расчёт биологического запаса листьев *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop. на вырубках лесов ассоциации *Bupleuro longifoliae* – *Pinetum sylvestris* в Авзянском лесхозе (рис. 2, см. цв. вкладку).

В качестве исходных данных использовали рассчитанную ранее среднюю продуктивность листьев *C. angustifolium* на вырубках,

действующая в настоящее время лесосека и площадь вырубок на момент проведения последнего лесоустройства (2013 г.). На вырубках до пяти лет продуктивность этого вида составляет в среднем 0,98 ц/га, а на вырубках от пяти до десяти лет – 1,27 ц/га в сухом весе [2]. Из рисунка 2 видно, что запас листьев *C. angustifolium*, используемых в фитотерапии, а также в производстве пользующегося большим спросом тонизирующего напитка «Иван-чай», при соблюдении действующей лесосеки в полном объёме будет увеличиваться и через 40–50 лет стабилизируется на уровне, значительно превышающем современный. В дальнейшем, эта модель будет использоваться для прогнозирования запасов лекарственных видов на всех типах вырубок горно-лесной зоны РБ.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России № 075-00326-19-00 по теме № АААА-А18-118022190060-6 и при финансовой поддержке Программы Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем. Биологические ресурсы России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга» (проект Биоразнообразие и биоресурсы Южного Урала: мониторинг состояния, возможности использования и сохранения).

References

1. Zhigunova S.N. Analysis of officinal flora of Bashkortostan Republic // Samarskaya Luka: problemy regionalnoy i globalnoy ekologii. 2018. V. 27. No. 4 (1). P. 109–117 (in Russian). doi: 10.24411/2073-1035-2018-10098
2. Zhigunova S.N., Fedorov N.I., Mikhaylenko O.I., Akhmetova M.R. Productivity of medicinal plants on felled area of pine and birch forests in the central part of the South Urals // Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN. 2013. V. 15. No. 3 (1). P. 361–365 (in Russian).
3. Fedorov N.I., Zhigunova S.N., Mikhaylenko O.I. Methodological foundations of optimization resource use of officinal flora in the South Urals. Moskva: Nauka, 2013. 212 p. (in Russian).
4. Order of the Federal Forestry Agency of May 27, 2011 No. 191 “On approval of the procedure for calculating the estimated cutting area” [Internet resource] <https://rg.ru/2011/07/07/lesoseka-site-dok.html> (Accessed: 23.11.2018).
5. Shitikov V.K., Zinchenko T.D. Multivariate statistical analysis of ecological communities (review) // Theoretical and Applied Ecology. 2019. No. 1. P. 5–11 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-1-005-011
6. Chernova T.V., Poleshchuk O.M., Rubinshtein A.I., Serebrennikov P.S., Shipov N.V. The use of differential

**Н. И. ФЕДОРОВ, С. Н. ЖИГУНОВА, О. И. МИХАЙЛЕНКО,
К. И. МИХАЙЛЕНКО, Л. Г. НАУМОВА, В. П. ПУТЕНИХИН**
**«ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМЫ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫХ УРАВНЕНИЙ
ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ДОЛГОСРОЧНОЙ ДИНАМИКИ ЗАПАСОВ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В ЛЕСНЫХ ФИТОЦЕНОЗАХ», С. 55**

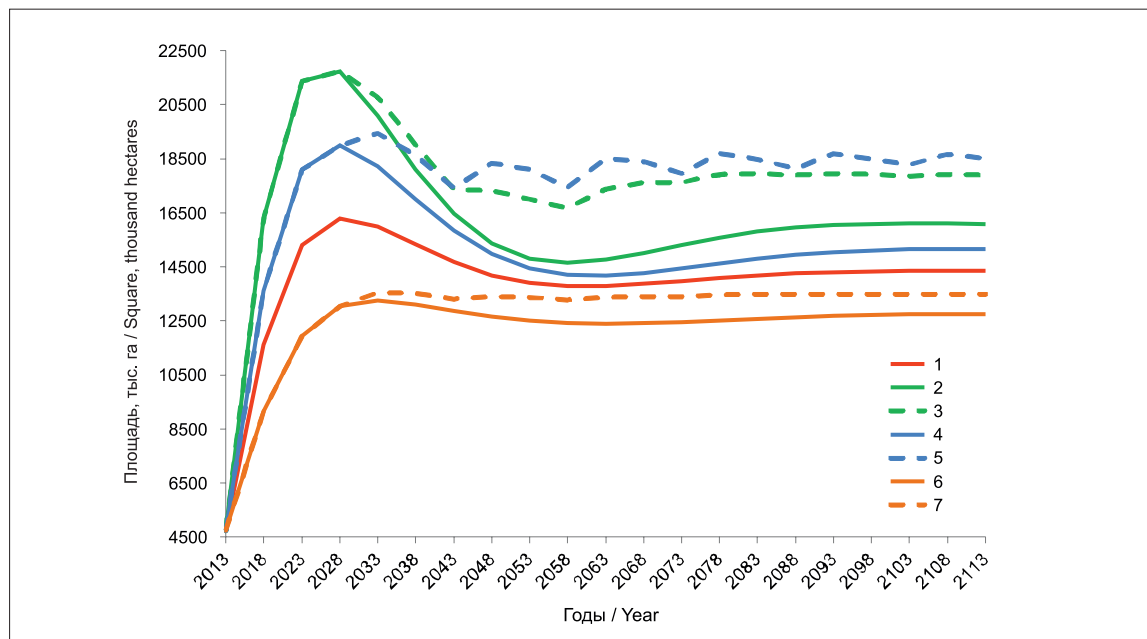


Рис. 1. Динамика площадей вырубок при разных лесосеках:

1 – при действующей лесосеке, 2 – при первой возрастной лесосеке,
3 – при первой возрастной лесосеке с 15-летним пересчётом, 4 – при второй возрастной лесосеке,
5 – при второй возрастной лесосеке с 15-летним пересчётом, 6 – при интегральной лесосеке,
7 – при интегральной лесосеке с 15-летним пересчётом

Fig. 1. Dynamics of felled areas size under different annual allowable cuts:

1 – with the current annual allowable cut, 2 – with the first age-annual allowable cut,
3 – with the first age-annual allowable cut with 15-year recount, 4 – with the second age-annual
allowable cut, 5 – with the second age-annual allowable cut with 15-year recount, 6 – with the integral
annual allowable cut, 7 – with an integral annual allowable cut with 15-year recount

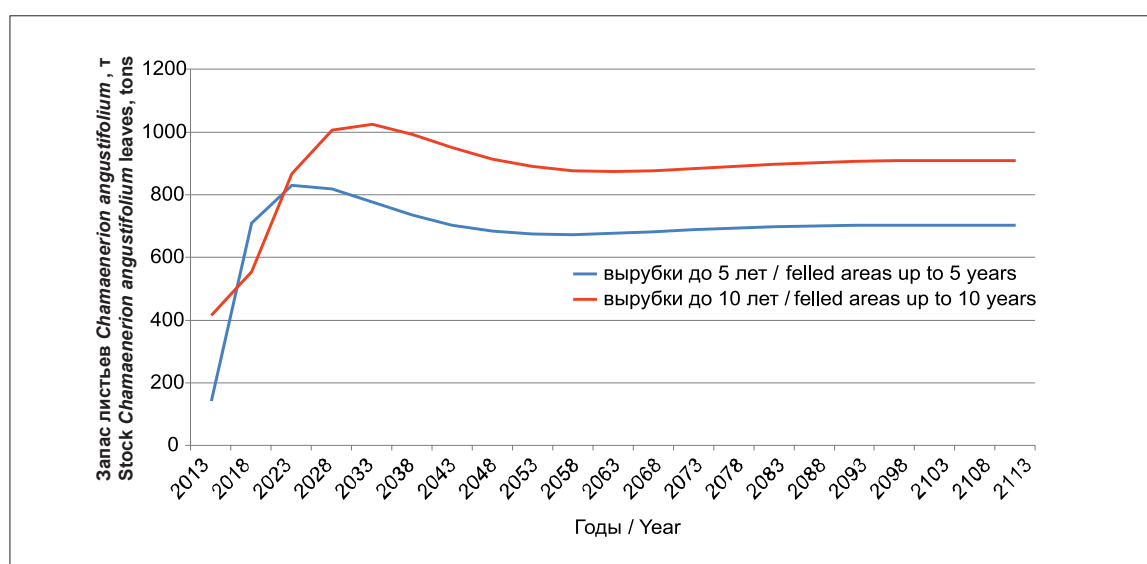


Рис. 2. Динамика биологического запаса листьев *Chamaenerion angustifolium*
на вырубках сосново-берёзовых лесов ассоциации

Bupleuro longifolii – *Pinetum sylvestris* в зависимости от изменения их площадей

Fig. 2. Dynamics of stock of *Chamaenerion angustifolium* leaves on felled areas of pine-birch forests
of the association *Bupleuro longifolii* – *Pinetum sylvestris* depending on the change in their areas

equations in ecology // *Chelovek. Obshchestvo. Inklyuziya*. 2016. No. 4 (28). P. 139–144 (in Russian).

7. Magal P., Zhang Z. A system of state-dependent delay differential equation modeling forest growth I: semi-flow properties // *Journal of Evolution Equations*. 2018. V. 18. No. 4. P. 1853–1888. doi: 10.1007/s00028-018-0464-0

8. Magal P., Zhang Z. A system of state-dependent delay differential equation modelling forest growth II: Boundedness of solutions // *Nonlinear Analysis: Real World Applications*. 2018. V. 42. P. 334–352. doi: 10.1016/j.nonrwa.2018.01.002

9. Rupšys P. Modeling dynamics of structural components of forest stands based on trivariate stochastic differential equation // *Forests*. 2019. V. 10. No. 6. P. 506. doi: 10.3390/f10060506

10. Mendonça A.R., Calegario N., Silva G.F., Carvalho S.P.C. Growth and yield models for eucalyptus stands obtained by differential equations // *Scientia Agricola*. 2017. V. 74. No. 5. [Internet resource] http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162017000500364 (Accessed: 15.11.2018). doi: 10.1590/1678-992x-2016-0035

11. Garcia O. Functional differential equations in sustainable forest harvesting // *Journal of Forest Planning*. 2001. No. 6. P. 49–63. doi: 10.20659/jfp.6.2_49

12. Hritonenko N., Yatsenko Yu., Goetz R.-U., Xabadia A. Optimal harvesting in forestry: steady-state analysis and climate change impact // *Journal of*

Biological Dynamics. 2013. V. 7. No. 1. P. 41–58. doi: 10.1080/17513758.2012.733425

13. Chudoba R., Sadílek V., Ryppl R., Vořechovský M. Using Python for scientific computing: Efficient and flexible evaluation of the statistical characteristics of functions with multivariate random inputs // *Computer Physics Communications*. 2013. V. 184. No. 2. P. 414–427. doi: 10.1016/j.cpc.2012.08.021

14. Vladimirov I.N., Popova A.K. Modeling the spatial and temporal dynamics of forest resources using intelligent GIS // *Geografiya i prirodnyye resursy*. 2009. No. 1. P. 26–31 (in Russian).

15. Taranenko Yu. Numerical solution of mathematical models of objects given by systems of differential equations [Internet resource] <https://habr.com/post/418139> (Accessed: 15.11.2018).

16. Huang L. Simulation and evaluation of different statistical functions for describing lag time distributions of a bacterial growth curve // *Microbial Risk Analysis*. 2016. V. 1. P. 47–55. doi: 10.1016/j.mran.2015.08.002.

17. Coelho A.L.F., Queiroz D.M., Valente D.S.M., Pinto F.A.C. An open-source spatial analysis system for embedded systems // *Computers and Electronics in Agriculture*. 2018. V. 154. P. 289–295. doi: 10.1016/j.compag.2018.09.019

18. Anuchin N.P. Forest taxation. Moskva: Lesnaya promyshlennost, 1982. 552 p. (in Russian).

**Сукцессия фототрофных организмов пойменного луга
на техногенной территории**

© 2019. Л. В. Кондакова^{1,2}, д. б. н., профессор, с. н. с.,
Е. В. Дабах^{1,2}, к. б. н., доцент, с. н. с.,

А. П. Кислицына^{3,4}, к. с.-х. н., доцент, с. н. с.,

¹Вятский государственный университет,

610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,

²Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,

167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,

³Вятская государственная сельскохозяйственная академия,

610017, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 133,

⁴Федеральный аграрный научный центр

Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого,

610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, д. 166а,

e-mail: ecolab2@gmail.com

В статье представлены сведения о сукцессии высших растений и водорослей в пойменных луговых фитоценозах в районе хвостохранилищ химических предприятий г. Кирово-Чепецка (Кировская область) после внесения в почву нитрата аммония при поливе луга богатыми азотом водами из ближайших озёр. Почва луга – аллювиальная дерновая. Однократное воздействие умеренных доз азота и прекращение хозяйственного использования луга повлекло за собой постепенную смену разнотравно-злаковой растительности на пойменных гнивах на крупноразнотравно-злаковую. Воздействие высоких доз азота привело к гибели луговых трав. Восстановление растительного сообщества началось только спустя 2–3 года с отрастания корневищных кислотоустойчивых злаков, сукцессия имела необратимый характер.

На участках мониторинга было отмечено невысокое видовое разнообразие микрофототрофов, по числу видов преобладали зелёные водоросли. Полноценная группировка фототрофов, состоящая из представителей цианобактерий (ЦБ), зелёных, охрофитовых и диатомовых водорослей, была выявлена только на контрольном участке. На участках с поливом водой, содержащей азот, не были отмечены ЦБ, практически отсутствовали жёлтозелёные водоросли.

Ключевые слова: техногенная территория, загрязнение азотом, фототрофы, сукцессии, водоросли, цианобактерии.

**Floodplain meadow phototrophic organisms' succession
on the technogenic territory**

© 2019. L. V. Kondakova^{1,2} ORCID: 0000-0002-2190-686X²

E. V. Dabakh^{1,2} ORCID: 0000-0002-6088-4819², A. P. Kislitsina^{3,4} ORCID: 0000-0001-7474-7359³

¹Vyatka State University,

36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,

²Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS,

28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,

³Vyatka State Agricultural Academy,

133, Oktyabrskiy Prospekt, Kirov, Russia, 610017,

⁴Federal Agricultural Research Centre of North-East named after N. V. Rudnitskiy,

166 a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,

e-mail: ecolab2@gmail.com

The paper deals with higher plants and algae successions in floodplain meadow phytocenoses of the Vyatka River in the vicinity of tailing storage facilities of the chemical plants in Kirovo-Chepetsk. The soil is alluvial sod, it is characterized with medium- and slightly acid reaction of the medium, high hydrolytic acidity, a comparatively high amount of organic matter, little stores of dynamic compounds of nitrogen, phosphorus, and potassium. Introduction of undeterminably large doses of ammonia-nitrate during the experiment lead to soil saturating with ammonia ion and acidification

of the medium. One-time effect of moderate doses of nitrogen and termination of the practical use of the meadow caused the fact that in floodplain ridges motley grass vegetation has got gradually changed into tall-herb-grasses vegetation.

Rehabilitation of the vegetation community started only 2–3 years later the effect of large doses of nitrogen caused meadow grasses failure. It began with regrowth of rootstock acid-tolerant grasses. In this case the succession was irreversible, and even 7 years after the effect of large doses of nitrogen the original state of the succession did not take place.

The monitored sites are characterized with low species diversity of microphototrophs, the species of green algae prevailed in number. Full group of phototrophs consisting of cyanobacteria, green algae, Xanthophyta, and diatomic algae was found only in the control site. In the sites irrigated with nitrogen-containing water there were neither cyanobacteria, nor Xanthophyta.

Introduction of large doses of nitrogen in the floodplain meadow soil and termination of its practical use lead to damaging the succession of higher and lower organisms. Higher vegetation started regenerating 2–3 years after the stress as a result of anthropogenic impact, full group of algaeflora did not regenerate.

Keywords: technogenic territory, contamination with nitrogen, phototrophs, succession, algae, cyanobacteria.

Фототрофные организмы – высшие растения, водоросли и цианобактерии (ЦБ) – являются основой функционирования любой экосистемы и биосферы в целом. [1]. В природных условиях ход сукцессий возобновляется ежегодно, любой из этапов может быть сжат, растянут или ликвидирован совсем при действии техногенных факторов. Интенсивность техногенного воздействия на фототрофные организмы зависит от состава и свойств почв, поскольку почвы обладают буферной способностью. Наиболее распространёнными почвами в пойме р. Вятки являются аллювиальные дерновые, характерные для поймы среднего и высокого уровня. Они отличаются средне- и слабокислой реакцией среды, высокой гидролитической кислотностью, сравнительно высоким содержанием органического вещества, недостаточными запасами подвижных соединений азота, фосфора, а иногда и калия [2].

Многолетние исследования растительности пойменных лугов [3] показали, что в ненарушенных и слабонарушенных (за счёт внесения невысоких доз минеральных удобрений и сенокосения) пойменных сообществах естественные сукцессии характеризуются слабо выраженными количественными и качественными изменениями флористического состава, видового состава семейств. При этом сохраняются их структурно-функциональные свойства – полидоминантность, сменодоминантность. В ходе антропогенных сукцессий, осуществляющихся более быстрыми темпами по сравнению с природными, в пойменных ценозах существенно уменьшается фитоценотическая роль большинства видов [3, 4].

Высшие растения, являясь эдификаторами фитоценоза, влияют на почвенные водоросли и ЦБ. В пойме р. Вятки в почве разнотравно-злакового луга заповедника «Нургуш» выявлена группировка почвенных микрофототрофов из 70 видов [5], а в зоне влияния предприятий г. Кирово-Чепецка на

фоновом участке пойменной гривы количество видов почвенных водорослей не превышало 28, в межгривном понижении – 58 видов [6]. Для пойменных почв характерно интенсивное развитие азотфиксирующих и безгетероцистных ЦБ [7]. Имеются данные о том, что в результате действия нарастающих концентраций азота при длительном применении удобрений на одной и той же пахотной почве развиваются сообщества с различными структурными характеристиками. С увеличением концентрации в почве форм доступного азота уменьшается конкурентоспособность ЦБ, для которых при нормальном ходе сезонной сукцессии в конце лета и осенью характерно доминирование в сообществе микрофототрофов [8].

Таким образом, в условиях техногенного воздействия, приводящего к изменению состава и свойств почв, нарушается ход сукцессий высших растений, водорослей и ЦБ.

Цель настоящей работы – изучить закономерности изменения почв, растительности и микрофлоры на участках мониторинга, расположенных на пойменном лугу в окрестностях крупного промышленного центра и подверженных воздействию как природно-климатических, так и техногенных факторов (внесение азота, сенокосение).

Объекты и методы исследования

Исследуемая территория пойменного луга расположена на северо-востоке Европейской части России в подзоне дерново-подзолистых почв южной тайги. Климат континентальный умеренный, среднегодовая температура составляет +2,4 °С. Территория относится к зоне достаточного увлажнения: среднегодовое количество осадков – 580 мм, 60–70% выпадает в тёплое время года. Специфическим природным фактором, определяющим состояние биоты на лугу, является пойменный водный режим, характеризующийся ежегодным ве-

сенним половодьем, пик которого на р. Вятке приходится на конец апреля – первую декаду мая. Участки мониторинга закладывались на повышениях (гривах) пойменного луга на аллювиальных дерновых почвах.

Рассматриваемая территория находится в окрестностях хвостохранилищ химических предприятий г. Кирово-Чепецка, влияние их на природный комплекс проявилось в высоком содержании нитрата аммония в подземных водах и в мелких пойменных озёрах, в которые разгружаются подземные воды. В 2011–2014 гг. осуществлялись экспериментальные работы по поливу пойменного луга богатой азотом водой из пойменного озера. Поскольку почвы луга характеризовались низким содержанием азота, то основная идея эксперимента заключалась в обогащении почв за счёт подачи богатой азотом воды из озера по аналогии с внесением жидких азотных удобрений и в последующем отчуждении растительности. Рекомендуемая экспериментально разработанная доза полива составляла 400 кг азота на га [9]. Вследствие высокой естественной неоднородности почв в пойме, а также нарушения регламента полива, различия в содержании азота в почвах после полива оказались значительными. В период проведения и после завершения эксперимента осуществлялся мониторинг почв и растительности.

Участки мониторинга различались по степени воздействия на почвы и растения высоких доз азота.

Ежегодно на участках мониторинга описывали растительность и отбирали смешанные образцы почв методом конверта. Показатели свойств почв определяли общепринятыми

методами: кислотность в водной и солевой вытяжках – потенциметрически [10], нитратный азот – фотометрически [11], аммонийный азот – фотометрически с реактивом Несслера [12].

Почвенные пробы для альгологического анализа отбирали с глубины 0–5 см в соответствии с требованиями к отбору проб для микробиологических анализов [13]. Изучение видового разнообразия водорослей и ЦБ проводили методом чашечных культур со стёклами обрастания и микроскопированием свежезятой почвы.

Результаты и обсуждение

Состояние почв и растительности было обследовано в 2009 г. до начала работ по поливу пойменного луга. В это время растительность на лугу была представлена разнотравно-злаковыми ассоциациями, травы ежегодно скашивались. Характерный для поймы рельеф с выраженными вытянутыми возвышенностями (гривами) и понижениями между ними обеспечивал перераспределение влаги атмосферных осадков, близкое залегание грунтовых вод способствовало избыточному увлажнению и даже обводнению понижений, периодическое затопление луга во время паводка влияло на начало вегетации растений и на запасы воды в почве.

До начала эксперимента показатели свойств аллювиальных дерновых почв на лугу соответствовали верхней границе диапазона варьирования значений показателей для аллювиальных дерновых почв среднего течения р. Вятки [2]. Почвы характеризова-

Таблица 1 / Table 1

Свойства аллювиальных дерновых почв на лугу в пойме р. Вятки
Characteristic features of meadow sod soils in the floodplain of the Vyatka river

| Источник данных Data source | Орг. вещество, % Organic matter, % | pH _{H2O} | pH _{KCl} | Нг смоль/кг cmol/kg | P ₂ O ₅ | K ₂ O | N-NO ₃ | NH ₄ ⁺ |
|--|---------------------------------------|-------------------|-------------------|---------------------------|-------------------------------|------------------|-------------------|------------------------------|
| | | | | | | | | |
| Контроль до начала эксперимента Control before the experiment | 4,6±0,7 | 6,1±0,1 | 5,2±0,1 | 4,6±0,5 | 43±9 | 76±15 | 4,9±1,3 | 23,5±2,3 |
| Диапазон значений по [2] Range of the values according to [2] | 2–4,2 | – | 3,8–5,3 | 3,2–8,3 | 16–74 | – | – | – |

Примечание: «–» – обозначает отсутствие данных.
Note: “–” – indicates the absence of data.

лись слабокислой реакцией среды, высокой гидролитической кислотностью (Нг), сравнительно высоким содержанием органического вещества, небольшими запасами подвижных соединений азота, фосфора, калия (табл. 1).

Растительность на пойменных гривах была представлена разнотравно-злаковыми ассоциациями, характерными для высокой поймы (участки 21, 14). На склонах грив (участок 27) преобладали растения, типичные для луга средней поймы.

Контрольный участок луга в течение 10 лет наблюдений подвергался воздействию только природных факторов, в том числе затоплению во время половодья. Содержание нитратного и аммонийного азота в почвах этого участка варьировало в широких пределах, но различия были обусловлены в основном сезонными колебаниями температуры, влажности, биологической активности.

Растительное сообщество на контрольном участке – злаково-разнотравное, с включением бобовых растений – клевера среднего (*Trifolium medium* L.), чины луговой (*Lathyrus pratensis* L.). Доминанты травостоя – лисохвост луговой (*Alopecurus pratensis* L.), пырей ползучий (*Elytrigia repens* (L.) Nevski), мятлик луговой (*Poa pratensis* L.), вероника длиннолистная (*Veronica longifolia* L.). Прекращение скашивания луга способствовало появлению корневищного высокорослого разнотравья – девясил иволистный (*Inula salicina* L.), таволга вязолистная (*Filipendula ulmaria* Moench.), таволга обыкновенная (*Filipendula vulgare* L.) и постепенной смене растительности. Анализ хозяйственных групп показал, что в травостое в 2018 г. преобладало разнотравье – 20 видов, проективное по-

крытие составляло 49%. Злаки были представлены 9 видами, основные из которых – лисохвост луговой (*Alopecurus pratensis* L.), ежа сборная (*Dactylis glomerata* L.), проективное покрытие – 43%. Растения семейства Бобовых: клевер средний (*Trifolium medium* L.), горошек мышиный (*Vicia cracca* L.), чина луговая (*Lathyrus pratensis* L.) сохранились в травостое, их проективное покрытие достигало 3%. Видовое разнообразие фитоценоза с годами снижалось: из 38 видов, обнаруженных в 2016 г., к 2018 г. осталось только 32.

Во все годы наблюдений на контрольном участке отмечалось наибольшее видовое разнообразие и полноценная группировка почвенной альгофлоры. В 2017–2018 гг. было выявлено 25 видов микрофототрофов (табл. 2) – несколько меньше, чем в предыдущие годы (до 29 видов) [6]. По-прежнему, по видовому разнообразию абсолютно преобладали зелёные водоросли, причём доля их увеличилась с 34% в 2015 г. до 57% – в 2017–2018 гг. Напротив, со временем представительство ЦБ значительно снизилось: в 2015 г. было выявлено 10 видов ЦБ, в 2017–2018 гг. – только 6.

На экспериментальных участках проводился полив богатой азотом водой и скашивание трав. Из-за нарушения регламента полива на некоторые участки луга поступило значительно большее количество азота, чем было рекомендовано.

Закономерным результатом полива было резкое увеличение концентрации минеральных форм азота в почве (рис. 1).

Быстрое вовлечение азота в биологический круговорот на участке с умеренным поливом не привело к значительному накопле-

Таблица 2 / Table 2

Число и соотношение (в %) видов водорослей и ЦБ на участках пойменного луга в образцах почвы, отобранных в 2017–2018 гг.
The number of alga species in the floodplain meadow sites contained in soil samples collected in 2017–2018

| Участки Sites | Cyanobacteria | | Chlorophyta | | Ochrophyta | | Bacillariophyta | | Всего видов The total number of species | |
|---------------------|---------------|----|-------------|----|------------|----|-----------------|----|--|-----|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| Контроль Control | 6 | 24 | 13 | 57 | 4 | 16 | 2 | 8 | 25 | 100 |
| 10 | 1 | 8 | 9 | 69 | 1 | 8 | 2 | 15 | 13 | 100 |
| 14 | 0 | 0 | 11 | 92 | 0 | 0 | 1 | 8 | 12 | 100 |
| 21 | 0 | 0 | 8 | 80 | 0 | 0 | 2 | 20 | 10 | 100 |
| 27 | 0 | 0 | 11 | 85 | 0 | 0 | 2 | 15 | 13 | 100 |

Примечание: 1 – количество видов, 2 – % от общего содержания.
Note: 1 – number of species, 2 – % of total amount.

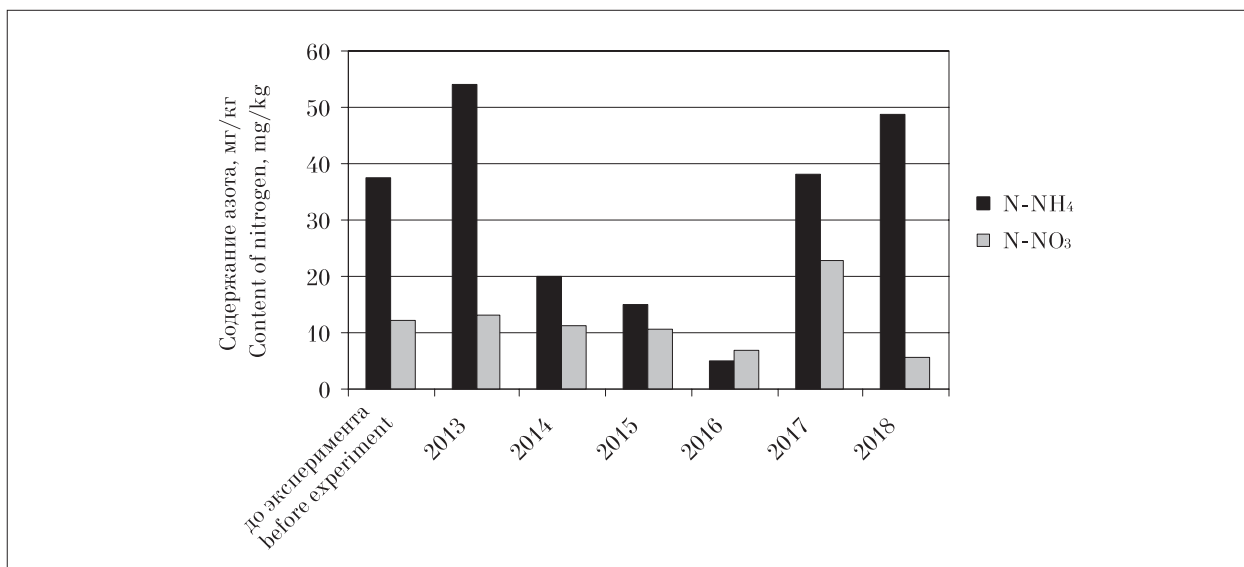


Рис. 1. Динамика содержания нитратного и аммонийного азота на участке умеренного полива, проведённого в 2012 г. (участок 10)

Fig. 1. Dynamics of content of nitrate and ammonium in the area of moderate watering in 2012 (site 10)

нию его в почве. Выявленный в 2013 г. скачок концентраций N-NH₄ лишь незначительно превышал уровень естественного колебания содержания азота в почве. При умеренном поливе изменился состав травостоя, количество видов резко уменьшилось. Был отмечен активный рост мелкозлаковых трав, особенно раннеспелых видов. Проективное покрытие злаковыми травами достигало 100%. Увеличивалась высота растений и плотность травостоя за счёт большого количества вегетативных

побегов, произошло полегание трав (рис. 2). Величина зелёной биомассы к моменту отчуждения достигала 200 ц/га.

Увеличение сомкнутости травостоев привело к отмиранию и подавлению многих неконкурентоспособных видов. Прекращение скашивания и хорошее обеспечение элементами питания за счёт отмирающей растительности, а также высокий паводок 2016 г. активизировали развитие корневищных злаков, крупностебельного корневищного и корот-



Рис. 2. Состояние луга после внесения умеренных доз азота

Fig. 2. Condition of the meadow after moderate doses of nitrogen

кокорневищного разнотравья. Растительное сообщество на этом участке уже к 2018 г. можно было охарактеризовать как крупноразнотравную ассоциацию с доминированием таволги вязолистной (*Filipendula ulmaria* Moench.), костреца безостого (*Bromopsis inermis* (Leys.) и вейника наземного (*Calamagrostis epigeios* L. Roth). Выпадение из травостоя мелких злаков и разнотравья способствовало отрастанию шиповника.

Вследствие развития мощного травостоя видовое разнообразие водорослей и ЦБ на участке с оптимальными дозами внесения азота было значительно меньше по сравнению с контролем, и в 2018 г. было представлено только 13 видами (табл. 2).

На участках с избыточным поливом (14, 21 и 27) отмечался резкий скачок концентрации минерального азота в почве (рис. 3), который сопровождался увеличением кислотности почвы. Значение pH в солевой вытяжке снизилось более чем на единицу и в смешанном образце на участке 14 составило 3,94 ед., почва стала «очень сильнокислой».

На этих участках была отмечена гибель растений, отрастание трав наблюдалось только через 2–3 года после снижения концентрации азота в почвах. Первыми появились единичные растения нитрофильных злаков, способные переносить кислую реакцию среды и высокую концентрацию солей. Вследствие

одностороннего питания растения не формировали генеративных побегов и оставались до конца вегетации в вегетативной форме.

После высокого паводка 2016 г. и отложения мощного наилка на участках 21 и 27 появился вейник наземный (*Calamagrostis epigeios* L. Roth), способный к раннему отрастанию, быстрому росту в начале вегетации и легко прорастающий через мощную подстилку. В 2018 г. видовое разнообразие злаковых трав на этих участках изменилось. Исчез луговик дернистый (*Deschampsia cespitosa* (L.) P.), белоус торчащий (*Nardus stricta* L.) и зубровка (*Hieróchloe orodata* L.). Появились единичные растения полевицы тонкой (*Agrostis tenuis* Sibth.), мятликов (*Poa pratensis* L., *P. angustifolia* L.), тимopheевки луговой (*Phleum pratense* L.). Основу фитоценозов составили овсяница луговая (*Festuca pratensis* Huds.) и вейник наземный (*Calamagrostis epigeios* L. Roth).

Видовое разнообразие альгоценоза на участках с избыточным внесением азота стало крайне бедным. Например, на участке 14 летом 2015 г. в почвенной пробе были выявлены представители ЦБ, зелёных и диатомовых водорослей (табл. 3). Летняя группировка альгофлоры в 2016 г. была представлена только зелёными водорослями. В 2017 и 2018 гг. на данном участке также были отмечены только зелёные водоросли, их видовое разнообразие снизилось. Подобная тенденция проявилась и

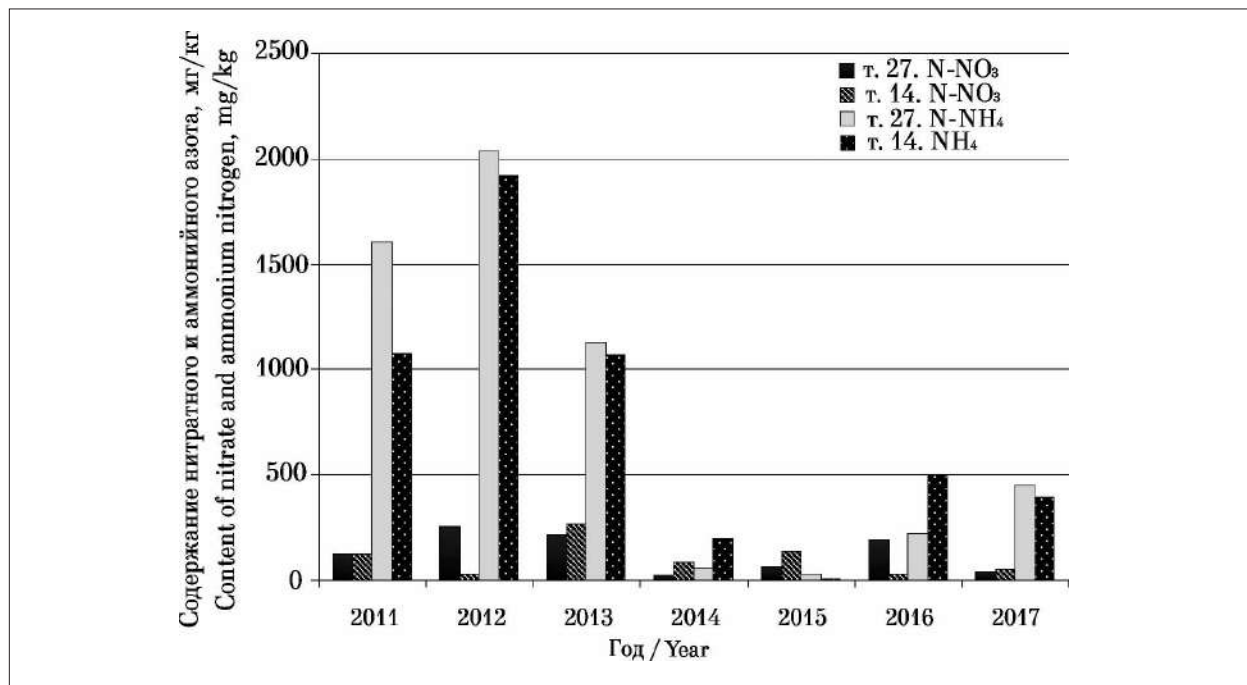


Рис. 3. Динамика содержания нитратного и аммонийного азота на участках с избыточным поливом (т. 14 и т. 27) / Fig. 3. Dynamics of content of nitrate and ammonium in the overwatered areas (sites 14 and 17)

Таблица 3 / Table 3

Видовой состав почвенных микрофототрофов на участке с избыточным поливом (участок 14)
Soil microphototrophs species composition in the overwatered sites (site 14)

| № п/п | Виды / Species | 19.06.15 | 17.08.16 | 08.08.17 | 21.08.18 |
|------------------------|---|----------|----------|----------|----------|
| Cyanobacteria | | | | | |
| 1 | <i>Phormidium boryanum</i> Kütz. | + | – | – | – |
| 2 | <i>Phormidium inundatum</i> Kütz. | + | – | – | – |
| Chlorophyta | | | | | |
| 3 | <i>Chlamydomonas gloeogama</i> Korsch. | + | + | – | + |
| 4 | <i>Chlorococcum infusionum</i> (Schrank) Meneghini | + | + | + | – |
| 5 | <i>Chlorella vulgaris</i> W. Beijerinck | + | + | + | – |
| 6 | <i>Coccomyxa confluens</i> (Kütz.) Fott | – | + | + | – |
| 7 | <i>Pseudococcomyxa simplex</i> (Mainx) Fott | – | + | – | + |
| 8 | <i>Stichococcus minor</i> Näg. | – | + | – | – |
| 8 | <i>Klebsormidium nitens</i> (Kütz.) Lokhorst | – | + | + | – |
| 9 | <i>Klebsormidium rivulare</i> (Kütz.), comb. nova | – | – | – | + |
| 10 | <i>Klebsormidium flaccidum</i> (Kütz.) Silva et al. | + | – | + | + |
| 11 | <i>Myrmecia incisa</i> | – | + | – | – |
| Bacillariophyta | | | | | |
| 12 | <i>Hantzschia amphioxys</i> (Ehrenb.) Grun. | + | – | – | – |
| 13 | <i>Navicula</i> sp. | + | – | – | – |
| 14 | <i>Nitzschia palea</i> (Kütz.) W. Sm. | + | – | – | – |
| 15 | <i>Pinnularia borealis</i> Ehr. | + | – | + | – |
| Итого: | | 10 | 8 | 6 | 4 |

на других участках с избыточным содержанием азота в почвах.

На участке 27 были выявлены представители только двух отделов. За период наблюдений фототрофная микрофлора данного участка оставалась стабильной, отсутствовали представители ЦБ и жёлтозелёных водорослей. Ещё беднее оказался видовой состав альгофлоры в почве на гребне гривы (участок 21), где были отмечены только представители зелёных водорослей (табл. 2).

Выводы

Аллювиальные дерновые почвы в пойме р. Вятки в районе хвостохранилищ химических предприятий г. Кирово-Чепецка характеризовались средне- и слабокислой реакцией среды, высокой гидролитической кислотностью, сравнительно высоким содержанием органического вещества, небольшими запасами подвижных соединений азота, фосфора и калия. Внесение в ходе эксперимента неучтённых высоких доз нитрата аммония привело к насыщению почв ионом аммония и подкислению среды. Снижение доли обменного аммония в почвенном поглощающем комплексе происходило уже через 3–4 года по-

сле прекращения полива богатой азотом водой вследствие активного вовлечения элемента в биологический круговорот, вымывания, удаления в атмосферу.

Однократное воздействие умеренных доз азота и прекращение хозяйственного использования луга привело к постепенной смене разнотравно-злаковой растительности на пойменных гривах на крупноразнотравно-злаковую. После прекращения скашивания луговых трав растительность пойменного луга оказалась под влиянием только природных факторов, отмечались ежегодные флуктуации, которые, накапливаясь, через длительный период времени приобрели характер сукцессии.

Воздействие высоких доз азота привело к гибели луговых трав. Восстановление растительного сообщества началось только спустя 2–3 года с отрастания корневищных кислотостойчивых злаков. Сукцессия на данном участке имела необратимый характер, даже спустя 7 лет после воздействия высоких доз азота возврата к исходному состоянию не наблюдалось.

На участках мониторинга было отмечено невысокое видовое разнообразие микрофототрофов, по числу видов преобладали зелёные водоросли. Полноценная группировка фото-

троф, состоящая из представителей ЦБ, зелёных, охрофитовых и диатомовых водорослей, была выявлена только на контрольном участке. На участках с поливом водой, содержащей азот, не были отмечены ЦБ, практически отсутствовали жёлтозелёные водоросли.

Таким образом, воздействие высоких доз азота на почвы пойменного луга и прекращение его хозяйственного использования привело к нарушению хода сукцессии высших и низших организмов. Причём, если через 2–3 года после стресса высшая растительность начала восстанавливаться, то видовое разнообразие альгофлоры после антропогенного воздействия продолжало снижаться.

Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии Коми НЦ УрО РАН по теме «Оценка и прогноз отсроченного техногенного воздействия на природные и трансформированные экосистемы подзоны южной тайги» № 0414-2018-0003.

Литература

1. Бигон М., Харпер Дж., Таунсенд К. Экология. Особи, популяции и сообщества. М.: Мир, 1989. Т. 1. 667 с.; Т. 2. 477 с.
2. Гуцина А.М. Почвы поймы реки Вятки: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Пермь, 1973. 17 с.
3. Егорова В.Н. Пойменные луга средней Оки: мониторинг, проблема сохранения и восстановления биоразнообразия и генофонда. М.: Европейские полиграфические системы, 2013. 412 с.
4. Работнов Т.А. Луговоедение. М.: Изд-во МГУ, 1984. 318 с.
5. Кондакова Л.В., Пирогова О.С. Почвенные водоросли и цианобактерии государственного природного заповедника «Нургуш» // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 3. С. 94–101.
6. Кондакова Л.В., Дабак Е.В. Альгосинузии пойменных лугов на техногенной территории // Теоретическая и прикладная экология. 2017. № 3. С. 73–84.
7. Носкова Т.С. Сообщества водорослей некоторых почв Кировской области: дис. ... канд. биол. наук. Киров, 1968. 286 с.
8. Домрачева Л.И. «Цветение» почвы и закономерности его развития. Сыктывкар: Коми научный центр УрО РАН, 2005. 336 с.
9. Дабак Е.В., Кантор Г.Я., Кислицына А.П. Биологическая очистка поверхностных вод, загрязнённых нитратом аммония // Вестник ИБ Коми НЦ УрО РАН 2012. № 3 С. 19–22.
10. Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. М.: МГУ, 1970. 488 с.
11. ГОСТ 26488-85. Почвы. Определение нитратов по методу ЦИНАО. М.: Издательство стандартов, 1985. 4 с.
12. ГОСТ 26489-85. Почвы. Определение обменного аммония по методу ЦИНАО. М.: Издательство стандартов, 1985. 5 с.
13. Штина Э.А., Голлербах М.М. Экология почвенных водорослей. М.: Наука, 1976. 144 с.

References

1. Bigon M., Harper J., Tausend K. Ecology. Animal units, populations, and communities: Moskva: Mir, 1989. V. 1. 667 p.; V. 2. 477 p. (in Russian).
2. Gushchina A.M. The soils of the floodplain of the Vyatka River: Avtoref. diss. ... kand. selskokhozyaystvennykh nauk. Perm, 1973. 17 p. (in Russian).
3. Egorova V.N. Floodplain meadows of the middle of the Oka River: monitoring, the issue of reservation and rehabilitation of biodiversity and the gene-pool. Moskva: Evropeyskie poligraficheskie sistemy, 2013. 412 p. (in Russian).
4. Rabotnov T.A. Grassland ecology. Moskva: Izd-vo MGU, 1984. 318 p. (in Russian).
5. Kondakova L.V., Pirogova O.S. Soil algae and cyanobacteria of the state nature reserve “Nurgush” // Theoretical and Applied Ecology. 2014. No. 3. P. 94–101 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2014-3-094-101
6. Kondakova L.V., Dabakh E.V. Algosynusia of floodplain meadows of the technogenic territory // Theoretical and Applied Ecology. 2017. No. 3. P. 73–84 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2017-3-073-084
7. Noskova T.S. Algae communities of some soils in the Kirov region: Diss. ... kand. biol. nauk. Kirov, 1968. 286 p. (in Russian).
8. Domracheva L.I. Soil “blooming” and the laws of its development. Syktyvkar: Komi nauchnyy tsentr UrO RAN, 2005. 336 p. (in Russian).
9. Dabakh E.V., Kantor G.Ya., Kislitsyna A.P. Biological treatment of surface waters contaminated with ammonium nitrate // Vestnik IB Komi NTs UrO RAN. 2012. No. 3. P. 19–22 (in Russian).
10. Arinushkina E.V. Manual of chemical analysis of soil. Moskva: MGU, 1970. 488 p. (in Russian).
11. GOST 26488-85. Soils. Determination of nitrates with the TsINAO method. Moskva: Izdatelstvo standartov, 1985. 4 p. (in Russian).
12. GOST 26489-85. Soils. Determination of exchangeable ammonium with the TsINAO method. Moskva: Izdatelstvo standartov, 1985. 5 p. (in Russian).
13. Shtina E.A., Gollerbakh M.M. Soil algae ecology. Moskva: Nauka, 1976. 144 p. (in Russian).

Деградативная активность грибов по отношению к углеводородам нефти в условиях повышенной температуры

© 2019. Н. Н. Позднякова, д. б. н., в. н. с., С. А. Баландина, ст. лаб.,
 О. В. Турковская, д. б. н., профессор, зав. лабораторией,
 Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,
 410049, Россия, г. Саратов, просп. Энтузиастов, д. 13,
 e-mail: pozdnyakova_n@ibppm.ru, sveta.baladinp@mail.ru, turkovskaya_o@ibppm.ru

Загрязнение окружающей среды нефтью и нефтепродуктами является одной из серьёзных проблем современности. Деградативная активность грибов вносит важный вклад в процессы самоочищения природных экосистем и лежит в основе разработки экологических биотехнологий (микоремедиации). Корректный подбор грибов, способных утилизировать поллютанты и выживать в неблагоприятных условиях окружающей среды, является важнейшим этапом разработки подобных технологий. Нами показана способность деградировать углеводороды нефти при повышенной температуре у 10 штаммов базидиомицетов (родов *Agaricus*, *Bjerkandera*, *Pleurotus*, *Schizophyllum*, *Stropharia*, *Trametes*), и 4 штаммов аскомицетов (родов *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Lecanicillium*). Все исследованные грибы метаболизировали нефть как на богатой среде, так и в качестве единственного источника углерода. Наиболее активными оказались базидиомицеты *P. ostreatus*, *S. commune* и *T. versicolor*. Аскомицеты, за исключением *G. candidum*, утилизировали нефть более чем на 80%. На богатой среде для грибов доступны все фракции нефти, включая полициклические ароматические углеводороды и смолы. Их убыль достигала 82–97% для *P. ostreatus* Florida, *S. commune* и *T. versicolor* DSM и 60–88% для аскомицетов *L. aphanocladii* и *F. oxysporum*. В процессе утилизации нефти как единственного источника углерода все исследованные грибы, за исключением *P. ostreatus* и *F. oxysporum*, использовали в основном парафино-нафтеневые фракции и фракцию низкомолекулярных ароматических веществ. Обнаруженная нами продукция лигнинолитических ферментов, катализирующих ключевые этапы дегградации ароматических веществ, а также продукция эмульгирующих веществ, увеличивающих биодоступность нефти, может рассматриваться как адаптация грибов к нефтяному загрязнению. Наибольшая активность лигнинолитических ферментов (лакказы и Mn-пероксидазы) была выявлена у наиболее активного деструктора ароматических веществ – *P. ostreatus* Florida. Аскомицеты, за исключением *G. candidum*, продуцировали только Mn-пероксидазы. Для дальнейших исследований и разработки технологии микоремедиации выбраны базидиомицеты *P. ostreatus* Florida, *S. commune* и *T. versicolor* DSM11269 и аскомицеты *F. oxysporum* и *L. aphanocladii*.

Ключевые слова: высшие грибы, нефть, дегградация, лигнинолитические ферменты, эмульгирующая активность, микоремедиация.

Degradative activity of fungi towards oil hydrocarbons under high temperature

© 2019. N. N. Pozdnyakova ORCID: 0000-0003-2097-3371¹
 S. A. Balandina ORCID: 0000-0002-1971-0016² O. V. Turkovskaya ORCID: 0000-0003-4501-4046³
 Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms RAS,
 13, Prospect Entuziastov, Saratov, Russia, 410049,
 e-mail: pozdnyakova_n@ibppm.ru, sveta.baladinp@mail.ru, turkovskaya_o@ibppm.ru

The pollution of the environment with oil and oil products is one from the serious problems of the present time. The degradative activity of fungi contributes an important part in the self-cleaning of the natural ecosystems and is the basis of the development of environmental biotechnologies (mycoremediation). The selection of the fungi that can utilize pollutants and survive in adverse environmental conditions is the most important stage of the development of such technologies. We showed the ability to degrade of the oil hydrocarbons by 10 strains of basidiomycetes (genera *Agaricus*, *Bjerkandera*, *Pleurotus*, *Schizophyllum*, *Stropharia*, *Trametes*), and 4 strains of ascomycetes (genera *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Lecanicillium*) at high temperature. The all studied fungi metabolized oil both in the rich medium and as the sole carbon source. The most active degraders were the basidiomycetes *P. ostreatus*, *S. commune*, and *T. versicolor*. Ascomycetes, with the exception of *G. candidum*, utilized oil by more than 80%. All oil fractions, including hard PAHs and resins, are available in the rich medium. Their decrease reached 82–97% by *P. ostreatus* Florida, *S. commune*, and *T. versicolor* DSM, and was 60–88% by ascomycetes *L. aphanocladii* and *F. oxysporum*. All the fungi

studied, with the exception of *P. ostreatus* and *F. oxysporum*, used mainly alkane-naphthene fractions and the low molecular weight aromatic compounds during the utilization of oil as the sole carbon source. We found the production of ligninolytic enzymes (which catalyze the key stages of the degradation of aromatic compounds) and the emulsifying compounds (which increase the bioavailability of oil). It can be considered as adaptation of the fungi to the oil pollution. The highest activities of ligninolytic enzymes (laccase and Mn-peroxidase) were detected in *P. ostreatus* Florida which is the most active degrader of the aromatic compounds. Ascomycetes, with the exception of *G. candidum*, produced only Mn-peroxidase. Basidiomycetes *P. ostreatus* Florida, *S. commune*, *T. versicolor* DSM11269 and ascomycetes *F. oxysporum* and *L. aphanocladii* were selected for the further studies and the development of the mycoremediation technologies.

Keywords: fungi, oil, degradation, ligninolytic enzymes, emulsifying activity, mycoremediation.

Ежегодное попадание в окружающую среду огромных количеств нефти в процессе её добычи и в результате техногенных аварий стало одной из самых важных проблем современности. Утечка нефти в почву повреждает обитающую там биоту, включая микроорганизмы и растения. Вместе с тем способность деградировать и даже минерализовать нефтяные углеводороды широко распространена у представителей естественного микробного сообщества. Эта способность вносит важный вклад в процессы самоочищения природных экосистем и лежит в основе разработки экологических биотехнологий [1].

Бактериальная деградация нефти хорошо исследована, на эту тему опубликовано много обзоров [1, 2]. Грибы являются ещё одной группой организмов, вносящих серьёзный вклад в процессы самоочищения природы [3]. Рост распространением гиф позволяет им проникать в почвенные поры и расти, пока есть доступные источники питания. По сравнению с бактериями, грибы более устойчивы к высоким концентрациям токсинов, изменениям pH и температуры [3, 4]. Грибы продуцируют широкий спектр биологически активных веществ, среди которых для биоремедиации наиболее важны внеклеточные ферменты [4].

Несмотря на то, что деградативные свойства высших грибов хорошо известны [3, 4], основные исследования деградации углеводородов нефти проводятся с аскомицетами [5], тогда как сведений о способности базидиомицетов метаболизировать и минерализовать нефть немного [6, 7].

В последние годы широко обсуждается возможность использования грибов для биоремедиации (микоремедиации) [3, 4]. Перспективными кандидатами для разработки технологий микоремедиации являются лигнинолитические грибы: дерево- и почвообитающие базидиомицеты, а также некоторые виды аскомицетов [8]. Кроме лигнина, эти грибы могут метаболизировать и даже минерализовать широкий спектр поллютантов в почве, включая соединения, недоступные

или малодоступные для почвенных бактерий [3–5]. Важным этапом разработки технологий микоремедиации является корректный подбор видов грибов, способных утилизировать специфические поллютанты и выживать в неблагоприятных условиях окружающей среды.

Целью представленной работы было выявление способности к деградации углеводородов нефти у ряда базидио- и аскомицетов в условиях повышенной температуры.

Объекты и методы

Основными объектами исследований являлись базидиомицеты: *Schizophyllum commune* IBPPM 541, *Pleurotus ostreatus* f. Florida IBPPM 540 из коллекции лаборатории экологической биотехнологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук (ИБФРМ РАН); *Stropharia rugosoannulata* DSM 11372 и *Trametes versicolor* DSM 11269, полученные из Департамента микробиологии UFZ-Центра исследований окружающей среды (Лейпциг, Германия); *Trametes versicolor* MUT 3403, *Pleurotus ostreatus* MUT 2977, *Bjerkandera adusta* MUT 3398, *Agaricus bisporus* MUT 3979, полученные из Микотеки Туринского Университета (Турин, Италия); *Pleurotus ostreatus* 336 и *Pleurotus ostreatus* D1, полученные из лаборатории микробиологии ИБФРМ РАН, и аскомицеты *Lecanicillium aphanocladii* Zare & W. Gams IBPPM 542 и *Fusarium oxysporum* IBPPM 543 из коллекции лаборатории экологической биотехнологии ИБФРМ РАН; *Geotrichum candidum* MUT 4803 и *Cladosporium herbarum* MUT 3238, полученные из микотеки Туринского университета (Турин, Италия).

Для культивирования грибов использовали богатую среду для базидиомицетов [9] в нашей модификации, следующего состава (г/л): $\text{NH}_4\text{NO}_3 - 0,724$, $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 1,0$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 1,0$, $\text{KCl} - 0,5$, дрожжевой экстракт - 0,5, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,01$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,0028$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} - 0,033$, глюкоза - 10,0, пептон - 10,0 pH среды составлял 6,0 ед. Изуче-

ние деградации нефти проводили на этой же среде или её минеральной основе (исключали дрожжевой экстракт, пептон и глюкозу), при 30 °С и 130 об./мин, нефть вносили до конечной концентрации 5 г/л. Через 14 сут содержимое колб полностью экстрагировали трижды 5 мл хлороформа. В качестве контроля использовали стерильные среды с 5 г/л нефти. Контрольные и экспериментальные варианты анализировали аналогично.

Убыль нефти и изменение её фракционного состава определяли методом адсорбционной хроматографии с последующим поляриметрическим и гравиметрическим анализом по методике, модифицированной нами ранее [10]. За 100% принимали количества отдельных фракций в контрольных вариантах.

Прирост мицелия контролировали весовым методом.

Для выявления способности грибов к продукции поверхностно-активных веществ (биоПАВ) в процессе деградации нефти, эмульгирующую активность культуральной жидкости тестировали методом Купера [11]. Культуральную жидкость смешивали с керосином в соотношении 2:3, встряхивали в течение 20 мин в мерной пробирке и оставляли на 48 часов при комнатной температуре для разделения. Эмульгирующую активность (Е48) вычисляли

как соотношение объёма эмульсии к общему объёму жидкости и выражали в процентах.

Определение активности лакказы проводили по скорости образования продукта окисления АБТС [12], Mn-пероксидазы – 2,6-диметоксифенола [13], лигнин пероксидазы – вератрилового спирта [14]. За единицу активности принимали количество фермента, катализирующего образование 1 мкмоль продукта окисления в минуту и выражали в условных единицах – мкмоль/мин/мл препарата (ед./мл).

Все варианты описанных экспериментов и анализов имели не менее, чем трёхкратную повторяемость. Каждый эксперимент повторяли не менее трёх раз. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью Microsoft Excel 2003 и Origin 7.

Результаты и обсуждение

Из данных, представленных в таблицах 1 и 2, видно, что все грибы утилизируют нефть как в присутствии косубстратов (на богатой среде для базидиомицетов), так и в качестве единственного источника углерода и энергии (на солевой основе этой же среды).

На богатой среде деревообитающие базидиомицеты деградировали нефть на 62–98%,

Таблица 1 / Table 1
Деградация нефти на богатой среде для базидиомицетов при 30 °С
Oil degradation in basidiomycetes rich medium at 30 °C

| Гриб / Fungus | Убыль, % / Disappearance, % | | | | | |
|--------------------------------|-----------------------------|-----------------------|-------------------------------|-------------|---------------|--------------------------|
| | парафины alkanes | нафтенy naphthenes | моно-/би- ароматика LWH | ПАУ PAHs | смолы tars | Σ фракций Σ fractions |
| Базидиомицеты / Basidiomycetes | | | | | | |
| <i>A. bisporus</i> | 27,1±0,8 | 90,0±5,7 | 50,1±2,9 | 12,0±3,6 | 27,4±4,0 | 32,9±3,6 |
| <i>B. adusta</i> | 64,1±7,8 | 93,6±5,7 | 44,9±11,2 | 45,3±4,6 | 52,1±2,9 | 64,1±6,6 |
| <i>P. ostreatus</i> D1 | 83,0±8,1 | 62,7±4,1 | 67,0±3,5 | 37,2±3,7 | 40,4±2,0 | 73,4±4,4 |
| <i>P. ostreatus</i> Florida | 97,7±9,8 | 90,1±3,2 | 93,2±2,0 | 90,0±1,8 | 82,7±4,6 | 94,8±1,3 |
| <i>P. ostreatus</i> MUT | 87,1±3,7 | 92,9±3,9 | 72,8±5,0 | 79,2±6,1 | 62,5±3,9 | 84,3±3,3 |
| <i>P. ostreatus</i> 336 | 88,3±7,4 | 97,9±7,0 | 89,6±6,8 | 84,1±4,8 | 0,8±0,1 | 78,0±2,3 |
| <i>S. commune</i> | 96,1±4,5 | 97,2±2,7 | 66,0±6,0 | 92,9±7,0 | 83,8±8,1 | 94,0±4,9 |
| <i>S. rugosoannulata</i> | 64,6±4,6 | 11,2±5,2 | 27,5±4,1 | 21,1±7,3 | 54,8±5,5 | 48,9±3,0 |
| <i>T. versicolor</i> DSM | 98,9±1,1 | 98,2±1,2 | 91,6±3,7 | 97,1±1,7 | 96,3±3,1 | 98,3±3,0 |
| <i>T. versicolor</i> MUT | 65,5±3,8 | 85,1±5,1 | 6,0±2,0 | 40,9±9,3 | 49,3±7,1 | 62,6±3,6 |
| Аскомицеты / Ascomycetes | | | | | | |
| <i>C. herbarum</i> | 88,4±4,4 | 60,9±5,0 | 35,5±5,0 | 40,1±1,9 | 70,0±2,2 | 82,0±4,8 |
| <i>F. oxysporum</i> | 81,5±4,8 | 53,4±4,6 | 83,2±3,9 | 63,5±5,3 | 75,5±9,1 | 83,6±4,2 |
| <i>G. candidum</i> | 48,1±8,0 | 83,7±7,8 | 10,6±4,8 | 27,1±3,0 | 25,1±5,1 | 46,9±5,2 |
| <i>L. aphanocladii</i> | 81,2±7,9 | 100,0±0,1 | 90,9±0,8 | 88,0±10,0 | 80,0±7,0 | 83,6±7,0 |

Примечание: «±» – стандартное отклонение.

Note: “±” – standard deviation. LWH – low molecular weight hydrocarbons.

Таблица 2 / Table 2

Использование нефти как единственного источника углерода при 30 °C
The use of oil as sole source of carbon at 30 °C

| Гриб / Fungus | Убыль, % / Disappearance, % | | | | | |
|--------------------------------|-----------------------------|-----------------------|-------------------------------|-------------|---------------|--------------------------|
| | парафины alkanes | нафтены naphthenes | моно-/би- ароматика LWH | ПАУ PAHs | смолы tars | Σ фракций Σ fractions |
| Базидиомицеты / Basidiomycetes | | | | | | |
| <i>A. bisporus</i> | 7,1±2,1 | 32,0±4,9 | 43,0±3,3 | 0,8±0,2 | 21,4±5,7 | 16,8±5,0 |
| <i>B. adusta</i> | 15,1±2,8 | 76,9±3,0 | 1,2±0,9 | 1,8±0,8 | 28,5±0,6 | 18,7±1,3 |
| <i>P. ostreatus</i> D1 | 68,5±5,5 | 42,4±0,4 | 28,0±1,8 | 25,9±3,8 | 44,1±5,3 | 60,0±6,3 |
| <i>P. ostreatus</i> Florida | 75,1±5,2 | 60,5±4,0 | 48,8±0,8 | 52,9±1,6 | 50,0±3,2 | 72,1±2,7 |
| <i>P. ostreatus</i> MUT | 56,5±0,7 | 79,3±5,7 | 13,2±4,0 | 52,0±7,6 | 28,0±5,5 | 54,5±5,2 |
| <i>P. ostreatus</i> 336 | 63,0±4,2 | 83,4±7,0 | 28,4±8,1 | 48,9±5,3 | 35,8±3,0 | 60,4±8,2 |
| <i>S. commune</i> | 29,5±2,8 | 63,6±2,9 | 28,0±4,0 | 27,1±1,9 | 0,6±0,3 | 26,9±1,3 |
| <i>S. rugosoannulata</i> | 15,9±3,2 | 28,6±0,6 | 30,1±1,1 | 1,2±0,9 | 10,3±3,9 | 18,1±0,8 |
| <i>T. versicolor</i> DSM | 36,8±1,6 | 31,9±1,6 | 67,2±3,9 | 18,9±0,5 | 22,4±2,0 | 26,7±2,2 |
| <i>T. versicolor</i> MUT | 25,2±2,8 | 75,0±5,0 | 4,8±2,0 | 5,9±1,8 | 17,0±3,2 | 26,6±4,0 |
| Аскомицеты / Ascomycetes | | | | | | |
| <i>C. herbarum</i> | 20,1±1,1 | 21,1±3,6 | 18,7±0,8 | 12,2±0,8 | 28,9±2,3 | 24,7±1,5 |
| <i>F. oxysporum</i> | 17,3±2,7 | 7,5±3,3 | 63,5±10,1 | 53,7±9,6 | 29,0±0,8 | 37,8±4,1 |
| <i>G. candidum</i> | 18,4±3,9 | 78,5±7,3 | 41,6±5,0 | 6,0±3,0 | 16,2±2,8 | 17,7±2,8 |
| <i>L. aphanocladii</i> | 59,6±3,4 | 78,5±3,9 | 2,0±0,6 | 35,2±4,1 | 25,8±4,2 | 54,9±3,9 |

Примечание: «±» – стандартное отклонение.

Note: “±” – standard deviation. LWH – low molecular weight hydrocarbons.

тогда как почвообитающие – только на 33–49%. Среди исследованных базидиомицетов наиболее активными оказались представители видов *P. ostreatus*, *S. commune* и *T. versicolor*. Отмечены также штаммовые различия. Так, например, среди представителей вида *P. ostreatus* наиболее активным оказался *P. ostreatus* Florida, а среди *T. versicolor* – *T. versicolor* DSM (табл. 1). Представители трёх родов аскомицетов утилизировали нефть более чем на 80%. Наименее активным оказался *G. candidum*; убыль не превышала 47%.

Как уже упоминалось выше, все исследованные грибы могли использовать нефть в качестве единственного источника углерода и энергии (табл. 2). Однако в данном случае наиболее активными оказались базидиомицет *P. ostreatus* Florida и аскомицет *L. aphanocladii*.

Нефть является многокомпонентной смесью веществ, доступность которых для деградации разными организмами может значительно отличаться. Это может приводить к утилизации одних компонентов и накоплению других, таких как ПАУ, представляющих серьёзную опасность для окружающей среды.

Несмотря на то, что деградация нефти и нефтепродуктов грибами описана в литературе [6, 7], чаще всего оценивается снижение

общего содержания нефтепродуктов [6] или снижение фитотоксичности грунта после микоремедиации [15]. Исследование изменения фракционного состава нефти в процессе микоремедиации представлено только в работе [16] и наших ранних экспериментах [10]. Так, например, показано, что *P. tuberregium* эффективно метаболизировал алифатические и ароматические фракции нефти, тогда как смолы и асфальтены, наиболее устойчивые к биodeградации, затрагивались в меньшей степени [16], а интродукция в почву *P. ostreatus* D1 приводила к деградации всех фракций нефти [10].

В представленном исследовании показано, что на богатой среде для грибов были доступны все фракции нефти. При этом убыль фракций, включая труднодоступные ПАУ и смолы, достигала 82–97% для *P. ostreatus* Florida, *S. commune* и *T. versicolor* DSM. Деградация ПАУ почвообитающими базидиомицетами *A. bisporus* и *S. rugosoannulata* была невысокой (12–21%). Аскомицеты *L. aphanocladii* и *F. oxysporum* также утилизировали все фракции нефти, включая труднодоступные (табл. 1).

В процессе утилизации нефти как единственного источника углерода и энергии все исследованные грибы использовали в ос-

новном парафино-нафтеновые фракции и фракцию низкомолекулярных ароматических веществ. Дегградация ПАУ была незначительной или отсутствовала. Исключение составили представители вида *P. ostreatus* и аскомицет *F. oxysporum* (табл. 2).

Возможность использования грибами нефти в качестве единственного источника углерода и энергии подтверждена нами при подсчёте сухого веса мицелия. При этом дегградация нефти в присутствии косубстрата также приводила к увеличению сухого веса мицелия, что говорит о её использовании для роста гриба.

Известно, что в определённых условиях грибы могут продуцировать биосурфактанты [17, 18]. Ранее нами также была показана продукция эмульгирующих веществ в ответ на присутствие в среде культивирования гидрофобных поллютантов (грант РФ № 16-14-00081). В представленном исследовании нами обнаружено, что грибы продуцируют эмульгаторы в присутствии нефти не только при росте на богатой среде, но и при её утилизации в качестве единственного источника углерода и энергии (рис.). Однако в последнем случае эмульгирующая активность была почти в

40 раз ниже. По-видимому, наличие ростового субстрата является необходимым условием для продукции больших количеств биосурфактанов. Это, в свою очередь, приводит к увеличению биодоступности нефти для грибной дегградации.

Известно, что дегградацию ароматических веществ у грибов катализирует внеклеточная лигнинолитическая ферментная система [8]. Исследование продукции лигнинолитических ферментов в присутствии нефти в разных условиях культивирования при 30 °С показало, что представители деревообитающих базидиомицетов *P. ostreatus*, *S. commune*, *T. versicolor* и почвообитающий *A. bisporus* продуцируют два лигнинолитических фермента: лакказы и Mn-пероксидазу (табл. 3). При этом наибольшая активность этих ферментов была выявлена у наиболее активного деструктора ароматических веществ – *P. ostreatus* Florida. Несмотря на то, что продукция этих ферментов является характерным свойством почвообитающего базидиомицета *S. rugosoannulata* [19], в присутствии нефти исследованный нами штамм продуцировал незначительные количества лакказы. Результатом этого может быть невысокая деструктивная активность

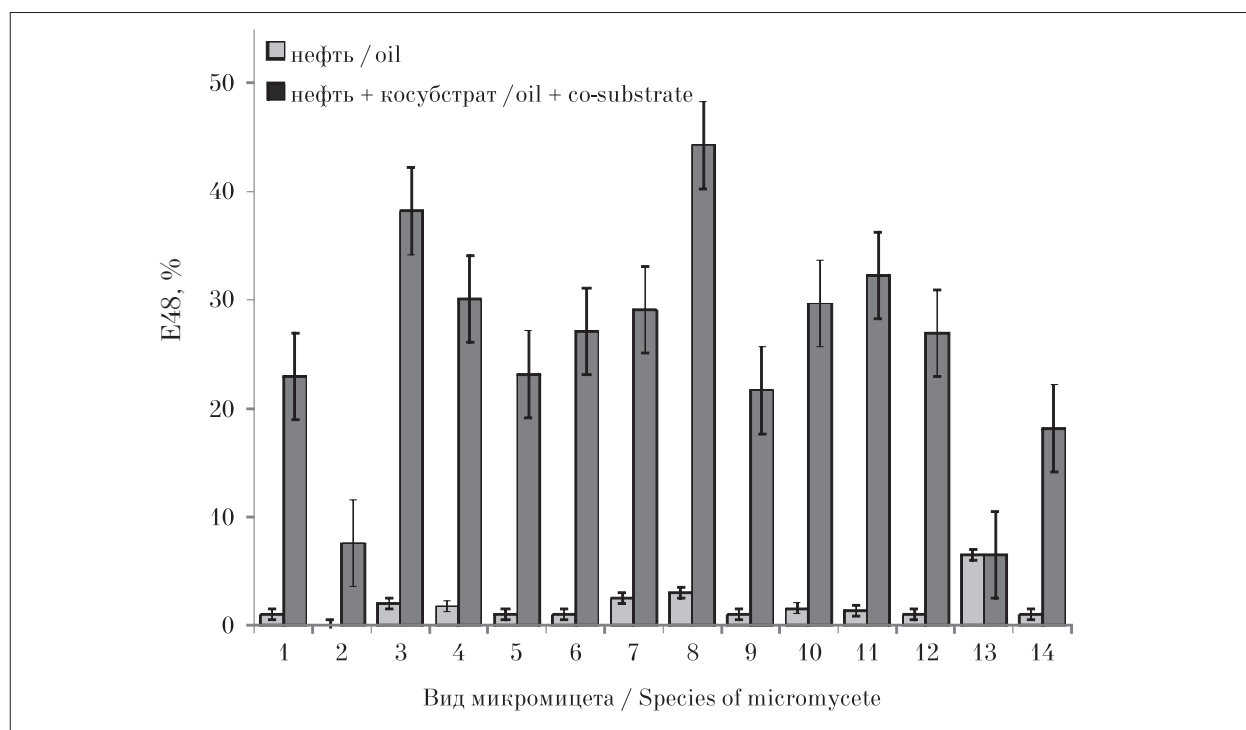


Рис. Продукция эмульгирующих веществ в процессе дегградации нефти как единственного источника углерода и энергии и в присутствии косубстрата: 1 – *A. bisporus*, 2 – *B. adusta*, 3 – *P. ostreatus* D1, 4 – *P. ostreatus* Florida, 5 – *P. ostreatus* MUT, 6 – *P. ostreatus* 336, 7 – *S. commune*, 8 – *S. rugosoannulata*, 9 – *T. versicolor* DSM, 10 – *T. versicolor* MUT, 11 – *C. herbarum*, 12 – *F. oxysporum*, 13 – *G. candidum*, 14 – *L. aphanocladii*
Fig. The production of emulsifying compounds during oil degradation as sole source of carbon and with co-substrate

Таблица 3 / Table 3

Влияние нефти на продукцию лигнинолитических ферментов
Effect of oil on the production of ligninolytic enzymes

| Гриб / Fungus | Активность, ед./мл / Activity, u/mL | | | | |
|--------------------------------|--|----------|--|------------|----------|
| | нефть как единственный источник углерода oil as sole source of carbon | | нефть в присутствии косубстрата at the presence of co-substrate | | |
| | LAC | MnP | LAC | MnP | LiP |
| Базидиомицеты / Basidiomycetes | | | | | |
| <i>A. bisporus</i> | 2,1±0,1 | 1,6±0,1 | 4,8±1,2 | 3,8±0,8 | – |
| <i>B. adusta</i> | – | 30,0±2,7 | – | 54,1±4,9 | 43,5±4,0 |
| <i>P. ostreatus</i> D1 | 12,9±3,2 | 15,6±0,6 | 25,9±1,2 | 140,0±3,8 | – |
| <i>P. ostreatus</i> Florida | 40,8±5,0 | 80,0±3,4 | 90,1±7,0 | 171,1±6,4 | – |
| <i>P. ostreatus</i> MUT | 8,9±2,3 | 8,8±2,1 | 25,8±5,1 | 33,6±3,7 | – |
| <i>P. ostreatus</i> 336 | 13,0±2,8 | 13,4±2,5 | 54,1±9,0 | 127,0±11,0 | – |
| <i>S. commune</i> | 7,3±1,1 | 4,0±1,0 | 14,2±0,8 | 3,5±1,5 | – |
| <i>S. rugosoannulata</i> | 11,7±0,8 | – | 32,6±4,6 | – | – |
| <i>T. versicolor</i> DSM | 9,0±1,2 | 17,6±0,9 | 18,5±1,3 | 22,3±0,8 | 23,0±1,6 |
| <i>T. versicolor</i> MUT | 6,0±1,1 | 8,3±1,2 | 11,1±0,6 | 16,0±0,9 | – |
| Аскомицеты / Ascomycetes | | | | | |
| <i>C. herbarum</i> | – | 0,6±0,1 | – | 1,3±0,5 | – |
| <i>F. oxysporum</i> | – | 0,8±0,1 | – | 5,1±1,0 | – |
| <i>G. candidum</i> | – | – | – | – | – |
| <i>L. aphanocladii</i> | – | 0,6±0,2 | – | 6,0±0,1 | – |

Примечание: «–» – активности фермента не выявлено; «±» – стандартное отклонение; LAC – лакказа, MnP – Mn-пероксидаза, LiP – лигнинпероксидаза.

Note: “–” – no activity; “±” – standard deviation, LAC – laccase, MnP – Mn-peroxidase, LiP – ligninperoxidase.

этого гриба по отношению к ароматическим фракциям нефти.

Третий лигнинолитический фермент – лигнин пероксидаза был обнаружен нами только у двух грибов *T. versicolor* DSM и *B. adusta* (табл. 3) при культивировании на богатой среде. Известно, что у ряда грибов продукция лигнин пероксидазы «запускается» в ответ на лимит источников углерода или азота [8]. В нашем исследовании продукция лигнин пероксидазы также может быть результатом истощения в среде культивирования доступных источников углерода. Исследованные аскомицеты, за исключением *G. candidum*, продуцировали только пероксидазу (предположительно Mn-зависимую), активность которой при культивировании грибов на богатой среде в 2–10 раз превышала таковую при утилизации нефти как единственного источника углерода и энергии.

Заключение

Деградационный потенциал грибов играет значимую роль в деградационной и детоксикационной ксенобиотиков в естественных экосистемах и

лежит в основе технологий микоремедиации. В представленном исследовании показано, что в условиях повышенной температуры (30 °C) базидио- и аскомицеты могут не только кометаболизовать нефть, но и использовать её в качестве единственного источника углерода, когда другие источники недоступны. В присутствии косубстрата грибная дегградация затрагивала все фракции, тогда как в качестве единственного источника углерода грибы использовали в основном парафино-нафтеновые фракции и фракцию низкомолекулярных ароматических веществ. Продукция грибами лигнинолитических ферментов, катализирующих ключевые этапы дегградации ароматических веществ, и эмульгирующих веществ, увеличивающих биодоступность нефти, могут рассматриваться как их адаптация к нефтяному загрязнению. Для дальнейших исследований могут быть выбраны базидиомицеты *P. ostreatus* Florida, *S. commune* и *T. versicolor* DSM11269 и аскомицеты *F. oxysporum* и *L. aphanocladii*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-29-05062.

Авторы благодарят доктора Дитмара Шлоссера из UFZ-Центра исследований окружающей среды (Лейпциг, Германия), профессора Джованну Кристину Варезе из Туринского Университета (Турин, Италия), профессора, д. б. н. В.Е. Никитину из ИБФРМ РАН за предоставленные штаммы грибов.

References

1. Van Hamme J., Singh A., Ward O. Recent advances in petroleum microbiology // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2003. V. 67. P. 503–549. doi: 10.1128/MMBR.67.4.503-549.2003
2. Koshlaf E., Ball A.S. Soil bioremediation approaches for petroleum hydrocarbon polluted // *AIMS Microbiology.* 2017. V. 3. P. 25–49. doi: 10.3934/microbiol.2017.1.25
3. Harms H., Schlosser D., Wick L. Untapped potential: exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals // *Nature Reviews. Microbiology.* 2011. V. 9. P. 177–192. doi: 10.1038/nrmicro2519
4. Treu R., Falandysz J. Mycoremediation of hydrocarbons with basidiomycetes – a review // *J. Environ. Sci. Health. Part B.* 2017. V. 52. P. 148–155. doi: 10.1080/03601234.2017.1261536
5. Schl ter R., Dallinger A., Kabisch J., Duldhardt I., Schauer F. Fungal biotransformation of short-chain *n*-alkylcycloalkanes // *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2019. V. 103 (10). P. 4137–4151. doi: 10.1007/s00253-019-09749-4
6. Ogbo E., Tabuanu A., Ubebe R. Phytotoxicity assay of diesel fuel-spiked substrates remediated with *Pleurotus tuber-regium* using *Zea mays* // *Int. J. Appl. Res. Nat. Prod.* 2010. V. 3. P. 12–16.
7. Bhattacharya S., Das A., Prashanthi K., Palaniswamy M., Angayakanni J. Mycoremediation of benzo[a]pyrene by *Pleurotus ostreatus* in the presence of heavy metals and mediators // *3 Biotech.* 2014. V. 4. P. 205–211. doi: 10.1007/s13205-013-0148-y
8. Wong D. Structure and action mechanism of ligninolytic enzymes // *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2009. V. 157. P. 174–209. doi: 10.1007/s12010-008-8279-z
9. Bezalel L., Hadar Y., Cerniglia C. Enzymatic mechanisms involved in phenanthrene degradation by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus* // *Appl. Environ. Microbiol.* 1997. V. 63. P. 2495–2501.
10. Pozdnyakova N., Nikitina V., Turovskaya O. Bioremediation of oil-polluted soil with an association including the fungus *Pleurotus ostreatus* and soil microflora // *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya.* 2008. V. 44. P. 60–65 (in Russian). doi: 10.1134/S0003683808010109
11. Cooper D., Goldenberg B. Surface-active agents from two *Bacillus species* // *Appl. Environ. Microbiol.* 1987. V. 53. P. 224–229.
12. Niku-Paavola M., Karhunen E., Salola P., Raunio V. Ligninolytic enzymes of the white rot fungus *Phlebia radiata* // *Biochem. J.* 1988. V. 254. P. 877–884.
13. Martinez M., Ruiz-Duenas F., Guillen F., Martinez A. Purification and catalytic properties of two manganese peroxidase isoenzymes from *Pleurotus eryngii* // *Eur. J. Biochem.* 1996. V. 237. P. 424–432. doi: 10.1111/j.1432-1033.1996.0424k.x
14. Tien M., Kirk K. Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: purification, characterization, and catalytic properties of a unique H₂O₂-requiring oxygenase // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1984. V. 81. P. 2280–2284.
15. Ishikhuemhen O., Anoliefo G., Oghale O. Bioremediation of crude oil polluted soil by the white rot fungus *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) Sing. // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2003. V. 10. P. 108–112. doi: 10.1065/espr2002.04.114
16. Ogbo E., Okhuoya J. Biodegradation of aliphatic, aromatic, resinic and asphaltic fractions of crude oil contaminated soils by *Pleurotus tuber-regium* Fr. Singer – a white rot fungus // *African J. Biotechnol.* 2008. V. 4. P. 4291–4297. doi: 10.5897/AJB08.347
17. Arun A., Eyini M. Comparative studies on lignin and polycyclic aromatic hydrocarbons degradation by basidiomycetes fungi // *Bioresource Technol.* 2011. V. 102. P. 8063–8070. doi: 10.1016/j.biortech.2011.05.077
18. Veignie E., Vinogradov E., Sadovskaya I., Coulon C., Rafin C. Preliminary characterizations of a carbohydrate from the concentrated culture filtrate from *Fusarium solani* and its role in benzo[a]pyrene solubilization // *Adv. Microbiol.* 2012. V. 2. P. 375–381. doi: 10.4236/aim.2012.23047
19. Steffen K., Hatakka A., Hofrichter M. Removal and mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by litter-decomposing basidiomycetous fungi // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2002. V. 60. P. 212–217. doi: 10.1007/s00253-002-1105-6

Occurrence of antibiotic resistance genes in sewages of Rostov-on-Don and lower Don River

© 2019. I. S. Sazykin¹ ORCID: 0000-0002-0864-1473, E. Yu. Seliverstova¹ ORCID: 0000-0002-2940-803X,
 L. E. Khmelevtsova¹ ORCID: 0000-0003-0781-2207, T. N. Azhogina¹ ORCID: 0000-0003-0274-783X,
 E. M. Kudeevskaya¹ ORCID: 0000-0001-7896-9645, M. I. Khammami¹ ORCID: 0000-0002-8438-9150,
 N. V. Gnennaya¹ ORCID: 0000-0002-3691-3317,
 A. A. K. Al-Rammahi² ORCID: 0000-0002-6314-6416, A. V. Rakin³ ORCID: 0000-0003-1166-0728,
 M. A. Sazykina¹ ORCID: 0000-0001-6974-3361,
¹Southern Federal University,
 194/2, Stachki Prospekt, Rostov-on-Don, Russia, 344090,
²Technical University Al-Furat Al-Awsat,
 70, Hill St., Najaf, Iraq, 54003,
³Friedrich-Loeffler-Institut, Federal Research Institute for Animal Health,
 Institute for Bacterial Infections and Zoonoses,
 96a, Naumburger St., Jena, Germany, D-07743,
 e-mail: submarinas@list.ru

Drug resistance has become an extremely serious problem worldwide. Antibiotic resistance genes (ARGs) entering the environment with wastewaters promote replenishment of the resistome of natural microbioms. Distribution of several clinically significant ARGs in wastewaters of Rostov-on-Don (Southern Russia), lower reaches of the Don River and natural waters of the neighboring region was investigated. Metagenomic DNA samples isolated from 250 mL of wastewaters or natural waters and 200 mg of surface sediments were used for the study. Identification of the ARGs was carried out with end-point detection PCR. Presence of *NDM*, *OXA-48*, *CTX-M*, *VanA*, *VanB*, *ErmB*, and *TetM/TetO* genes was detected in urban wastewaters. Samples of wastewater treatment plant (WWTP) sewage were enriched with ARGs in contrast to non-treated wastewaters from the sewage collector. *NDM*, *VanA*, *ErmB*, *TetM/TetO* genes were found only in wastewaters and were absent in samples of natural waters and surface sediments. Only *OXA-48*, *VanB* and *CTX-M* genes were found in natural waters and surface sediments. The described ARGs are quite typical for urban and hospital wastewaters. The target ARGs were detected in the samples connected to the anthropogenous sources of pollution such as Rostov-on-Don municipal WWTP or livestock enterprise effluents.

Keywords: antibiotic resistance; urban wastewaters; natural waters; surface sediments.

УДК 579.26, 504.054

Гены устойчивости к антибиотикам в сточных водах г. Ростова-на-Дону и нижнем течении р. Дон

© 2019. И. С. Сазыкин¹, к. б. н., в. н. с.,
 Е. Ю. Селивёрстова¹, аспирант, м. н. с., Л. Е. Хмелевцова¹, м. н. с.,
 Т. Н. Ажогина¹, аспирант, м. н. с., Е. М. Кудеевская¹, м. н. с.,
 М. И. Хаммами¹, м. н. с., Н. В. Гненная¹, магистр,
 А. А. К. Аль-Раммахи², аспирант,
 А. В. Ракин³, д. б. н., приглашённый исследователь,
 М. А. Сазыкина¹, д. б. н., в. н. с., профессор,
¹Южный федеральный университет,
 344090, Россия, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, д. 194/2,
²Технический университет им. Аль-Фурата Аль-Авсата,
 54003, Ирак, г. Наджаф, ул. Хилла, д. 70,
³Институт Фридриха Лёффлера, Национальный институт здоровья животных, Институт
 бактериальных инфекций и зоонозов,
 D-07743, Германия, г. Йена, ул. Наумбургер, д. 96а,
 e-mail: submarinas@list.ru

Чрезвычайно серьёзной проблемой общемирового масштаба стала лекарственная устойчивость микроорганизмов. Гены устойчивости к антибиотикам (АРГ), попадающие в окружающую среду вместе со сточными водами, способствуют распространению резистентности в природных микробиомах. Исследовано распределение нескольких клинически значимых АРГ в сточных водах г. Ростова-на-Дону, низовьях Дона и природных водах региона. Для исследования использовали образцы метагеномной ДНК, выделенные из 250 мл сточных или природных вод и 200 мг донных отложений. Идентификацию АРГ проводили с помощью ПЦР по конечной точке. Было обнаружено присутствие генов *NDM*, *OXA-48*, *CTX-M*, *VanA*, *VanB*, *ErmB* и *TetM/TetO* в городских сточных водах. Образцы сточных вод очистных сооружений содержали больше АРГ по сравнению с неочищенными сточными водами из сточных коллекторов. Гены *NDM*, *VanA*, *ErmB*, *TetM/TetO* были обнаружены только в сточных водах и отсутствовали в пробах природных вод и донных отложений. В природных водах и донных отложениях обнаружены лишь гены *OXA-48*, *VanB* и *CTX-M*. Описанные АРГ довольно типичны для городских и больничных сточных вод. АРГ были обнаружены в природных пробах, связанных с антропогенными источниками загрязнения, такими как городские очистные сооружения Ростова-на-Дону или сточные воды животноводческого предприятия.

Ключевые слова: устойчивость к антибиотикам, городские сточные воды, природные воды, донные отложения.

Drug resistance has become an extremely serious problem on a world-wide scale. Several decades' application of antibiotics in clinical practice, in veterinary, animal husbandry and aquaculture has led to wide dissemination of antibiotic resistance genes and antibiotic resistant bacteria (ARB). Nowadays bacterial strains carrying several resistance determinants are widespread. A large number of ARGs can be found in hospital, municipal [1] and animal husbandry wastewaters [2]. Actually, ARGs and ARB can change microbial populations and thus must be considered a separate class of important pollutants harmful both for human health and environment.

ARGs are definitely supposed to originate and evolve in natural conditions [3]. It also should be taken into account that ARB pool increases not only due to the mutational processes, but also due to horizontal transfer of genes (HGT) preexisting already in resistomes of various microbial communities [4]. Bacterial mobile elements providing genetic platforms for assembly of multiresistance cassettes participate in this process [5]. Also ARGs transduction by bacteriophages is documented [6].

Water ecosystems are known to have optimum conditions for distribution and acquisition of ARGs by microorganisms [7] due to the continuous inflow of resistant genes from anthropogenous sources. Natural waters are also recognized as the most important pool of accumulation of resistance determinants of anthropogenous origin [8]. Although anthropogenous wastewaters are a constant source of ARGs for the environment, it is important to take into account that natural microbiomes are sources and reservoirs of the genetic material associated with resistance to antibiotics [3]. On the other hand, ARGs dissemination among pathogenic bacteria and environmental bacteria also exists [7]. Thus, the drug resistant bacteria entering the envi-

ronment with wastewaters (hospital, municipal or agricultural), promote replenishment of the resistome of natural bacterial communities. Besides, they recruit new resistance determinants from these communities [7], promoting increase of the number of drug resistant strains. Studying such circulation of antibiotic resistance is an important task and recently more and more research has been devoted to tackling various aspects of this problem.

In this work we considered distribution of several ARGs common in drug resistant strains of nosocomial origin. Carbapenems, cephalosporins and glycopeptides are widely used in clinical practice now. Besides, tetracycline in large amounts is used in livestock production also as a feed antibiotic.

Materials and methods

Sampling sites. In this research presence of antibiotic resistance genes in wastewaters of Rostov-on-Don (the biggest city in the South of European Russia) and also in water and surface sediments of Lower Don were studied. The Don River is one of the largest rivers in the European part of Russia and the Azov and the Black Sea basin. In its lower reaches the Don River is the main source of water supply for the Rostov region.

Sampling was carried out in 2015–2016. 40 sampling sites were chosen for the study. Sampling sites were situated both upstream and downstream the discharge point of municipal treatment facilities, and also at the small rivers flowing into Don higher up or in the area of the estuary (Fig.).

City sewage was sampled at 9 sites (No. 31–39) in autumn, 2016. WWTP sewage of Rostov-on-Don was sampled in the years 2015–2016 (No. 40–48). Spring water was sampled at 6 sites (No. 23–28) in autumn, 2016. 4 points

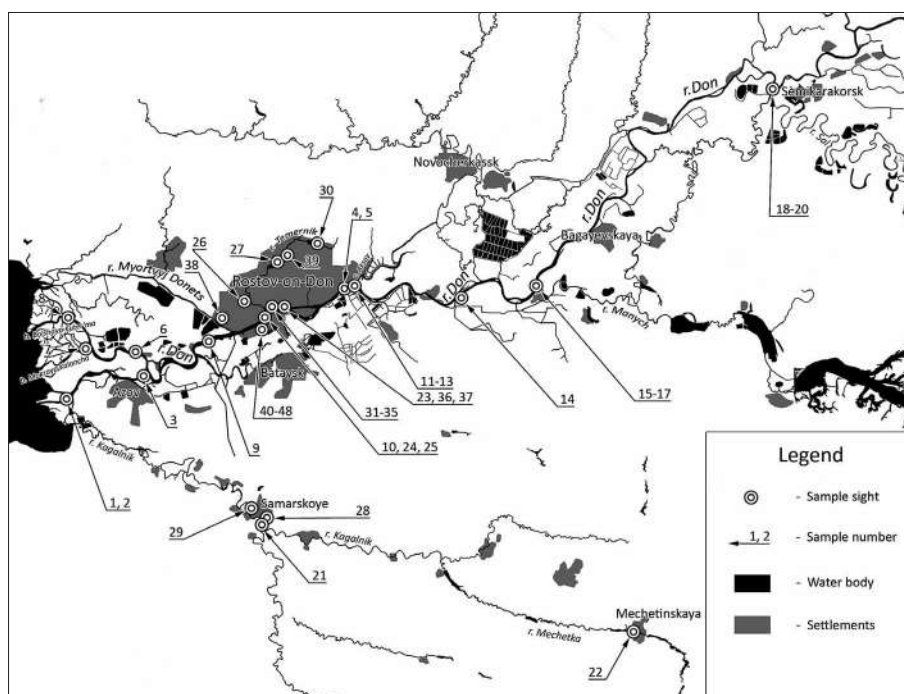


Fig. Sampling sites in the lower reaches of the Don River and in the sewage of Rostov-on-Don

of water and surface sediments selection were located at small rivers of the Lower Don basin (No. 21–22; 29–30). Sampling there was carried out in autumn, 2016. Water and bottom sediments samples of the Don River were taken in autumn, 2015. 7 stations were located on River Don downstream the Rostov WWTP discharge point (No. 1–3; 6–9). 13 stations were located on River Don upstream the Rostov WWTP discharge point (No. 4–5; 10–20).

Samples collection. Sterile plastic bottles were filled with 1 liter of the sampled water each. Water samples were cooled down to +4 °C, taken to the laboratory and processed on the same day.

Bottom sediments samples were selected according to the procedure described in work [9]. Samples were hermetically packed into plastic test tubes and stored at –20 °C before usage in experiments.

Isolation of DNA was carried out according to Galiev and Tsyruльников’s method modified by us [10]. The short procedure of isolation of total DNA from samples of water and surface sediments is given below.

Isolation of total DNA from water samples. 250 mL water samples were centrifuged for 15 minutes (10000 g, +4 °C). The deposit was suspended in 350 µL of guanidine solution (guanidine HCl 240 mM; phosphate-buffer saline 200 mM; pH 7.0) and 350 µL SDS solution (2% SDS; 500 mM Tris-HCl, pH = 7.9) and then transferred into an screw-cap Eppendorf with 0.2 g

glass beads $d = 0.5$ introduced beforehand. 400 µL of phenol-chloroform mix were added and stirred up on a Mixer Mills MM400 (“Retsch”, Germany) mill within 1 minute with the frequency of 30 Hz, then centrifuged for 7 minutes at 14000 g. Water phase was taken, 400 µL of chloroform were added and carefully mixed. Then it was centrifuged like at the previous stage, after that water phase was taken again and 500 µL of isopropyl alcohol were added to it. Everything was kept in the freezer for about 15 minutes, centrifuged for 7 minutes at 14000 g. The deposit was washed out 2 times with 70% ethanol and then dissolved in deionized water.

Isolation of total DNA from samples of surface sediments. For isolation of DNA a frozen surface sediments sample portion of 0,2 g was placed into a 2 mL screw-cap test tube and then glass beads (0.1 g – $d = 0.5$ mm and 0.1 g – $d = 1.0$ mm) and ceramic beads (7 pieces of $d = 1.0$ mm and 3 pieces of $d = 2.0$ mm) were added. Then 350 µL of guanidine solution (guanidine HCl 240 mM; phosphate-buffer saline 200 mM; pH = 7.0), 350 µL of SDS solution (2%) – Tris-HCl (500 mM, pH = 7.9), and 400 µL of phenol-chloroform mix were introduced into each Eppendorf. The mix was stirred up on a Mixer Mills MM400 (“Retsch”, Germany) mill for 15 minutes with a frequency of 30 Hz, then centrifuged for 7 minutes at 14000 g. The water phase was separated, 400 µL of chloroform were added to it and carefully mixed.

Everything was centrifuged just like at the previous stage, then water phase was taken and 500 µL of isopropyl alcohol was added to it. The mix was kept in the refrigerator for 15 minutes, after that centrifuged for 7 minutes at 14000 g. The deposit was washed out 2 times with 70% ethanol and then dissolved in deionized water.

PCR-assay. Amplification reaction was carried out using the T-100 (“Bio-Rad”) amplifier and the final volume of reaction mix was 25 µL.

The following sets of PCR-reagents for determination of resistance to antibiotics with electrophoretic end-point detection PCR (NPF Litekh, Russia) were used:

- the Resistance to carbapenems – 1 set, for identification of *VIM* genes;
- the Resistance to carbapenems – 2 set, for identification of *NDM* genes;
- the Resistance to carbapenems – 3 set, for identification of *OXA-48* genes;
- the Resistance to cephalosporins – 1 set, for identification of *CTX-M* genes;

- the Resistance to cephalosporins – 2 set, for identification of *MecA* genes;

- the Resistance to glycopeptides set, for identification of *VanA* and *VanB* genes;

- the Eritropol set, for identification of resistance genes to *ErmB erythromycin*;

- the Tetrapol set, for definition of resistance to *TetM/TetO* tetracycline.

The reaction was carried out according to the producer’s protocol with the subsequent electrophoretic detection of amplicons. Each reaction included positive and negative controls.

Results and discussion

ARGs analysis results are shown in Table 1.

Seven out of the nine analyzed antibiotics resistance genes have been found in water and surface sediments samples. *NDM*, *OXA-48*, *CTX-M*, *VanA*, *VanB*, *ErmB*, *TetM/TetO* genes have been detected. No samples including wastewaters revealed the presence of *VIM* and

Table
Antibiotic resistance genes in the sewage of Rostov-on-Don and the lower reaches of the Don River

| Sample type | Sample No. | Number of samples | Number of samples containing ARGs | | | | | | | | |
|--|--------------|-------------------|-----------------------------------|------------|---------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------------|
| | | | <i>VIM</i> | <i>NDM</i> | <i>OXA-48</i> | <i>CTX-M</i> | <i>MecA</i> | <i>VanA</i> | <i>VanB</i> | <i>ErmB</i> | <i>TetM/TetO</i> |
| City sewage | 31–39 | 9 | – | – | 2 | 1 | – | – | 3 | 5 | 5 |
| WWTP sewage, Rostov-on-Don | 40–48 | 9 | – | 3 | – | – | – | 3 | 5 | 6 | 7 |
| Don River water downstream the Rostov WWTP discharge point | 1–3, 6–9 | 7 | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Don River surface sediments downstream the Rostov WWTP discharge point | | 7 | – | – | – | – | – | – | 1 | – | – |
| Don River water upstream the Rostov WWTP discharge point | 4–5, 10–20 | 13 | – | – | 1 | – | – | – | – | – | – |
| Don River surface sediments upstream the Rostov WWTP discharge point | | 13 | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Water from small rivers of the Lower Don basin | 21–22, 29–30 | 4 | – | – | – | – | – | – | 1 | – | – |
| Surface sediments from small rivers of the Lower Don basin | | 4 | – | – | – | 1 | – | – | – | – | – |
| Spring water | 23–28 | 6 | – | – | – | – | – | – | – | – | – |

Note: the dash “–” means that the gene is not found.

MecA genes within the period of two years of this study.

All wastewater samples contained at least some of the ARGs. Four ARGs families (*NDM*, *VanA*, *ErmB*, *TetM/TetO*) were detected only in wastewaters but not in the samples of natural waters and surface sediments. In 9 wastewater samples taken from municipal WWTP 24 cases of the studied ARGs detection occurred opposed to 16 cases of ARGs detection in 9 samples of wastewaters taken directly from city wastewater sewers. Thus, WWTP sewage is enriched in ARGs compared to sewage from city wastewater sewers. It is of interest that *OXA-48* and *CTX-M* genes were found only in the samples from wastewater sewers, while *NDM* and *VanA* were detected only in the samples of waters from WWTP. *ErmB* and *TetM/TetO* genes turned out to be the most widespread in wastewaters. *VanB* genes proved to be the most common among the genes from both wastewaters and natural samples.

ARGs were not very common in natural samples. *VanB* and *OXA-48* were detected in two samples of natural surface water. *CTX-M* genes were detected in one surface sediment sample from small rivers, and *VanB* – in bottom sediments of the Don River downstream of the municipal WWTP discharge point. In all these cases sampling locations were spatially connected with potential anthropogenous sources of ARGs. A discharge point of Rostov municipal WWTP effluents was one such source, another – a livestock farm located in the place of the small rivers Elbuzd and Kagalnik confluence. *OXA-48* marker was detected in the water from the beach of the Alitub village.

It is no surprise that the maximum qualitative and quantitative content of ARGs was observed in wastewaters. It is known that conventional wastewater treatment does not significantly reduce the ARGs concentration and can even sometimes lead to the increase of ARGs concentration in urban wastewaters [11, 12]. WWTPs are a hot spot of horizontal transfer of genetic material. The conditions there are very favorable for exchange of mobile elements of a bacterial genome and amplification and accumulation of a wide range of ARGs and the antibiotic resistant bacteria (ARB) arriving from city collectors of sewage ARGs and antibiotic resistant bacteria (ARB) coming from the city wastewaters collectors. The reason for this is the high content of the extracellular DNA from the destroyed cells and high titers of bacteria and bacteriophages.

It corresponds to the fact that we observed a higher content of ARGs in municipal WWTP effluents compared to the wastewaters sampled directly from the city waste collectors before cleaning. It is substantially connected not only to the continuous receipt of ARGs, but also to the possible high content of mobile elements in bacterial genome, first of all, integrons, in the treated wastewaters [13].

Thus, in the course of collecting, accumulation and preliminary treatment of wastewaters, preceding biological cleaning and disinfection, the quantity of ARGs and ARB can increase dramatically. After final sewage treatment the total amount of ARGs and ARB decreases, as a rule [14, 15]. However, relative frequency of ARGs and ARB in effluents increases simultaneously [13].

Despite the high amount of ARGs in sewage, the number of ARGs significantly reduces as wastewaters enter the environment. So, irrigation with purified wastewaters often doesn't lead to ARGs concentration increase in soils, compared to irrigation with natural waters [16, 17].

The World Health Organization classifies the microorganisms resistant to carbapenems, cephalosporins (especially of the III generation) and to fluoroquinolones as the most priority ones. In sewage samples the *NDM* and *OXA-48* genes causing resistance to carbapenems and also *CTX-M* genes providing resistance to cephalosporins were found. Besides, in samples of natural waters *OXA-48* genes, and in bottom sediment samples *CTX-M* genes were discovered. Thus, out of three priority ARG found in sewage, two were also detected in natural samples. It should be pointed out that in both cases not big city wastewaters, but a recreational zone – the beach near the Alitub village (*OXA-48*) and husbandry farm wastewaters (*CTX-M*) were the source.

WWTP dumping into the rivers increases the variety and the ARGs content downstream the dumping place. But as the distance from WWTP increases, the quantity and scope of introduced drug resistance determinants considerably falls, that is typical for both *ErmB* and *Tet* genes. Presence of *TetM* and *TetO* genes is characteristic for municipal wastewaters and animal wastes, thus they are seldomly found in samples of natural waters and soils [18]. Horizontal transfer of *TetO* genes happens less often in comparison to other tetracycline resistance genes because they are less associated with mobile elements in bacterial genomes [19].

Other studied ARGs are also probably eliminated quickly enough in natural microbial

communities as only some of them (*OXA-48*, *CTX-M*, *VanB*) can be found in natural samples, and only in close proximity to the source. Concerning other ARGs which got into the Don and small rivers from wastewaters, concentrations in places of sampling seems to be below the detection limit of the used PCR-kits.

Dissemination of ARGs in WWTP effluents in the environment might be influenced by a range of factors affecting this process. Contamination with antibiotics must obviously facilitate distribution of ARGs [20], but often ARGs distribution is not affected by it [21]. There are other factors that can influence the drug resistance distribution as well. These include microbial community mobilome [22, 23], different types of contaminants, especially heavy metals [24], concentration of biogenic compounds (such as NH_4^+ and PO_4^{3-}), methods of agriculture, water salinity and other factors [23]. Thus, mechanisms of ARGs dissemination modulation in the environment in different conditions requires careful study.

Conclusions

It should be noted that the described ARGs range and distribution are quite typical for urban and hospital wastewaters. Currently, ARGs can be found in surface natural waters and bottom sediments only in close proximity to places of wastewaters dumping and their variety is greatly reduced in comparison with wastewaters. The resistance genes entering the environment with wastewaters definitely pose a certain danger of dissemination of antibiotic resistance in natural microbiomes, but the speed of their elimination from the environment is high enough to prevent wide spreading of ARGs from drains downstream the dumping sites. Recreational zones and insufficiently treated wastewaters of husbandry farms can pose a significant hazard of priority ARGs inflow into the environment.

This research expands the knowledge of ARGs distribution in municipal wastewaters and natural waters in one of the most densely populated southern regions of Russia and, in general, southeastern part of Europe.

This study was funded by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (grant No. 6.2379.2017/PCh), Russian Foundation for Basic Research (grant No. 17-04-00787A), President of Russian Federation (grant No. NSh-3464.2018.11).

References

1. Wang F.H., Qiao M., Su J.Q., Chen Z., Zhou X., Zhu Y.G. High throughput profiling of antibiotic resistance genes in urban park soils with reclaimed water irrigation // *Environmental Science & Technology*. 2014. V. 48. P. 9079-9085. doi: 10.1021/es502615e
2. Phillips I., Casewell M., Cox T., De Groot B., Friis C., Jones R., Nightingale C., Preston R., Waddell J. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004. V. 53. P. 28–52.
3. Martínez J.L. Natural antibiotic resistance and contamination by antibiotic resistance determinants – the two ages in the evolution of resistance to antimicrobials // *Frontiers in Microbiology*. 2012. V. 3. P. 1–3.
4. Smillie C., Garcillán-Barcia M.P., Francia M.V., Rocha E.P., de la Cruz F. Mobility of plasmids // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2010. V. 74. P. 434–452.
5. Hughes D., Andersson D.I. Evolution of antibiotic resistance at non-lethal drug concentrations // *Drug Resistance Updates*. 2012. V. 15. P. 162–172.
6. Muniesa M., Colomer-Lluch M., Jofre J. Could bacteriophages transfer antibiotic resistance genes from environmental bacteria to human-body associated bacterial populations? // *Mobile Genetic Elements*. 2013. No. 3. P. e25847.
7. Vaz-Moreira I., Nunes O.C., Manaia M. Bacterial diversity and antibiotic resistance in water habitats: searching the links with the human microbiome // *FEMS Microbiology Reviews*. 2014. V. 38. P. 761–778.
8. Rizzo L., Manaia C., Merlin C., Schwartz T., Dagot C., Ploy M.C., Michael I., Fatta-Kassinos D. Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: a review // *Science of the Total Environment*. 2013. V. 447. P. 345–360.
9. Sazykin I.S., Sazykina M.A., Khammami M.I., Khmelevtsova L.E., Kostina N.V., Trubnik R.G. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of lower reaches of the Don River (Russia) and their ecotoxicologic assessment by bacterial lux-biosensors // *Environmental Monitoring and Assessment*. 2015. V. 187. P. 277. doi: 10.1007/s10661-015-4406-9
10. Galiev V.V., Tsyrlunikov A.O. Comparison of methods for isolating metagenomic DNA from soil samples // *Bulletin of the National Pedagogical University*. 2011. V. 1. P. 75–84.
11. Ferreira da Silva M., Vaz-Moreira I., Gonzalez-Pajuelo M., Nunes O.C., Manaia C.M. Antimicrobial resistance patterns in Enterobacteriaceae isolated from an urban wastewater treatment plant // *FEMS Microbiology Ecology*. 2007. V. 60. P. 166–176.
12. Novo A., Andre S., Viana P., Nunes O.C., Manaia C.M. Antibiotic resistance, antimicrobial residues and bacterial community composition in urban wastewater // *Water Research*. 2013. V. 47. P. 1875–1887.

13. Makowska N., Koczura R., Mokracka J. Class 1 integrase, sulfonamide and tetracycline resistance genes in wastewater treatment plant and surface water // *Chemosphere*. 2016. V. 144. P. 1665–1673. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.10.044
14. Tang J., Bu Y., Zhang X.X., Huang K., He X., Ye L., Shan Z., Ren, H. Metagenomic analysis of bacterial community composition and antibiotic resistance genes in a wastewater treatment plant and its receiving surface water // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2016. V. 132. P. 260–269. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.06.016
15. Wen Q., Yang L., Duan R., Chen, Z. Monitoring and evaluation of antibiotic resistance genes in four municipal wastewater treatment plants in Harbin, Northeast China // *Environmental Pollution*. 2016. V. 212. P. 34–40. doi: 10.1016/j.envpol.2016.01.043
16. Gatica J., Cytryn E. Impact of treated wastewater irrigation on antibiotic resistance in the soil microbiome // *Environmental Science and Pollution Research*. 2013. V. 20. P. 3529–3538.
17. Chen C., Li J., Chen P., Ding R., Zhang P., Li X. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistances in soils from wastewater irrigation areas in Beijing and Tianjin, China // *Environmental Pollution*. 2014. V. 193. P. 94–101.
18. Santamaría J., López L., Soto C.Y. Detection and diversity evaluation of tetracycline resistance genes in grassland-based production systems in Colombia, South America // *Frontiers in Microbiology*. 2011. V. 2. P. 252. doi: 10.3389/fmicb.2011.00252
19. Chopra I., Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2001. V. 65. P. 232–260.
20. Yang Y., Cao X., Lin H., Wang J. Antibiotics and antibiotic resistance genes in sediment of Honghu Lake and East Dongting Lake, China // *Microbial Ecology*. 2016. V. 72 (4). P. 791–801.
21. Sidrach-Cardona R., Hijosa-Valsero M., Marti E., Balcázar J.L., Becares E. Prevalence of antibiotic-resistant fecal bacteria in a river impacted by both an antibiotic production plant and urban treated discharges // *Science of the Total Environment*. 2014. V. 488–489. P. 220–227. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.04.100
22. Rowe W., Verner-Jeffreys D.W., Baker-Austin C., Ryan J.J., Maskell D.J., Pearce G.P. Comparative metagenomics reveals a diverse range of antimicrobial resistance genes in effluents entering a river catchment // *Water Science and Technology*. 2016. V. 73 (7). P. 1541–1549. doi: 10.2166/wst.2015.634
23. Zheng J., Gao R., Wei Y., Chen T., Fan J., Zhou Z., Makimilua T.B., Jiao Y., Chen H. High-throughput profiling and analysis of antibiotic resistance genes in East Tiaoxi River, China // *Environmental Pollution*. 2017. V. 230. P. 648–654. doi: 10.1016/j.envpol.2017.07.025
24. Xu Y., Xu J., Mao D., Luo Y. Effect of the selective pressure of sub-lethal level of heavy metals on the fate and distribution of ARGs in the catchment scale // *Environmental Pollution*. 2017. V. 220. P. 900–908. doi: 10.1016/j.envpol.2016.10.074

Сорбция тяжёлых металлов меланиновыми пигментами ряда дереворазрушающих грибов

© 2019. Н. В. Сушинская, н. с.,

В. П. Курченко, к. б. н., доцент, зав. лабораторией,

Белорусский государственный университет,

220030, Республика Беларусь, г. Минск, пр. Независимости, д. 4,

e-mail: kurchenko@tut.by

Объектом исследования являлись меланиновые пигменты, полученные из различных видов дереворазрушающих грибов. В результате потенциометрического титрования полученных меланинов ацетатом свинца, установлено, что эффективность связывания Pb^{2+} убывает в ряду меланинов из трутовика ложного дубового (*Phellinus robustus* (P. Karst.) Bourdotet Galzin); трутовика ложного (*Phellinus igniarius* (L.) Quel.); трутовика окаймлённого (*Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst.); трутовика плоского (*Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat.); трутовика настоящего (*Fomes fomentarius* (L.) J.J. Kickx); трутовика скошенного, чаги (*Inonotus obliquus* (Pers.: Fr.) и изменяется от 0,170 до 0,103 мг Pb^{2+} /мг меланина. Взаимодействие исследуемых меланинов с ионами Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} в точке эквивалентности приводит к агрегации комплексов и выпадению их в осадок. Агрегированные хелатные комплексы ионов Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} с меланином из чаги, растворяются в присутствии различных концентраций конкурентного комплексообразователя ионов металлов – ЭДТА. При этом его концентрация, необходимая для растворения вышеуказанных комплексов, убывает от $4,5 \cdot 10^{-4}$ до $1,8 \cdot 10^{-4}$ моль/л. По данным термогравиметрии энергия активации комплекса Pb^{2+} -меланин составляет 357 кДж/моль, тогда как их механической смеси – 80–82 кДж/моль, что свидетельствует о стабилизации этого хелатного комплекса. Показано, что в молекуле меланина из чаги имеется 25 центров связывания различных металлов. Результаты ЭПР-спектроскопии хелатных комплексов, исследованных меланинов с Pb^{2+} показали увеличение количества парамагнитных центров с 10^{17} до $6,5 \cdot 10^{18}$ спин/г, что свидетельствует об участии свободнорадикальных мономеров феноксильной и бензосемихинонной природы меланинов во взаимодействии. При внутрижелудочном введении мышам хлорида меди в дозе 200 мг/кг (LD_{50}) и меланина из чаги в дозе 360 мг/кг массы, выживаемость животных возрастала до 100%, а при введении хлорида кадмия 94 мг/кг (LD_{50}) и меланина (1000 мг/кг) выживаемость достигала 80%. Полученные результаты сорбции тяжёлых металлов меланинами ряда дереворазрушающих грибов создают предпосылки их практического использования в качестве энтеросорбентов.

Ключевые слова: дереворазрушающие грибы, меланин, тяжёлые металлы, комплексообразование, токсичность.

Sorption of heavy metals by melanin pigments of wood-destroying fungi

© 2019. N. V. Sushinskaya ORCID: 0000-0003-4036-9825

V. P. Kurchenko ORCID: 0000-0002-4859-2389

Belarusian State University,

4, Prospekt Nezavisimosti, Minsk, Republic of Belarus, 220030,

e-mail: kurchenko@tut.by

The object of the study was the melanin pigments obtained from various types of wood-destroying fungi. Using the potentiometric titration lead acetate it was found that binding efficiency of Pb^{2+} decreases in the series of melanins from the *Phellinus robustus* (P. Karst.) Bourdotet Galzin; *Phellinus igniarius* (L.) Quel.; *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst.; *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat.; *Fomes fomentarius* (L.) J.J. Kickx; *Inonotus obliquus* (Pers.: Fr.) – chaga and varies from 0.170 to 0.103 mg Pb^{2+} /mg melanin.

The interaction of the studied melanins with Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} ions in the equivalence point leads to aggregation of the complexes and their deposition in the sediment. Aggregated chelate complexes of Cu^{2+} ions, Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} with chaga melanin dissolves in the presence the chelating agent EDTA. Moreover, EDTA concentration necessary for dissolving the above complexes decreases from $4,5 \cdot 10^{-4}$ to $1,8 \cdot 10^{-4}$ mol/L.

According to thermogravimetry the activation energy of the Pb^{2+} melanin complex was 357 kJ/mol. Their mechanical mixture had the activation energy of 80–82 kJ/mol, which indicates stabilization of this chelate complex. It was shown that molecule of melanin from chaga contains 25 binding sites of various metals. The results of EPR spectroscopy of chelate complexes of melanins with Pb^{2+} led to an increase in the number of paramagnetic centers from 10^{17} to $6,5 \cdot 10^{18}$ spin/g, which indicates the participation of free radical monomers of the phenoxyl and benzosemiquinone

nature of melanins in the interaction. In the process of intragastric administration to mice of copper chloride at a dose of 200 mg/kg (LD₅₀) and melanin from chaga at a dose of 360 mg/kg of weight, animal survival increased by 100%, and with the introduction of cadmium chloride at a dose of 94 mg/kg (LD₅₀) and melanin (1000 mg/kg) survival rate reached by 80%. The results of sorption of heavy metals create the prerequisites for practical use of melanins from wood-destroying fungi as enterosorbents.

Keywords: wood-destroying fungi, melanin, heavy metals, complexation, toxicity.

Известна способность базидиомицетов накапливать в плодовых телах значительные количества тяжёлых металлов (ТМ) [1]. Это связано с особенностями их строения и высоким содержанием хитина и меланина, которые способны эффективно сорбировать различные поллютанты [1–3]. Среди дереворазрушающих грибов важное место занимают трутовики, вызывающие белую и бурую гниль древесины [4]. Они широко распространены в средней полосе и являются перспективным возобновляемым источником для получения биологически активных веществ: меланинов, гликанов, хитина и других [5–8]. Меланиновые пигменты являются высокомолекулярными гетерополимерами нерегулярного химического строения [9, 10]. Эти биополимеры в зависимости от источников их получения обладают уникальными физико-химическими свойствами, которые обуславливают их фотопротекторную, генопротекторную, сорбционную и другие активности [5, 6, 9, 10]. Меланины относятся к 5 классу опасности и являются неопасными соединениями. Способность меланинов связывать ионы ТМ объясняется наличием большого количества функциональных групп, способных к комплексообразованию [3, 10, 11]. К ТМ относят металлы с плотностью более 8 г/см³. Среди них V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Cd, Hg, Pb, Bi и др. Многие из них обладают высокой токсичностью для живых организмов в относительно низких концентрациях [3]. Для снижения их токсического действия можно использовать меланины грибного происхождения.

В связи с этим, представлялось целесообразным выделить меланиновые пигменты из плодовых тел ряда дереворазрушающих грибов, вызывающих белую и бурую гниль, исследовать их структурно-функциональные свойства, определить сорбционную ёмкость по отношению к ионам Pb²⁺, Cd²⁺, Cu²⁺ и Zn²⁺, и определить возможность их использования в качестве энтеросорбентов.

Материалы и методы

Объектом исследования являлись меланиновые пигменты, полученные из плодовых тел

грибов, вызывающих бурую гниль древесины – трутовика окаймлённого (*Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst.), и белую гниль – трутовиков настоящего (*Fomes fomentarius* (L.) J.J. Kickx), плоского (*Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat.), ложного (*Phellinus igniarius* (L.) Quel.) дубового ложного (*Phellinus robustus* (P. Karst.) Bourdotet Galzin), а также стерильной формы трутовика скошенного, чаги (*Inonotus obliquus* (Pers.: Fr.). Меланиновые пигменты получали по ранее описанной методике [6, 7].

Спектрофотометрические измерения проводили на «Cary 50 Bio» (Австралия). Исследования электронного парамагнетизма осуществляли на спектрометре «Varian E-112» (США). Для расчёта g-факторов использовали в качестве эталона Mn²⁺ в порошке MgO [3, 6].

Термогравиметрический анализ (ДСК) проводили на «ТА – 4000 Mettler Toledo» (Швейцария). Измерения выполняли в интервале температур 25–600 °С в атмосфере воздуха при скорости нагрева 5 °С/мин. Энергию активации определяли по уравнению Бройдо [12].

Связывание ионов ТМ ацетата Pb²⁺, Cd²⁺, Cu²⁺, Co²⁺, Zn²⁺ меланинами проводили потенциометрическим титрованием в трёх повторностях. Определение количества центров связывания меланинами ионов различных металлов проводили по методу Скетчарда [3, 11].

Исследование *in vivo* энтеросорбционных свойств меланинов проводили на белых беспородных мышах средней массой 15 г. В каждом опыте использовали 40 животных. Контрольным животным внутрижелудочно вводили раствор CdCl₂ в дозе ЛД₅₀ = 94 мг/кг или CuCl₂ в дозе ЛД₅₀ = 200 мг/кг. Опытным животным после введения растворов ионов металлов, внутрижелудочно вводили раствор меланина из *I. obliquus* в различных дозах. Статистическую обработку результатов проводили стандартными методами с использованием программы EXCEL.

Результаты и обсуждение

Получение меланиновых пигментов. Меланины грибов прочно связаны с хитином и белками, что делает невозможным их полное извлечение из клетки без изменения

структурно-функциональных свойств [6, 9, 10]. Использование предложенной методики выделения меланинов позволило получить природные пигменты с сохранением их нативной структуры. Выходы меланинов, полученные вышеописанным способом, составили: *Ph. igniarius* (собранные с маньчжурского ореха) – 1,6–1,7%, *Ph. robustus* (дуб) – 1,0%, *G. applanatum* (осина) – 5–6%, *F. fomentarius* (берёза) – 7–8%, *F. pinicola* (ель) – 9–13%, *I. obliquus* (берёза) – 12–17%. Идентификацию выделенных пигментов проводили по традиционной схеме, включающей комплексное исследование их растворимости, качественных реакций на хиноны и фенолы, элементного состава, спектральных свойств [2].

Сорбционная ёмкость исследованных меланинов по отношению к ионам свинца. В результате потенциометрического титрования полученных меланинов ацетатом свинца показано, что 1 мг меланина из трутовика ложного дубового связывает $0,17 \pm 0,07$ мг Pb^{2+} ; из трутовика ложного – $0,17 \pm 0,07$ мг; из трутовика окаймлённого – $0,12 \pm 0,06$ мг; из трутовика плоского – $0,11 \pm 0,04$ мг; из трутовика настоящего – $0,11 \pm 0,03$ мг; из трутовика скошенного, чаги – $0,10 \pm 0,03$ мг. Эффективность комплексообразования ионов Pb^{2+} с меланинами различного происхождения связана с особенностями их физико-химических свойств: молекулярной массой, элементным составом, содержанием карбоксильных и кар-

бонильных групп, наличием парамагнитных центров (ПМЦ) [6, 7].

Парамагнитные свойства хелатных комплексов меланинов. Характерной особенностью меланиновых пигментов является парамагнетизм [13]. Комплексообразование исследованных меланинов с ионами ТМ приводит к росту количества ПМЦ (табл. 1). В результате такого взаимодействия в молекулах меланиновых пигментов происходит перераспределение электронной плотности и образование более стабильных структур [14]. Наиболее прочное взаимодействие с ионами Pb^{2+} характерно для меланинов из трутовика настоящего, чаги и трутовика ложного.

Количество центров связывания металлов в меланине чаги. По результатам потенциометрического титрования методом Скетчарда определено количество центров связывания меланином из чаги ионов Cd^{2+} и Zn^{2+} , которое составило 25 центров (рис.).

Термогравиметрический анализ хелатных комплексов меланина с Pb^{2+} . При пиролизе от 20 °С до 600 °С хелатных комплексов меланинов с Pb^{2+} происходит сдвиг максимума термического разложения с 410 °С для меланина до 470 °С их комплексов. Взаимодействие меланинов с ионами ТМ приводит к увеличению энергии активации этих комплексов, которая для Pb^{2+} -меланин составляет 357 кДж/моль, а для их механической смеси – 80–82 кДж/моль. Это свидетельствует об

Таблица 1 / Table 1
Характеристика ЭПР сигналов комплексов меланинов из трутовиков со свинцом
Characterization of the EPR signals of melanin complexes from tinder fungi with plumbum

| Источник меланина, субстрат произрастания гриба, комплекс с Pb^{2+} Source of melanin, substrate for supporting fungal growth, complex with Pb^{2+} | ΔH , Гс ΔH , G | g-фактор g-factor | ПМЦ, 10^{17} спин/г PMS, 10^{17} spin/g |
|--|-----------------------------------|----------------------|--|
| <i>I. obliquus</i> , берёза / birchtree Pb^{2+} -меланин / Pb^{2+} -melanin | 5,5 | 2,0042 | 4,0 |
| | 12,0 | 2,0010 | 102,0 |
| <i>Ph. igniarius</i> , орех маньчжурский / Manchurian walnut Pb^{2+} -меланин / Pb^{2+} -melanin | 5,5 | 2,0043 | 16,0 |
| | 12,0 | 2,0016 | 43,0 |
| <i>G. applanatum</i> , осина / aspen Pb^{2+} -меланин / Pb^{2+} -melanin | 6,3 | 2,0045 | 9,0 |
| | 11,0 | 2,0021 | 19,3 |
| <i>Ph. robustus</i> , дуб / oaktree Pb^{2+} -меланин / Pb^{2+} -melanin | 6,0 | 2,0043 | 5,0 |
| | 13,5 | 2,0004 | 14,9 |
| <i>F. fomentarius</i> , берёза / birchtree Pb^{2+} -меланин / Pb^{2+} -melanin | 6,0 | 2,0043 | 6,0 |
| | 10,3 | 2,0009 | 9,7 |
| <i>F. pinicola</i> , ель / spruce Pb^{2+} -меланин / Pb^{2+} -melanin | 6,0 | 2,0042 | 3,0 |
| | 11,0 | 2,0028 | 4,1 |

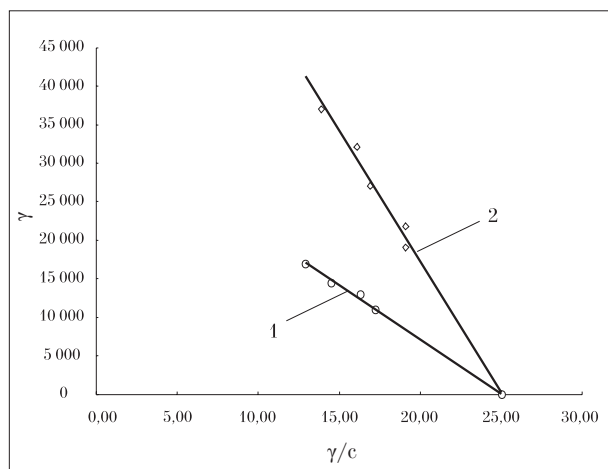


Рис. Зависимость γ от γ/c : 1 – $ZnSO_4$; 2 – $CdSO_4$
 Fig. The dependence of γ on γ/c : 1 – $ZnSO_4$; 2 – $CdSO_4$

эффективном процессе взаимодействия меланинов с ТМ и образовании термостабильного комплекса.

Растворение хелатных комплексов меланинов с металлами. При взаимодействии исследуемых меланинов с ионами Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} в точке эквивалентности происходит агрегация комплексов и их соосаждение. Агрегация меланина в комплексе с металлом и выпадение его в осадок начинается на конечной стадии титрования, когда значение pH не меняется. По способности ЭДТА растворять полученный осадок была исследована устойчивость образующихся комплексов меланин-металл [15]. Добавление ЭДТА в конечной концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л к суспензии хелатного комплекса меланина из чаги с Zn^{2+} происходит его растворение; для комплексов Cd^{2+} -меланин его концентрация составляет $2,3 \cdot 10^{-4}$ моль/л; для Pb^{2+} -меланин – $3,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л; для Cu^{2+} -меланин –

$4,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Для разрушения комплекса металл-меланин необходимо различное количество ЭДТА, которое в 10–30 раз превышает количество меланина и возрастает в ряду ионов $Zn^{2+} - Cd^{2+} - Pb^{2+} - Cu^{2+}$.

Энтеросорбционные свойства меланина.

Способность меланиновых пигментов связывать различные ТМ создаёт предпосылки их практического использования в качестве энтеросорбента. Меланин из чаги образует прочные комплексы с ионами Cd^{2+} и Cu^{2+} и способен снижать их токсическое действие. Как видно из таблицы 2, при совместном введении $CdCl_2$ в дозе, равной LD_{50} и меланина из чаги в дозе 1000 мг/кг выживаемость мышей увеличивалась на 30%.

Для снижения токсического действия $CdCl_2$ до 80% выживаемости требовалось введение значительно большего количества меланина, чем при интоксикации $CuCl_2$. При внутрижелудочном введении мышам хлорида меди в дозе 200 мг/кг (LD_{50}) и меланина из чаги в дозе 180 мг/кг массы через сутки погибло не более 10% животных, а при введении хлорида кадмия (100 мг/кг) и меланина (200 мг/кг) – 20%.

Заключение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что взаимодействие меланинов с различными металлами приводит к агрегации пигментов и выпадению их в осадок. Образовавшиеся хелатные комплексы меланинов с металлами могут быть разрушены путём добавления известного хелатора металлов – ЭДТА. Для разрушения комплекса металл-меланин необходимо различное количество ЭДТА, которое в 10–30 раз превышает коли-

Таблица 2 / Table 2

Выживаемость мышей при совместном внутрижелудочном введении солей металлов и меланина из чаги / The survival rate of mice with the joint intragastric administration of metal salts and melanin from the chaga mushroom

| Вводимая доза / Administered dose | Выживаемость мышей, % The survival rate of mice, % |
|--|---|
| $CdCl_2$ 94 мг/кг (LD_{50}) / $CdCl_2$ 94 mg/kg (LD_{50}) | 50±2 |
| $CdCl_2$ 94 мг/кг + меланин 200 мг/кг $CdCl_2$ 94 mg/kg + melanin 200 mg/kg | 60±3 |
| $CdCl_2$ 94 мг/кг + меланин 1000 мг/кг $CdCl_2$ 94 mg/kg + melanin 1000 mg/kg | 80±4 |
| $CuCl_2$ 200 мг/кг (LD_{50}) / $CuCl_2$ 200 mg/kg (LD_{50}) | 50±1 |
| $CuCl_2$ 200 мг/кг + меланин 90 мг/кг $CuCl_2$ 200 mg/kg + melanin 90 mg/kg | 70±3 |
| $CuCl_2$ 200 мг/кг + меланин 360 мг/кг $CuCl_2$ 200 mg/kg + melanin 360 mg/kg | 100 |

чество меланина и возрастает в ряду ионов $Zn^{2+} - Cd^{2+} - Pb^{2+} - Cu^{2+}$. На основании полученных результатов было определено, что в молекуле меланинов имеется 25 центров связывания с металлами. При взаимодействии меланиновых пигментов с ионами тяжелых металлов принимают участие свободнорадикальные мономеры феноксильной и бензосемихинонной природы [11]. Проведённые исследования механизма сорбции ТМ меланинами ряда дереворазрушающих грибов создают предпосылки для их практического использования в качестве энтеросорбентов.

References

1. Sazanova K.V., Velikova V.D., Stolyarova N.V. Accumulation of heavy metals by mushrooms. Ecological and species specificity, accumulation mechanisms, potential danger to humans // *Toxicologiya*. 2017. V. 18. P. 336–361 (in Russian).
2. Shirokikh A.A., Popyvanov D.V., Shirokikh I.G. Biosorption of Pb(II), Zn(II) and Cu(II) from aqueous solutions by *Trametes versicolor* mycelium // *Theoretical and Applied Ecology*. 2017. No. 2. P. 98–105 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2017-2-098-105
3. Felix C.C., Hyde J.S., Sarna T., Sealy R.C. Interactions of melanin with metal ions. Electron spin resonance evidence for chelate complexes of metal ions with free radicals // *Journal of the American Chemical Society*. 1978. V. 100. No. 12. P. 3922–3926.
4. Pandey K.K., Pitman A.J. FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by brown-rot and white-rot fungi // *International biodeterioration & biodegradation*. 2003. V. 52. No. 3. P. 151–160. doi: 10.1016/S0964-8305(03)00052-0
5. Zjawiony J.K. Biologically active compounds from Aphyllophorales (polypore) fungi // *Journal of natural products*. 2004. V. 67. No. 2. P. 300–310.
6. Sushinskaya N.V., Kukulyanskaya T.A., Kurchenko V.P., Shostak L.M. Physico-chemical properties and the production of melanins from basidiomycetes // *Trudy BGTU*. 2004. No. 12. P. 193–196 (in Russian).
7. Bakulin A.V., Kurchenko V.P., Sushinskaya N.V., Azarko I.I., Varlamov V.P. Physical and chemical characteristics of chitosan-melanin complexes // *Trudy BGU*. 2009. V. 4. No. 2. P. 290–297 (in Russian).
8. Cui Y., Kim D.S., Park K.C. Antioxidant effect of *Ononotus obliquus* // *Journal of Ethnopharmacology*. 2005. V. 96. No. 1–2. P. 79–85.
9. Nosanchuk J.D., Stark R.E., Casadevall A. Fungal melanin: what do we know about structure // *Frontiers in Microbiology* 2015. V. 6. P. 1463. doi: 10.3389/fmicb.2015.01463
10. Kadri T., Rouissi T., Brar S.K., Cledon M., Sarma S., Verma M. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by fungal enzymes: A review // *J. Environ. Sci.* 2017. V. 51(1). P. 52–74. doi: 10.1016/j.jes.2016.08.023
11. Senyuk O., Gorovoj L., Zhidkov A., Kovalyov V., Palamar L., Kurchenko V., Kurchenko N., Schroeder H.-Ch. Genome protection properties of the chitin-containing preparation Micoton // *Advances in chitin science*. 2005. V. 8. P. 430–434.
12. Sushinskaya N.V., Kurchenko V.P., Shostak L.M. The use of thermal analysis in the study of melanins // *Biokhimiya: sb. nauch. trudov BGTU*. Minsk: Izd-vo RIVSH, 2004. P. 111–115 (in Russian).
13. Enochs W.S., Nilges M.J., Swartz H.M. A standardized test for the identification and characterization of melanins using electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy // *Pigment Cell. Res.* 1993. No. 6. P. 91–99.
14. Buszman E., Pilawa B., Zdybel M. EPR examination of Zn^{2+} and Cu^{2+} effect on free radicals in DOPA-melanin-netilmicin complexes // *Chemical Physics Letters*. 2005. V. 403. No. 1–3. P. 22–28.
15. Liu Y., Hong L., Kempf V.R. Ion-exchange and adsorption of Fe(III) by *Sepia melanin* // *Pigment cell research*. 2004. V. 17. No. 3. P. 262–269.

Формирование притундровых лесов на карьерах строительных материалов

© 2019. И. А. Лиханова, к. б. н., н. с.,
Г. В. Железнова, д. б. н., в. н. с, Т. Н. Пыстина, к. б. н., с. н. с.,
Е. М. Лаптева, к. б. н., врио зав. отделом почвоведения,
Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,
e-mail: likhanova@ib.komisc.ru

Проведён анализ восстановления растительности и почв на песчаных и супесчаных карьерах крайнесеверной тайги (притундровая зона). Выявлено, что, несмотря на значительный отпад и замедленный рост лесных культур, их посадка должна быть обязательным мероприятием при рекультивации нарушенных земель, поскольку в первые три десятилетия самовосстановительной сукцессии (эндоэкогенез) возобновление древесного яруса из хвойных пород на лёгких по гранулометрическому составу субстратах либо отсутствует, либо неудовлетворительно. На участках управляемой сукцессии (лесная рекультивация) отмечены, по сравнению с самовосстанавливающимися территориями, увеличение видового богатства фитоценозов и активность внедрившихся видов. Включение в комплекс лесной рекультивации мероприятий по улучшению субстрата (внесение торфа) существенно усиливает эти тенденции. Посадка лесных культур без дополнительных агроприёмов в условиях техногенных местообитаний притундровой зоны менее эффективна, в связи с низкой средообразующей ролью древесных растений в первые десятилетия после посадки.

Ключевые слова: крайнесеверная тайга, карьеры, песчаные и супесчаные субстраты, сукцессия, лесная рекультивация.

Formation of near-tundra forests on open pit mines

© 2019. I. A. Likhanova ORCID: 0000-0001-8781-4768*
G. V. Zheleznova ORCID: 0000-0002-8208-0838* T. N. Pystina ORCID: 0000-0003-2215-4724*
E. M. Lapteva ORCID: 0000-0002-9396-7979*
Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of RAS,
28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Komi Republic, Russia, 167982,
e-mail: likhanova@ib.komisc.ru

The restoration of vegetation and soils on open pit mines has been comparatively analyzed for the third decade of self-restored (endocogenesis) and managed (forest reclamation) successions. The study materials are located in the Usinsk region of the Komi Republic in the far north taiga subzone (near-tundra area). The results include 52 geobotanical descriptions at sites of 100 m², as well as information on the occurrence and the partial activity of species. The cultures of *Pinus sylvestris* and *Picea obovata* have been examined; the agrochemical analysis of soils and grounds has been done. The forest reclamation forms tree layer of Va quality class coniferous species. The conservation degree is 0–60%, density – 0–3 thousand units/ha. The death causes normally are unfavorable substrate properties (poor or low-moisture substrate, contrast temperature regime) or fungal diseases like pine-leaf cast. Ground cover is dominated by typical technogenic species. We observe the appearance of newly formed species with a differentiated organic-accumulative horizon. Though forest cultures are marked through a low environment-forming role in first decade after planting, we evidence the increase in species abundance of phytocenoses and in cenotic activity of invader species, as well as intensive soil formation processes at the forest reclamation sites in contrast with the self-restored sites. The importance of pine and spruce planting is vivid through an unsatisfactory (less than 0.2 thousand units/ha) self-restoration of conifers on sandy and sandy loam pit mines of the near-tundra zone.

Keywords: far north taiga, open pit mines, sandy and sandy loam substrates, succession, forest reclamation.

Рост антропогенного воздействия на таёжные регионы в связи с добычей полезных ископаемых и неуклонное увеличение площади нарушенных земель требуют разработки эффективных методов лесной рекультивации [1, 2]. Для восстановления экосистем на малопродуктивных песчаных грунтах требуется значительный период времени [3]. Эндозоогенез заторможен в связи с подверженностью их эрозии, контрастностью температур поверхностного слоя, низкой влагоёмкостью и незначительным содержанием элементов питания. Сочетание этих условий с суровым климатом обуславливает медленное восстановление лесных экосистем на территории крайнесеверной тайги [4]. Ускорить их формирование можно приёмами создания лесных культур. Однако особенности лесной рекультивации техногенных песчаных грунтов в биоклиматических условиях таёжной зоны Европейского Севера рассмотрены недостаточно [5].

Цель работы – оценить эффективность лесной рекультивации песчаных и супесчаных карьеров на территории крайнесеверной тайги европейского северо-востока России с применением приёмов улучшения субстрата и без них.

Материалы и методы исследований

Объекты исследования расположены в Усинском районе Республики Коми. Рас-

сматриваемая территория относится к Лая-Адзвинскому округу Печорской лесорастительной провинции Восточно-Европейской притундровой области [6]. Здесь преобладают редкостойные еловые и елово-берёзовые леса (сомкнутость крон 0,3–0,5, высота деревьев 8–15 м, бонитет Va). На песках и супесях произрастают как сосняки, так и ельники. Почвенный покров представлен сочетаниями подзолов и торфяно-подзолов иллювиально-гумусово-железистых.

В 2008–2013 гг. обследованы 6 участков на территории трёх карьеров площадью 30 (карьер 8), 15 (17) и 50 (11) га (табл. 1). Разработку карьеров завершили в 1983 (карьер 17), 1985 (8) и 1987 (11) гг. Растительный покров вблизи карьеров представлен ельниками зелёномошными или долгомошными (5Е2Л2Б1С, 7ЕЗБ, высота 13 м, запас 80 м³/га, бонитет Va) и сосняками лишайниково-зелёномошными (4С3Л2Е1Б, высота 11 м, запас 70 м³/га, бонитет Va). Песчаные субстраты карьеров 8 и 17 однородны до глубины 1 м. В карьере 11 супесчаные отложения подстилаются с глубины 0,2–0,5 м песками, либо песчано-гравийными породами. Технический этап рекультивации заключался в планировке поверхности. Участки 1 и 2 оставили на самозарастание. На участках 3–6 провели биологический этап, который включал посадку 1–3-летних семян хвойных пород с открытой корневой системой, а также черенков ивы (табл. 1). Улучшение свойств

Таблица 1 / Table 1

Характеристика обследованных участков / Description of the study sites

| Участок Site | Карьер Open pit mine | Субстрат Substrate* | Площадь участка, га Area, ha | Год посадки Planting year | Посадочный материал/густота посадки, шт./га Planting material/planting density, units/ha |
|--|----------------------------|------------------------|------------------------------------|--|---|
| Участки самозарастания / Self-restored sites | | | | | |
| 1 | 8 | 3–6 | 18 | – | – |
| 2 | 11 | 13–15 | 20 | – | – |
| Участки с посадкой лесных культур без улучшения субстрата Sites with planted forest cultures without substrate improvement | | | | | |
| 3 | 8 | 3–6 | 2 | 1991 (<i>Salix</i>)** 2001 (<i>Pinus</i>) | <i>Salix</i> sp. / 5000 <i>Pinus sylvestris</i> / 2200 |
| 4 | 17 | 3–6 | 15 | 1985 | <i>P. sylvestris</i> / 5000 |
| 5 | 11 | 13–14 | 30 | 1992 | <i>Picea obovata</i> / 4000 |
| Участок с посадкой лесных культур с предварительным внесением торфа Site with planted forest cultures and previous peat application | | | | | |
| 6 | 8 | 3–6 | 10 | 1990 (<i>Pinus</i>) 1991 (<i>Picea</i>) | <i>P. sylvestris</i> / 5000 <i>P. obovata</i> / 4500 |

Примечание: * – содержание частиц < 0,01 мм, % в верхнем слое субстрата; ** – в скобках указана высаженная в данный год порода; «–» – посадка лесных культур не производилась.

Note: * – content of particles < 0.01 mm, % in the upper substrate layer; ** – brackets indicate a tree species planted in the corresponding year; “–” – no planting.

субстрата (нанесение слоя торфа мощностью 5 см) выполнили только на участке 6 в 1990 г.

Выполнили 52 геоботанических описания растительных сообществ карьеров на площадках в 100 м² с оценкой состояния лесных культур. Для каждого из отмеченных видов растений и лишайников определяли встречаемость и рассчитывали парциальную активность видов (произведение встречаемости вида на среднее проективное покрытие (ПП) вида на пробных площадях). Агрохимический анализ почв и почвогрунтов проводили по общепринятым методикам [7]. Образцы растений и лишайников хранятся в УНУ «Научный гербарий Института биологии Коми НЦ УрО РАН (СΥΚΟ)».

Результаты и обсуждение

На карьерах отмечено 115 видов сосудистых растений (табл. 2), что составляет 32% локальной флоры Усинска [8]. Преобладающие семейства – Poaceae (17 видов), Asteraceae (15), Cyperaceae (11), Salicaceae (10), Ericaceae (9). По сравнению с локальной флорой нарушился порядок размещения мест между ведущими семействами ниже трёх первых, уменьшилась доля одно-двулетних растений (с 12 до 8%) и увеличилась – деревянистых видов (с 14 до 26%). В сообществах карьеров преобладают лесные виды (41%), ниже процент участия болотных и прибрежно-водных (26%), луговых (16%), сорно-луговых (11%), сорных (3%). На участках отмечены 33 вида листостебельных мхов, 31 вид лишайников. Улучшение субстратных условий в ряду песок – супесь – оторфованный субстрат способствовало увеличению общего числа видов (табл. 2).

Очень низкая активность внедряющихся видов отмечена на участке 1, оставленного на

самозаращение (табл. 3). К концу третьего десятилетия эндозоогенеза территория либо полностью лишена растительного покрова и представляет собой перевиваемые пески, либо занята пионерными сообществами. Характерны эрозионные овраги, на дне которых описаны ивняки пушицевые.

При самозаращении супесчаного субстрата (участок 2) активность видов выше (табл. 3). Здесь отмечены пионерные сообщества, разреженные ивняки иван-чаево-полевохвоцевые, ивняки и березняки разнотравно-лугомятликовые и разнотравно-дернистошучковые. Высота деревьев и кустарников 1–2,5 м, густота – 1–5 тыс. шт./га. Количество самосева сосны и ели незначительно (не более 0,2 тыс. шт./га). Сообщества формируют в основном виды, характерные для начальных стадий восстановительных сукцессий [9–12]. Видовая насыщенность сообществ составляет 5–15 видов на 100 м². Следует отметить, что в Западной Сибири на песчаных субстратах средней и северной тайги формирование замкнутых фитоценозов с доминированием сосны или берёзы (общее ПП 90%) наблюдалось уже на 9–12 гг. самовосстановительной сукцессии [9], на дренированных песках в условиях северной тайги несомкнутый сосновый фитоценоз (общее ПП 5–15%) формировался на 10–20 г. эндозоогенеза [10].

Посадка культур сосны и ели без улучшения субстрата способствует формированию древесного яруса. На участках 3 и 4 ярус представлен только культурами, на участке 5 – также самосевом берёзы (табл. 3). Темпы роста культур сосны и ели соответствуют Va классу бонитета (рис. 1), что характерно для естественных молодняков в данных биоклиматических условиях [6]. Сохранность сосны на дренированном участке 3 ниже, чем на более влажном участке 4 (рис. 2). Отпад хвой-

Таблица 2 / Table 2

Число видов на участках / Number of species at sites

| Группы/ Groups | | Участок, № / Site, No. | | | | | | Всего Total (52) |
|--|--|------------------------|--------|-------|-------|-------|-------|------------------|
| | | 1 (6)* | 2 (10) | 3 (9) | 4 (9) | 5 (9) | 6 (9) | |
| Сосудистые растения / Vascular plants (Жизненная форма / Living form): | деревья / trees | 2 | 8 | 4 | 6 | 9 | 8 | 9 |
| | кустарники / shrubs | 3 | 8 | 4 | 2 | 9 | 8 | 11 |
| | кустарнички / dwarf shrubs | 1 | 5 | 3 | 4 | 5 | 9 | 9 |
| | травы многолетние / perennial grasses | 35 | 29 | 21 | 25 | 48 | 44 | 77 |
| | травы одно-, двулетние / annual and biennial grasses | 5 | 6 | 3 | 4 | 8 | 5 | 9 |
| Мхи / Mosses | | 15 | 18 | 9 | 12 | 18 | 22 | 33 |
| Лишайники / Lichens | | 5 | 9 | 13 | 16 | 12 | 30 | 31 |

Примечание/ Note: * – число описаний / Amount of descriptions.

Таблица 3 / Table 3

Виды, характеризующиеся высокой встречаемостью или/и активностью
Often-met or/and highly active species

| Вид Species | Встречаемость / Occurrence | | | | | | Активность / Activity | | | | | |
|--|----------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----------------------|------|-----|------|------|------|
| | Участок, № / Site, No. | | | | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Древесный ярус / Tree layer | | | | | | | | | | | | |
| <i>Betula pubescens</i> | 0,1 | 0,6 | 0,2 | 0,8 | 0,7 | 1 | 0,2 | 4,4 | 0,7 | 1,6 | 10,4 | 15,6 |
| <i>Larix sibirica</i> | 0,1 | 0,1 | 0,3 | 0,2 | 0,1 | 0,9 | 0,0 | 0,0 | 0,5 | 0,0 | 0,0 | 8,5 |
| <i>Pinus sylvestris</i> | – | 0,1 | 0,4 | 0,8 | 0,1 | 0,2 | – | 0,0 | 5,3 | 20,6 | 0,0 | 0,0 |
| <i>Picea obovata</i> | – | 0,1 | 0,1 | – | 0,7 | 0,2 | – | 0,0 | 0,0 | – | 8,8 | 2,1 |
| Кустарниковый ярус / Shrubby layer | | | | | | | | | | | | |
| <i>Salix phylicifolia</i> | 0,2 | 0,6 | 0,7 | 0,7 | 0,7 | 0,8 | 0,4 | 1,8 | 8,3 | 1,4 | 3,4 | 10,4 |
| <i>S. dasyclados</i> | 0,2 | 0,2 | 0,7 | 0,4 | 0,6 | 0,4 | 0,2 | 0,4 | 7,6 | 1,1 | 1,4 | 6,0 |
| <i>S. caprea</i> | 0,2 | 0,4 | 0,2 | 0,6 | 0,6 | 1,0 | 0,2 | 5,6 | 0,7 | 1,2 | 8,4 | 37,2 |
| Травяно-кустарничковый ярус / Grassy and dwarf shrubby layer | | | | | | | | | | | | |
| <i>Chamaenerion angustifolium</i> | 0,8 | 1,0 | 0,9 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,8 | 10,6 | 1,4 | 0,9 | 12,1 | 7,2 |
| <i>Equisetum arvense</i> | 0,6 | 1,0 | 0,6 | 0,6 | 1,0 | 1,0 | 0,8 | 2,0 | 0,8 | 0,3 | 3,0 | 1,0 |
| <i>Festuca ovina</i> | 0,8 | 0,8 | 0,8 | 0,4 | 0,7 | 0,9 | 1,8 | 7,8 | 2,3 | 1,2 | 7,6 | 20,0 |
| <i>Hieracium umbellatum</i> | 0,6 | 0,6 | 0,6 | 0,1 | 0,6 | 0,8 | 0,4 | 1,2 | 0,4 | 0,0 | 3,3 | 3,8 |
| <i>Solidago virgaurea</i> | – | 0,6 | 0,5 | 0,2 | 0,6 | 0,9 | – | 0,2 | 0,2 | 0,0 | 0,3 | 3,1 |
| <i>Avenella flexuosa</i> | – | 0,2 | 0,3 | 0,9 | 0,1 | 0,9 | – | 0,0 | 0,1 | 1,1 | 0,0 | 5,7 |
| <i>Deschampsia cespitosa</i> | 0,1 | 0,4 | 0,1 | 0,2 | 0,6 | 1 | 0,0 | 1,4 | 0,0 | 0,4 | 6,6 | 2,4 |
| <i>Calamagrostis epigeios</i> | 0,2 | 0,2 | 0,4 | 0,6 | 0,4 | 0,2 | 1,0 | 0,4 | 1,8 | 0,2 | 0,2 | 0,0 |
| <i>Vaccinium uliginosum</i> | – | 0,1 | 0,1 | 0,7 | 0,1 | 0,8 | – | 0,0 | 0,0 | 1,4 | 0,0 | 0,5 |
| <i>Empetrum hermaphroditum</i> | – | 0,1 | – | 0,7 | 0,3 | 0,7 | – | 0,0 | – | 1,4 | 0,0 | 3,0 |
| <i>Tussilago farfara</i> | 0,1 | 0,8 | 0,2 | 0,1 | 0,9 | 0,4 | 0,0 | 1,6 | 0,5 | 0,0 | 6,4 | 0,1 |
| <i>Equisetum sylvaticum</i> | – | 0,2 | 0,1 | 0,3 | 0,3 | 0,8 | – | 0,0 | 0,0 | 0,6 | 0,1 | 0,5 |
| <i>Poa pratensis</i> | 0,1 | 0,8 | 0,1 | – | 0,7 | 0,9 | 0,0 | 1,6 | 0,0 | – | 3,5 | 0,6 |
| <i>Vaccinium vitis-idaea</i> | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,6 | 0,1 | 0,7 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,2 | 0,0 | 2,0 |
| <i>Hieracium altipes</i> | – | 0,2 | 0,1 | – | 0,6 | 0,9 | – | 0,1 | 0,0 | – | 0,3 | 3,1 |
| <i>Crepis tectorum</i> | 0,4 | 0,2 | 0,6 | 0,1 | 0,3 | 0,2 | 0,4 | 0,6 | 0,4 | 0,0 | 0,1 | 0,0 |
| <i>Erigeron acris</i> | – | – | 0,1 | – | 0,6 | 0,8 | – | – | 0,0 | – | 0,3 | 1,5 |
| <i>Euphrasia frigida</i> | – | 0,2 | 0,1 | 0,3 | 0,3 | 0,7 | – | 0,1 | 0,0 | 0,1 | 0,1 | 0,4 |
| <i>Omalotheca sylvatica</i> | – | – | 0,1 | – | 0,3 | 1 | – | – | 0,0 | – | 0,1 | 2,5 |
| <i>Vaccinium myrtillus</i> | – | 0,1 | – | 0,3 | 0,1 | 0,7 | – | 0,0 | – | 0,1 | 0,0 | 0,4 |
| <i>Agrostis tenuis</i> | 0,1 | 0,4 | – | 0,2 | 0,3 | 0,7 | 0,0 | 0,8 | – | 0,0 | 1,1 | 1,5 |
| <i>Lycopodium annotinum</i> | – | – | – | 0,4 | – | 0,7 | – | – | – | 0,1 | – | 0,4 |
| <i>Carex ericetorum</i> | 0,4 | – | 0,6 | 0,1 | – | 0,2 | 0,1 | – | 0,5 | 0,0 | – | 0,0 |
| <i>Festuca rubra</i> | – | – | 0,1 | 0,1 | 0,4 | 0,4 | – | – | 0,0 | 0,0 | 0,2 | 0,2 |
| <i>Rumex acetosella</i> | – | – | 0,2 | 0,2 | – | 0,6 | – | – | 0,0 | 0,0 | – | 0,2 |
| <i>Arctostaphylos uva-ursi</i> | – | – | 0,1 | 0,1 | – | 0,8 | – | – | 0,0 | 0,0 | – | 1,1 |
| <i>Orthilia secunda</i> | – | – | – | – | 0,1 | 0,7 | – | – | – | – | 0,0 | 0,4 |
| <i>Antennaria dioica</i> | – | – | – | 0,1 | 0,1 | 0,6 | – | – | – | 0,0 | 0,0 | 0,3 |
| <i>Andromeda polifolia</i> | – | – | – | – | – | 0,7 | – | – | – | – | – | 3,4 |
| Мохово-лишайниковый ярус / Mossy-lichen layer | | | | | | | | | | | | |
| <i>Ceratodon purpureus</i> | 0,2 | 0,6 | 0,5 | 1 | 0,7 | 0,9 | 0,0 | 20,5 | 3,6 | 7,2 | 35,6 | 2,7 |
| <i>Polytrichum piliferum</i> | 0,2 | – | 0,5 | 0,8 | 0,1 | 0,6 | 0,0 | – | 4,4 | 6,2 | 0,3 | 4,2 |
| <i>P. juniperinum</i> | – | – | 0,5 | 0,8 | – | 1 | – | – | 0,5 | 13,8 | 0,0 | 36,2 |
| <i>Pleurozium schreberi</i> | – | – | 0,1 | 0,3 | 0,4 | 0,8 | – | – | 0,0 | 0,6 | 0,1 | 1,8 |
| <i>Stereocaulon paschale</i> | 0,1 | – | 0,3 | 0,4 | 0,3 | 0,2 | 0,0 | – | 0,7 | 1,6 | 0,1 | 0,0 |
| <i>Bryum</i> sp. | 0,1 | 0,6 | 0,4 | 0,2 | 0,6 | 0,4 | 0,0 | 0,8 | 0,2 | 0,4 | 1,5 | 0,1 |
| <i>Cladonia cornuta</i> | – | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,3 | 0,8 | – | 0,0 | 0,1 | 0,0 | 0,1 | 0,5 |
| <i>C. arbuscula</i> | 0,1 | – | 0,3 | 0,6 | – | 0,8 | 0,0 | – | 0,1 | 0,2 | 0,0 | 0,5 |
| <i>C. rangiferina</i> | 0,1 | – | 0,2 | 0,2 | – | 0,8 | 0,0 | – | 0,0 | 0,0 | – | 0,5 |
| <i>C. gracilis</i> ssp. <i>gracilis</i> | – | – | 0,1 | 0,3 | – | 0,7 | – | – | 0,0 | 0,6 | – | 0,4 |
| <i>Brachythecium</i> sp. | – | 0,2 | – | – | 0,3 | 0,6 | – | 0,0 | – | – | 0,1 | 0,3 |
| <i>Peltigera rufescens</i> | – | 0,6 | – | – | 0,6 | 0,2 | – | 4 | – | – | 7,8 | 0,8 |

Примечание / Note: «–» – вид не отмечен / species not found.

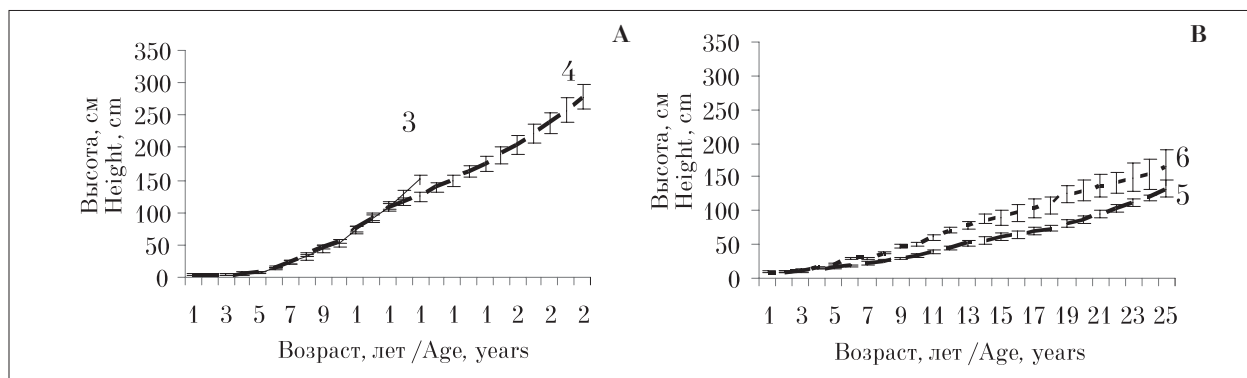


Рис. 1. Динамика роста культур сосны (А) и ели (В) на участках 3–6. Планками погрешности показаны границы доверительного интервала при $p = 0,95$
Fig. 1. The growth dynamics of pine (A) and spruce (B) cultures at sites 3–6. Error bars show confidence limit on $p = 0.95$

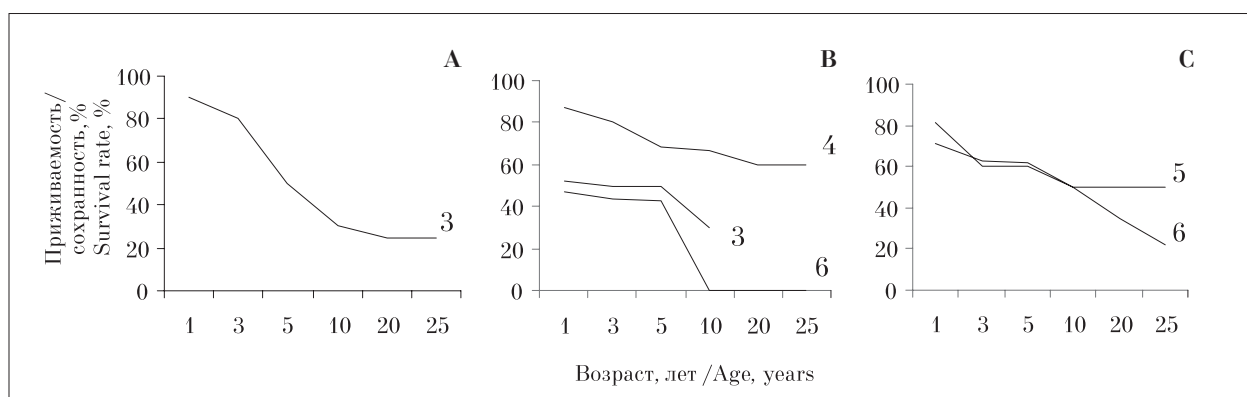


Рис. 2. Приживаемость/сохранность культур ивы (А), сосны (В), ели (С) на участках 3–6
Fig. 2. The survival rate of willow (A), pine (B), spruce (C) cultures at sites 3–6

ных пород обусловлен не только субстратными условиями, но и грибными заболеваниями типа шютте. На участках 3 и 5 сформирован кустарниковый ярус, в первом случае – посадкой черенков ив, во втором – самосевом. Напочвенный покров участков 3 и 4 с песчаными субстратами формируют нетребовательные к субстратным условиям мхи (ПП 20–30%); роль сосудистых растений незначительна. На супеси (участок 5) сформирован травяно-кустарничковый ярус (ПП до 40%); ПП мохово-лишайникового покрова достигает 50%. Видовая насыщенность сообществ – 13–17 видов на 100 м². Характерны слабо-развитые почвы с маломощным гумусово-аккумулятивным горизонтом (табл. 4).

Внесение торфа на поверхность субстрата участка 6 способствовало значительному увеличению активности видов (табл. 3). Несмотря на массовую гибель высаженной сосны от болезни снежное шютте и низкую сохранность культур ели (рис. 2), улучшение свойств субстрата активизировало формирование древесного яруса за счёт внедрения берёзы (густота

2–4 тыс. шт./га, высота 4 м). Самосев сосны и ели незначителен (до 0,1 тыс. шт./га). Развиты кустарниковый (густота 6 тыс. шт./га, высота 2,5–4,5 м), травяно-кустарничковый (ПП 60%) и мохово-лишайниковый (ПП 50%) ярусы. Видовая насыщенность сообществ достигает 40 видов на 100 м². Органостраты в ходе сукцессии преобразовались в псаммозёмы гумусово-стратифицированные. В их профиле сформировался грубогумусовый горизонт, слой торфа преобразовался в гумусово-стратифицированный горизонт с благоприятными для роста растений агрохимическими показателями (табл. 4).

Таким образом, сформированные в третьем десятилетии управляемой сукцессии сообщества карьеров подзоны крайнесеверной тайги имеют мало общего со сведёнными на их месте сосняками и ельниками. Лесная рекультивация способствует созданию древесного яруса из хвойных пород, но его развитие в связи с особенностями биоклиматических условий замедленно. В напочвенном покрове доминируют виды, характерные для техно-

Таблица 4 / Table 4

Агрохимические показатели субстратов и почв
Agrochemical parameters of substrates and soils

| Участок, горизонт, глубина, см Site, horizon, depth, cm | Полевая влажность, % Field moisture content, % | рН _{водн.} рН _{water} | С _{орг.} C _{org.} , % | N _{hydr.} | K ₂ O | P ₂ O ₅ | Ca ²⁺ | Mg ²⁺ |
|---|---|--|---|------------------------------------|------------------|-------------------------------|--|------------------|
| | | | | мг/100 г в.с.п. mg/100 g a.d.s. | | | ммоль/100 г. в.с.п. mmol/100 g a.d.s. | |
| <i>Субстраты участков до проведения посадок лесных культур</i> <i>Substrates at sites before planting of forest cultures</i> | | | | | | | | |
| 4 С 0–30 | 7–16 | 5,8 | 0,2 | 0,4 | 1,8 | 9,1 | 1,1 | 0,3 |
| 5 С 0–20 | 14–24 | 6,9 | 0,7 | 1,2 | 2,5 | 12,0 | 4,2 | 1,0 |
| 5 С (20–40) | 5–9 | 7,0 | 0,3 | 0,4 | 2,5 | 10,1 | 7,6 | 1,3 |
| 6 С 0–30 | 4–8 | 5,9 | 0,2 | 0,1 | 2,3 | 7,4 | 0,2 | 0,2 |
| 6 торф / peat* | – | 4,3 | 35,9 | 16,8 | 2,1 | 0,8 | 23,1 | 3,3 |
| <i>Субстраты/почвы участков в третьем десятилетии сукцессии</i> <i>Substrates/soils at sites in the third decade of succession</i> | | | | | | | | |
| Нулевая стадия почвообразования / Zero soil formation stage | | | | | | | | |
| 1 С 0–5 | 3,1–5,9 | 5,1 | 0,2 | 0,8 | 2,2 | 10,8 | 0,7 | 0,3 |
| 1 С 5–10 | 4,4–5,3 | 5,0 | 0,1 | 0,6 | 2,2 | 11,4 | 0,6 | 0,3 |
| 1 С 10–40 | 4,5–4,8 | 5,0 | 0,1 | 0,9 | 2,2 | 11,7 | 0,5 | 0,2 |
| Псаммозёмы гумусовые типичные / Humus typical Psammozems | | | | | | | | |
| 4 W 0–1 | – | 4,6 | 1,2 | 2,2 | 12,5 | 5,9 | 1,3 | 0,6 |
| 4 С 1–5 | 7,1–16,2 | 5,0 | 0,1 | 1,3 | 2,1 | 14,6 | 0,7 | 0,4 |
| 4 С 5–20 | 7,0–17,4 | 5,7 | 0,2 | 1,5 | 4,4 | 15,6 | 1,3 | 0,7 |
| 4 С 20–40 | 11,1–22,6 | 5,9 | 0,1 | 2,0 | 3,0 | 17,9 | 1,0 | 0,6 |
| 5 W 0–1 | 13,5–20,1 | 6,2 | 2,1 | 4,8 | 13,4 | 5,0 | 11,4 | 2,1 |
| 5 WC 1–5 | 19,3–25,3 | 6,8 | 1,0 | 2,0 | 5,2 | 7,8 | 6,1 | 1,0 |
| 5 С 5–30 | 21,7–27,1 | 7,0 | 0,7 | 1,0 | 2,5 | 10,1 | 5,6 | 1,0 |
| 5 D 30–40 | – | 6,9 | 0,3 | 0,4 | 1,8 | 12,0 | 7,9 | 1,3 |
| Псаммозём гумусово–стратифицированный / Humus-stratified Psammozem | | | | | | | | |
| 6 АО 0–1 | – | 5,6 | 22,4 | 30,4 | 189,5 | 32,0 | 8,5 | 3,6 |
| 6 АСrh 1–5 | 31,7–50,7 | 4,9 | 8,1 | 3,6 | 17,6 | 5,1 | 7,5 | 2,3 |
| 6 АСrh 5–11 | 32,3–69,0 | 4,5 | 5,0 | 3,6 | 7,9 | 8,4 | 4,3 | 1,1 |
| 6 С 11–23 | 9,4–15,6 | 4,9 | 0,6 | 1,5 | 3,7 | 14,0 | 1,6 | 0,6 |
| 6 С 23–30 | 6,2–12,3 | 5,1 | 0,6 | 0,6 | 4,2 | 14,0 | 0,9 | 0,5 |

Примечание: * – приведены химические свойства торфа, использованного для проведения рекультивации.
Note: * – given chemical properties belong to peat driven from outside for recultivation purposes.

генных местообитаний. В новообразованных почвах дифференцируются только органо-аккумулятивные горизонты. Несмотря на значительный отпад и низкие темпы роста лесных культур, их посадка должна входить в обязательное мероприятие при рекультивации нарушенных земель, поскольку в первые три десятилетия эндоэкогенеза возобновление древесного яруса из хвойных пород на лёгких по своему гранулометрическому составу субстратах либо отсутствует, либо неудовлетворительно. Особое внимание в системе ухода за культурами необходимо уделять мероприятиям по борьбе с патогенными грибами.

Работа выполнена в рамках темы государственного задания ИБ Коми НЦ УрО РАН «Выявление общих закономерностей формирования и функционирования торфяных почв на территории Арктического и Субарктического секторов европейского Северо-Востока России» (номер госрегистрации: АААА-А17-117122290011-5).

Литература

1. Macdonald S.E., Landhäuser S.M., Skousen J., Franklin J., Frouz J., Hall S., Jacobs D.F., Quideau S. Forest restoration following surface mining disturbance: challenges and solutions // *New Forests*. 2015. No. 46. P. 703–732.

2. Zipper C., Burger J., Skousen J., Angel P., Barton C., Davis V., Franklin J. Restoring forests and associated ecosystem services on Appalachian coal surface mines // *Environmental Management*. 2011. No. 47. P. 751–765.

3. Chen H.Y.H., Biswas S.R., Sobey T.M., Brassard B.W., Bartels S.F. Reclamation strategies for mined forest soils and overstorey drive understory vegetation // *Journal of applied ecology*. 2017. No. 55 (2). P. 926–936.

4. Железнова Г.В., Кузнецова Е.Г., Евдокимова Т.В., Турубанова Л.П. Мониторинг формирования растительного покрова на техногенно-нарушенных территориях Усинского нефтяного месторождения // *Экология*. 2005. № 4. С. 269–274.

5. Капелькина Л.П., Казаков Л.А. Лесные культуры на нефелиновых песках // *Лесное хозяйство*. 1981. № 1. С. 33–34.

6. Семенов Б.А., Цветков В.Ф., Чибисов Г.А., Елизаров Ф.П. Притундровые леса европейской части России. Архангельск: СевНИИЛХ, 1998. 332 с.

7. Теория и практика химического анализа почв / Под ред. Л.А. Воробьевой. М.: ГЕОС, 2006. 400 с.

8. Шущпанникова Г.С. Анализ конкретных флор бассейна нижнего течения реки Колвы (Коми АССР) // *Вестник ЛГУ*. 1987. Сер. 3. Вып. 2. № 10. С. 45–53.

9. Шилова И.И. Первичные сукцессии растительности на техногенных песчаных обнажениях в нефтегазодобывающих районах Среднего Приобья // *Экология*. 1977. № 6. С. 5–14.

10. Коронатова Н.Г., Милыева Е.В. Сукцессия фитоценозов при зарастании выработанных карьеров в подзоне северной тайги Западной Сибири // *Сибирский экологический журнал*. 2011. № 5. С. 697–705.

11. Rahmonov O., Snytko V.A., Szczypek T., Parusel T. Vegetation development on post-industrial territories of the Silesian Upland (Southern Poland) // *Geography and Natural Resources*. 2013. No. 34. P. 166–173.

12. Osyczka P., Rola K. Cladonia lichens as the most effective and essential pioneers in strongly contaminated slag dumps // *Central European Journal of Biology*. 2013. No. 8 (9). P. 876–887.

References

1. Macdonald S.E., Landhäuser S.M., Skousen J., Franklin J., Frouz J., Hall S., Jacobs D.F., Quideau S.

Forest restoration following surface mining disturbance: challenges and solutions // *New Forests*. 2015. No. 46. P. 703–732. doi: 10.1007/s11056-015-9506-4

2. Zipper C., Burger J., Skousen J., Angel P., Barton C., Davis V., Franklin J. Restoring forests and associated ecosystem services on Appalachian coal surface mines // *Environmental Management*. 2011. No. 47. P. 751–765. doi: 10.1007/s11056-015-9502-8

3. Chen H.Y.H., Biswas S.R., Sobey T.M., Brassard B.W., Bartels S.F. Reclamation strategies for mined forest soils and overstorey drive understory vegetation // *Journal of applied ecology*. 2017. No. 55 (2). P. 926–936. doi: 10.1111/1365-2664.13018

4. Zheleznova G.V., Kuznetsova E.G., Evdokimova T.V., Turubanova L.P. Monitoring on plant cover formation at technogenically disturbed areas of the Usinsk oil deposit // *Ecology J*. 2005. No. 4. P. 269–274 (in Russian).

5. Kapelkina L.P., Kazakov L.A. Forest cultures on nepheline sands // *Forestry J*. 1981. No. 1. P. 33–34 (in Russian).

6. Semenov B.A., Tsvetkov V.F., Chibisov G.A., Elizarov F.P. Near-tundra forests of the European part of Russia. Arkhangelsk: SevNIILKH, 1998. 332 p. (in Russian).

7. Theory and practice of soil chemical analysis / Ed. L.A. Vorobyeva. Moskva: GEOS, 2006. 400 p. (in Russian).

8. Shushpannikova G.S. The analysis of particular floras in the low stream basin of the Kolva River (Komi ASSR) // *Herald of the LSU*. 1987. Ser. 3. V. 2. No. 10. P. 45–53 (in Russian).

9. Shilova I.I. Initial vegetation successions on technogenic sandy outcrops in oil extracting areas of the Middle Ob River Region // *Ecology J*. 1977. No. 6. P. 5–14 (in Russian).

10. Koronatova N.G., Milyaeva E.V. Succession of phytocenoses in case of revegetating barrow pits in the north taiga subzone of West Siberia // *Siberian Ecological Journal*. 2011. No. 5. P. 697–705 (in Russian).

11. Rahmonov O., Snytko V.A., Szczypek T., Parusel T. Vegetation development on post-industrial territories of the Silesian Upland (Southern Poland) // *Geography and Natural Resources*. 2013. No. 34. P. 166–173. doi: 10.1134/S1875372813010137

12. Osyczka P., Rola K. Cladonia lichens as the most effective and essential pioneers in strongly contaminated slag dumps // *Central European Journal of Biology*. 2013. No. 8 (9). P. 876–887. doi: 10.2478/s11535-013-0210-0

Прогнозная оценка поглощения углерода при восстановлении тугайных лесов

© 2019. Д. Г. Замолодчиков¹, д. б. н., г. н. с., В. В. Каганов¹, н. с.,
О. Н. Липка², к. г. н., координатор проектов,

¹Центр по проблемам экологии и продуктивности лесов РАН,
117997, Россия, г. Москва, ул. Профсоюзная, д. 84/32, стр. 14,

²Всемирный фонд дикой природы (WWF России),
109240, Россия, г. Москва, ул. Николоямская, д. 19, стр. 3,
e-mail: dzamolod@mail.ru

Дана прогнозная оценка углеродного эффекта от облесения части площадей дельты р. Или (Казахстан) в рамках проекта по восстановлению тугайных лесов и реинтродукции туранского тигра. Рассчитаны типовые поглощения углерода фитомассой древостоя по древесным породам, характерным для рассматриваемой территории (туранга разнолистная, лох остроплодный, ивы Вильгельмса и джунгарская). Дан прогноз поглощения углерода фитомассой древостоев на 30 лет при лесовосстановлении, осуществляемом на площади 200 тыс. га. Величина поглощения углерода возрастает от 2 тыс. т С/год в первый год до максимальных 264 тыс. т С/год на 16-м году осуществления проекта, затем снижается до 101 тыс. т С/год к 30-му году. Суммарное накопление углерода в фитомассе за 30 лет составит 4,63 млн т С (16,98 млн т CO₂).

Ключевые слова: лесовосстановление, тугайные леса, фитомасса, поглощение углерода, прогнозирование.

Projection of carbon sequestration in riparian reforestation

© 2019. D. G. Zamolodchikov¹ ORCID: 0000-0002-2466-9003²

V. V. Kaganov¹ ORCID: 0000-0003-2593-2755³, O. N. Lipka² ORCID: 0000-0003-4020-2419⁴

¹Center for Ecology and Productivity of Forests RAS,
bldg. 14, 84/32, Profsovnaya St., Moscow, Russia, 117997,

²World Wildlife Fund (WWF Russia),

bldg. 3, 19, Nikoloyamskaya St., Moscow, Russia, 109240,
e-mail: dzamolod@mail.ru

The projection of carbon effects from partial reforestation of delta of the Ili river (Kazakhstan) in frame of project on restoration of riparian forests and reintroduction of Caspian tiger is developed. Typical values of carbon sequestration by biomass of stands are calculated for tree species, native at studied area (*Populus diversifolia* Schrenk, *Elaeagnus oxycarpa* Schldt., *Salix songarica* Andersson, *S. wilhelmsiana* M. Bieb.). The *P. diversifolia* stands are subdivided to good and normal conditions, *S. songarica* and *S. wilhelmsiana* are combined to *Salix* sp. group. The peculiarities of growth of carbon in biomass differ in high extent between different tree species. The rate of carbon accumulation during starting 5 years after planting is close for *P. diversifolia* at good conditions (0.71 ton C/(ha • year)) and *E. oxycarpa* (0.69 ton C/(ha • year)). The same values are lower for *P. diversifolia* at normal conditions (0.32 ton C/(ha • year)) and *Salix* sp. (0.06 ton C/(ha • year)). *P. diversifolia* at good conditions after 30 years has 54.05 ton C/ha in biomass, at normal conditions – 43.71 ton C/ha, then *Salix* sp. (31.10 ton C/ha) and *E. oxycarpa* (12.44 ton C/ha) follow. The carbon sequestration is projected for 30 years with reforestation performed at area of 200 thous. ha. This area is subdivided by tree species as follow: *P. diversifolia* at good conditions – 15%; *P. diversifolia* at normal conditions – 15%; *E. oxycarpa* – 60%; *Salix* sp. – 10%. The total area will be completely planted during 12 years with equal annual rates 8.3%, correspondent to 16677 ha per year. The annual sequestration is increased from 2 thous. ton C/year at first year of project to maximal 264 thous. ton C/year at 16th year of project rolling, then is decreased to 101 thous. ton C/year at 30th year. Total accumulation of carbon by stand biomass during 30 years is 4.63 mln ton C (16.98 million tons of CO₂). The carbon accumulation is important component of ecosystem services, which can be restored due to the project implementation.

Keywords: reforestation, riparian forests, phytomass, carbon sequestration, projection.

На территории Республики Казахстан в 2018 г. был образован новый государственный природный резерват «Иле-Балхаш», к которому примыкают заказники «Караойский» и «Прибалхашский». Основной целью создания данной особо охраняемой природной территории (ООПТ) является обеспечение базы для реинтродукции исчезнувшего вида – туранского тигра, который вымер на территории Казахстана в конце 40-х годов XX века [1]. Первоочередной задачей в преддверии восстановления популяции тигра является восстановление его местообитаний. Естественные тугайные экосистемы, представляющие собой сочетания лесных, кустарниковых и травянистых сообществ, претерпели значительные антропогенные изменения. Так, площадь лесов в дельте р. Или в настоящее время составляет всего 5%, тогда как в ненарушенном состоянии большая часть дельты, которая не покрыта водой, облесена. Лесные насаждения должны стать экологическим каркасом ООПТ. Благодаря водорегулирующей функции лесов на территории дельты, подземный сток р. Или усилится, также увеличится меженный сток, что особенно важно в маловодные годы для поддержания уровня озера Балхаш выше критической отметки 341 м над уровнем моря. Обеспечение лучшей среды обитания позволит повысить устойчивость и продуктивность экосистем резервата и примыкающих к нему заказников, что создаст условия для успешного восстановления популяции тигра. В дополнение к этим функциям лесные насаждения будут являться инструментом долговременного закрепления атмосферного углерода. В ходе своего роста и развития древесная растительность способна активно поглощать атмосферный углерод, переводя его в фитомассу живых деревьев. Впоследствии углерод фитомассы перераспределяется в пулы сухостоя (мёртвых деревьев, остающихся на корню), валяжа (крупных древесных остатков) и лесной подстилки. Часть поглощённого деревьями и травянистой растительностью углерода закрепляется в почвенном гумусе.

Для оценки эффективности лесовосстановительных мероприятий в углеродном аспекте на территории резервата необходимо провести расчёт поглощения атмосферного углерода и дать прогнозную оценку масштабов и скорости данного процесса. Для решения данной задачи, с одной стороны, необходимо определение потенциального поглощения углерода (в расчёте на единицу площади) планируемыми к созданию лесными насаждениями, с другой, –

формирование сценария лесовосстановительных мероприятий, включая величины площадей под разными древесными породами, темпы их освоения, продолжительность периода мониторинга накоплений углерода (С). Конечным результатом должна стать оценка изменений в поглощении и накоплениях углерода на территории проекта.

Цель настоящей работы – прогнозная оценка поглощения углерода при осуществлении проекта по восстановлению тугайных лесов в долине р. Или (Казахстан).

Объекты и методы

Основные породы, которые будут использоваться для лесовосстановительных работ на территории проекта, представлены турангой разнолистной (*Populus diversifolia* Schrenk), лохом остроплодным (*Elaeagnus oxycarpa* Schldl.), ивы джунгарской (*Salix songarica* Andersson) и Вильгельмса (*Salix wilhelmsiana* M. Bieb.). При выполнении лесовосстановительного проекта принято отказаться от использования интродуцированных видов древесных растений, чтобы создаваемые насаждения соответствовали критериям консервации генетических ресурсов лесов *in situ* [2]. Чтобы выполнить прогнозные расчёты накопления С, требуются сведения по ходу роста насаждений указанных древесных пород. Характеристика хода роста туранги разнолистной была осуществлена по данным работы [3], где приводятся таблицы хода роста туранги для ряда классов бонитета, которые могут быть сопоставлены с различными вариантами условий произрастания: хорошими и обычными. В таблицах хода роста стартовый возраст составлял 12–15 лет, однако для углеродных проектов большое значение имеют начальные годы осуществления. При аппроксимации начальных стадий роста туранговых насаждений авторы исходили из линейной зависимости для средней высоты и среднего диаметра, полиномиальной для густоты. Затем, с использованием видовых чисел были рассчитаны величины запасов древесины для возрастов от 1 до 11–14 лет. Результаты полевых обследований территории, проведённых в октябре 2018 г. в местах планируемого осуществления проекта (Алматинская обл. Республики Казахстан), показали высокую степень сопоставимости таблиц хода из использованного источника [3]. Это даёт основание считать вполне корректным использование указанного источника для проведения прогнозных расчётов поглощения

углерода при осуществлении посадок туранги разнолистной.

Имеющиеся в литературе сведения для лоха остроплодного характеризуют лишь динамику средней высоты и диаметра без густоты и запаса древесины. Расчёты были проведены на основе сведений по динамике средней высоты в культурах лоха узколистного [4], а также данным натурных измерений, согласно результатам которых запас стволовой древесины в типичных тугайных насаждениях лоха составляет около 15 м³/га при средней высоте деревьев 5 м. На основе совокупности всей доступной информации были восстановлены динамика средней высоты, среднего диаметра, густоты и запаса древесины лоха узколистного для интервала возраста 1–30 лет.

Информация по таксационным характеристикам ив джунгарской и Вильгельмса на текущий момент в литературе обнаружена не была. Поэтому для восстановления динамики таксационных характеристик были использованы данные по иве ломкой, произрастающей в аридных регионах [5, 6]. Результаты полевых обследований осенью 2018 г. в пойме р. Или показывают, что максимальная высота ивовых насаждений составляет около 7 м. Динамика роста ивы ломкой в высоту была скорректирована с учётом указанной величины, далее были проведены расчёты динамики таксационных характеристик для интервала возраста 1–30 лет. В силу ограниченности исходной информации как для ив, так и для лоха не удалось провести дополнительную дифференциацию по условиям местопроизрастания.

Основой для определения объёмов накопления С насаждениями, предлагаемыми для проекта, является рекомендованный руководством Межправительственной группы экспертов по изменению климата конверсионный подход [7], который заключается в том, что запасы стволовой древесины, получаемые в ходе инвентаризации лесных насаждений, пересчитываются в массу С с использованием конверсионных коэффициентов. Поскольку фракции корней, ветвей и листвы имеют функциональную связь со стволовой фракцией, их расчёт также может быть произведён конверсионным методом. Для насаждений туранги и ивы возраста 1–20 лет используется конверсионный коэффициент 0,356 т С/м³, для возраста 21–30 лет – 0,363 т С/м³, для лоха остроплодного – 0,624 т С/м³. Указанные значения известны для групп древесных пород «прочие мяг-

колиственные» (0,356; 0,363 т С/м³) и «прочие твёрдолиственные» (0,624 т С/м³) [8].

Для выполнения расчёта поглощения С на территории проекта необходим сценарий посадок лесных культур. Вся территория, планируемая для облесения, должна быть подразделена на части, соответствующие посадкам разных пород: туранги, лоха и ивы. Площади, которые запланированы под насаждения туранги разнолистной, были подразделены на части с хорошими и типичными условиями лесопригодности. Для последующего расчёта поглощения углерода было создано программное обеспечение в виде таблиц Microsoft Excel, реализующих следующий алгоритм расчёта: с величиной площади выбранного варианта лесной культуры сопоставляется величина поглощения в первый год после посадки и вычисляется их произведение. Во второй год с той же площадью сопоставляется величина поглощения за второй год, и снова по произведению оценивается суммарное поглощение. Сумма рассчитанных поглощений за все годы осуществления лесовосстановительных мероприятий в рамках проекта даёт величину С, аккумулированного в фитомассе данного типа лесного насаждения.

Программная версия алгоритма обеспечивает расчёт поглощения С вновь созданными лесными культурами на протяжении 30 лет. Для культур, созданных в первый год осуществления проекта, поглощение рассчитывается по каждому из 30 лет осуществления проекта. У насаждений, созданных во второй или последующие годы проекта, поглощение рассчитывается для периода, равного 31 год минус порядковый номер года посадки данного насаждения. Сумма по всем вариантам лесных культур разного времени создания и по всем годам проекта даёт суммарное количество С, накопленного за время осуществления проекта.

Результаты и обсуждение

Установлено, что характер изменения С фитомассы для разных древесных пород сходен и соответствует линии, асимптотически приближающейся к предельному значению (рис. 1). Однако конкретные параметры хода роста С фитомассы у разных пород заметно различаются. Туранга в хороших условиях к 30 годам достигает запаса С фитомассы 54,05 т С/га, в обычных условиях – 43,71 т С/га, далее следуют насаждения ивы (31,10 т С/га) и лоха (12,44 т С/га). При этом по скорости

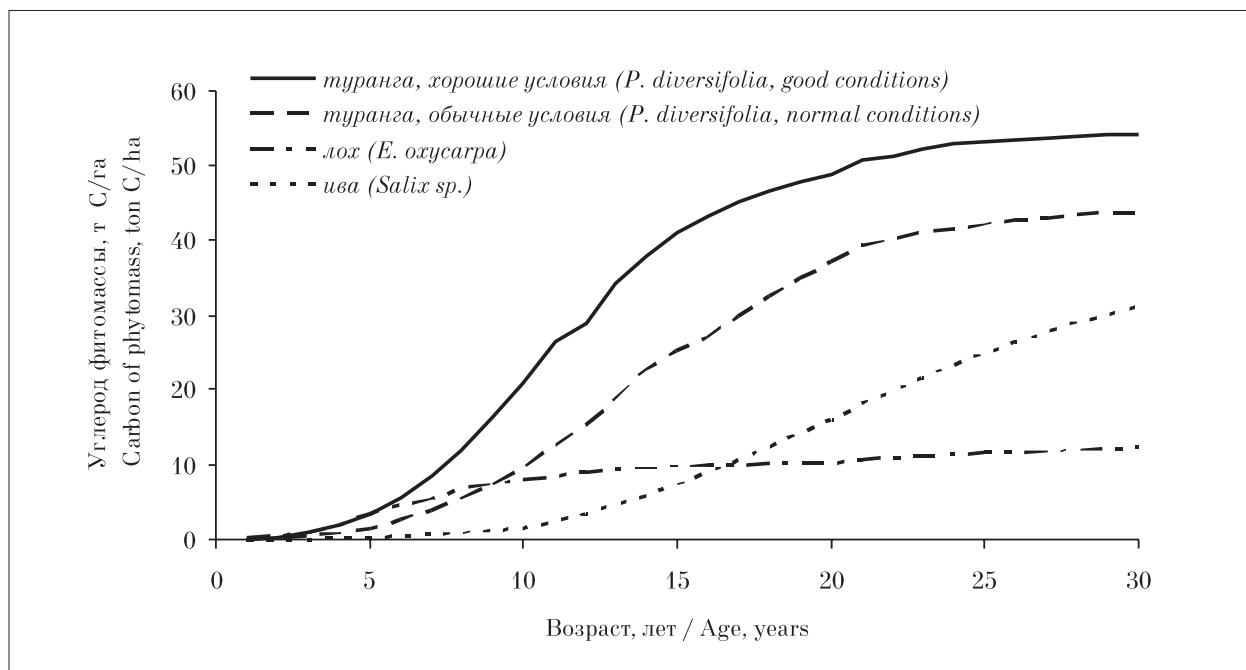


Рис. 1. Динамика запаса углерода фитомассы в насаждениях при лесовосстановлении в долине р. Или
Fig. 1. Dynamics of the carbon reserve in phytomass of stands during reforestation in the Ili river valley

накопления С в первые 5 лет после посадки лох (0,69 т С/(га · год)) близок к туранге в хороших условиях (0,71 т С/(га · год)) значительно превосходит турангу (0,32 т С/(га · год)) и иву (0,06 т С/(га · год)) в обычных условиях. Более высокая эффективность накопления С посадками лоха за первые 2 года в сравнении с топодем и вязом отмечена в экспериментально-полевой работе [9].

Расчёт поглощения С при осуществлении проекта восстановления тугайных лесов в долине р. Или базируется на следующих исходных данных. Общая площадь земель, пригодных для облесения, принята равной 200000 га. Данная площадь распределяется по породам следующим образом: туранга в хороших условиях – 15%, туранга в обычных условиях – 15%, лох – 60%, ива – 10%. Предполагается равномерное освоение площадей под посадки в течение 12 лет по 8,3% за год, что соответствует 16677 га лесопосадок за год (рис. 2). Представленные планы по устройству лесных насаждений весьма масштабны, однако их реалистичность в некоторой степени обеспечивается возможностью формирования посадочного материала из корневых отпрысков [10].

Динамика годового поглощения CO₂ при реализации данного сценария представлена на рисунке 3. Величина поглощения С возрастает от 2 тыс. т С/год в первый год до максимальных 264 тыс. т С/год на 16-м году осуществле-

ния проекта, затем снижается до 101 тыс. т С/год к 30-му году. Рост поглощения углерода в начальный период определяется двумя факторами: 1) увеличением площадей лесных культур по мере осуществления проекта, 2) приближением созданных лесных насаждений к максимальному приросту фитомассы, который у разных вариантов лесных культур наблюдается в диапазоне возрастов от 5 до 21 года. Снижение поглощения углерода после 16-го года связано с тем, что к этому времени естественный максимум прироста фитомассы у большинства созданных за первые 12 лет насаждений уже минует.

Согласно проведённым расчётам, за 30 лет лесовосстановительной деятельности в соответствии с выбранным сценарием создаваемые лесные культуры накопят 4,63 млн т С или 16,98 млн т CO₂ (рис. 4). Найденные значения поглощения углерода достаточно высоки, чтобы служить дополнительным обоснованием экологических преимуществ проекта по восстановлению тугайных лесов в долине р. Или. Имеет смысл отметить, что вновь создаваемые лесные культуры при обеспечении адекватного ухода могут в течение длительного времени сохранять более высокие величины густоты в сравнении с насаждениями, использованными для оценки углерода фитомассы (рис. 1). В этом случае поглощение углерода будет более высоким при том же сценарии освоения площадей.

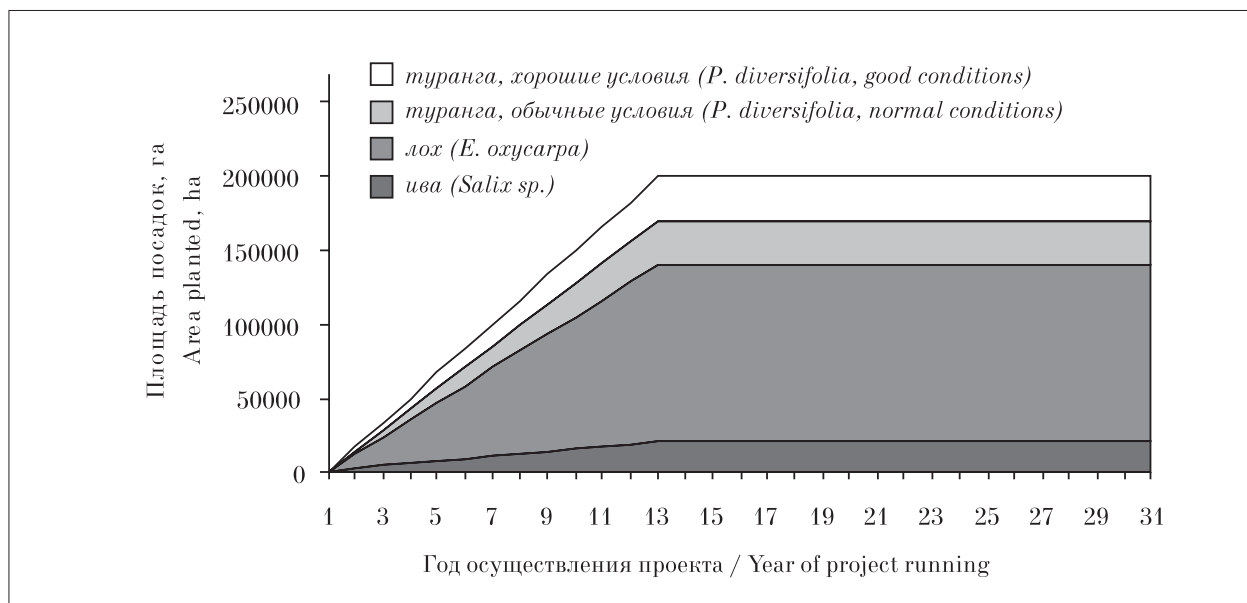


Рис. 2. Сценарий освоения площадей при планируемом лесовосстановлении в долине р. Или
 Fig. 2. Scenario of forest planting during planned reforestation in the Ili river valley

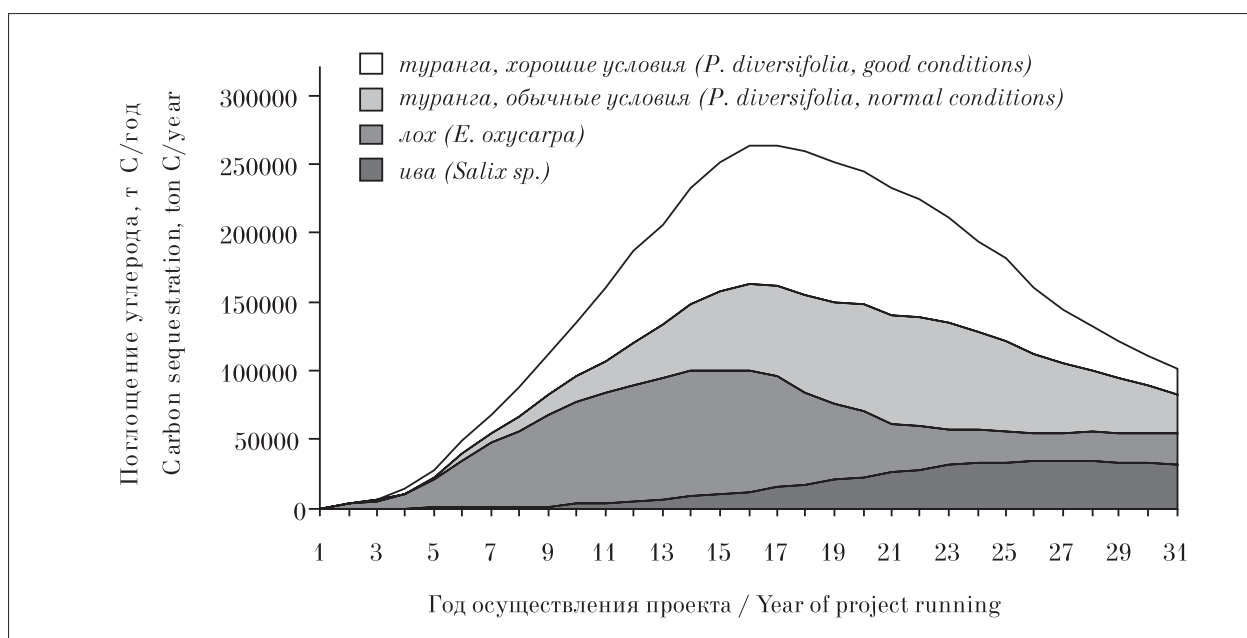


Рис. 3. Годичное поглощение углерода фитомассой древостоя при лесовосстановлении в долине р. Или
 Fig. 3. Annual carbon sequestration by the stand phytomass during reforestation in Ili river valley

Приведённые в данной работе оценки характеризуют лишь поглощение по пулу фитомассы древостоя планируемых к созданию лесных насаждений. При осуществлении лесовосстановительных проектов рекомендуется учитывать накопления С в пулах крупных древесных остатков (КДО), подстилки и почвы [7]. Для пула мёртвой древесины оценки могут быть получены расчётным образом на основе математической модели формирова-

ния пула КДО [11]. Для характеристики поглощения С пулами подстилки и почвы желательно проведение дополнительных полевых исследований [12]. В этом аспекте актуальны результаты мета-анализа изменения запаса С почвы при облесении в аридных районах [13]. Показано, что запас С почвы, как правило, увеличивается в зависимости от времени, прошедшего после посадки, повышаясь на 15% за 10 лет, на 50% за 10–30 лет, на

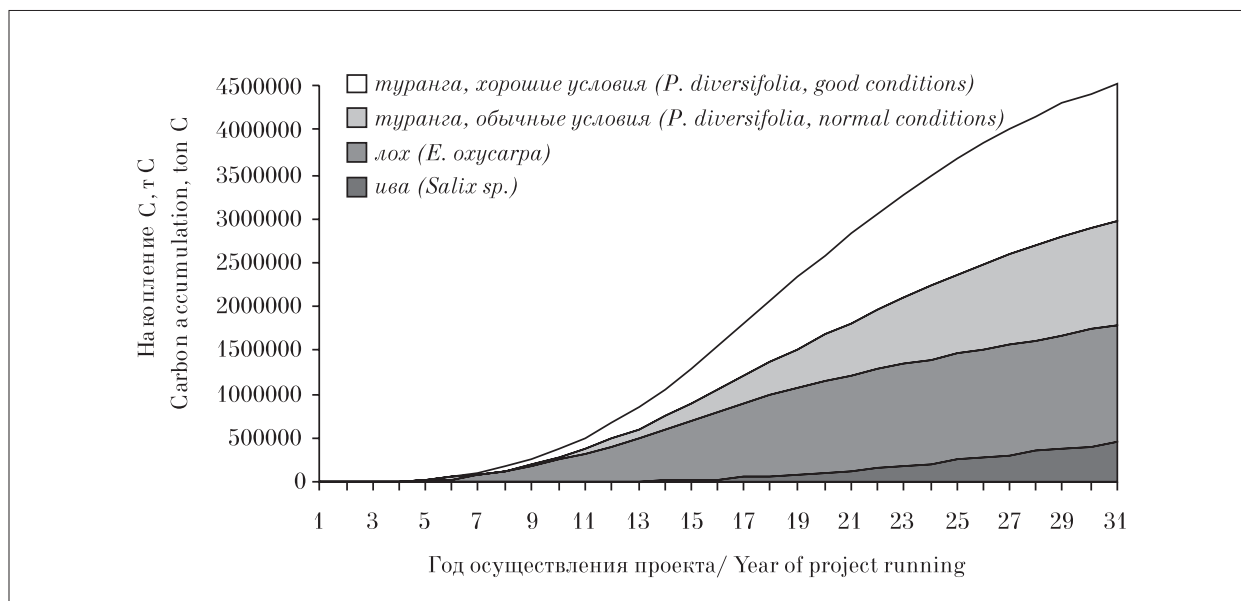


Рис. 4. Накопление углерода в фитомассе древостоя при лесовосстановлении в долине р. Или
 Fig. 4. Carbon accumulation by the stand phytomass during reforestation in Ili river valley

96% за время, большее 30 лет. Эти сведения дают основания полагать, что при облесении в районе исследования почвы могут обеспечить значимое поглощение С.

Среднее за 30 лет поглощение С на территории восстановленных лесных насаждений составляет 154 тыс. т С/год или 0,77 т С/(га • год). В 5 лесовосстановительных проектах в рамках механизма чистого развития, осуществляющихся в настоящее время в Китае на площадях от 2000 до 8671 га, за период 20 или 30 лет поглощение С составляет от 0,84 до 3,52 т С/(га • год) [14]. Близкая к нашей оценке величина 0,84 т С/га найдена для проекта по облесению во Внутренней Монголии, наиболее сходной по климатическим условиям с регионом исследования. Остальные оценки получены для проектов в провинциях Сычуань и Гуанси, расположенных в субтропической зоне и обладающих более мягким климатом. Для проекта облесения, осуществляемого в Западной Австралии на площади 44000 га, среднее за 30 лет поглощение С оценивается в 0,20 т С/га [15], что намного меньше нашей оценки. Такое соотношение вполне объяснимо более суровыми по увлажнению (около 200 мм годовых осадков) условиями Западной Австралии. Проведённые сравнения позволяют заключить, что полученные в настоящей работе величины встраиваются в ряд известных из литературы оценок в соответствии с климатическими характеристиками исследуемой территории.

Заключение

Проблемы восстановления тугайных лесов ныне активно обсуждаются для ряда речных бассейнов Центральной Азии. Восстановленные тугайные леса обеспечивают разнообразные экосистемные сервисы, в частности, стабилизацию гидрологического цикла и возможность реинтродукции редких видов животных. Существенные экологические выгоды связаны с поглощением углерода создаваемыми лесными насаждениями. Прогнозная оценка поглощения углерода на период осуществления лесовосстановительного проекта возможна на основе сведений по ходу роста используемых древесных пород и сценариям освоения площадей, предназначенных для посадок леса. При облесении ныне безлесных 200 тыс. га в долине р. Или (Казахстан) средний уровень поглощения углерода фитомассой созданных насаждений составит 154 тыс. т С/год (565 тыс. т CO₂/год). За 30 лет созданные лесные культуры накопят 4,63 млн т С (16,98 млн т CO₂). Указанные объёмы поглощения С следует принимать во внимание при обосновании эколого-экономической значимости проектов по восстановлению тугайных лесов.

Работа выполнена при поддержке РФФ № 19-77-30015 (оценка динамики запасов углерода в фитомассе) и WWF России (расчёт поглощения углерода по сценарию лесовосстановления).

Литература

References

1. Царук О.И., Чикин Ю.А. Туранский тигр – анализ современной ситуации. М.: WWF России, 2011. С. 1–37.
2. Александров А., Пандева Д. Лесные генетические ресурсы Европы, их сохранение и использование // Теоретическая и прикладная экология. 2008. № 1. С. 80–84.
3. Сипович В.В. Исследование хода роста туранговых насаждений // Известия высших учебных заведений. Лесной журнал. 1963. № 2. С. 27–29.
4. Муратчаева П.М.-С. Мониторинг состояния древесных пород в искусственных насаждениях Терско-Кумской низменности // Аридные экосистемы. 2014. Т. 20. № 1 (58). С. 39–44.
5. Горобец А.И. Продуктивность и санитарное состояние древостоев ивы ломкой в пойме реки Дон // Лесотехнический журнал. 2015. Т. 5. № 1 (17). С. 7–17.
6. Горобец А.И. Продуктивность и санитарное состояние древостоев ивы ломкой в поймах средних и малых рек Центрального Черноземья // Лесотехнический журнал. 2016. Т. 6. № 4 (24). С. 49–54.
7. Руководящие указания по эффективной практике для землепользования, изменений в землепользовании и лесного хозяйства. МГЭИК, 2003. [Электронный ресурс] https://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/gpplulucf/gpplulucf_languages.html (Дата обращения: 02.07.2019).
8. Замолодчиков Д.Г., Уткин А.И., Честных О.В. Коэффициенты конверсии запасов насаждений в фитомассу основных лесообразующих пород России // Лесная таксация и лесоустройство. 2003. Вып. 1 (32). С. 119–127.
9. Khamzina A., Lamers J.P.A., Vlek P.L.G. Tree establishment under deficit irrigation on degraded agricultural land in the lower Amu Darya River region, Aral Sea Basin // Forest Ecology and Management. 2008. V. 255. P. 168–178.
10. Байтулин И.О., Байтулин А.И., Белгибаева Г.И. Сохранение и восстановление пойменных (тугайных) лесов реки Сырдарья // Рациональное использование и сохранение лесных ресурсов: Международная научная конференция. Выпуск 21. Бишкек: Илим, 2006. С. 47–51.
11. Замолодчиков Д.Г. Оценка пула углерода крупных древесных остатков в лесах России с учётом влияния пожаров и рубок // Лесоведение. 2009. № 4. С. 3–15.
12. Каганов В.В. Изменение экосистемных запасов углерода при облесении в степной и полупустынной зонах Европейской части России // Проблемы региональной экологии. 2012. № 4. С. 7–12.
13. Zhang Y.-Q., Liu J.-B., Jia X., Qin S.-G. Soil organic carbon accumulation in arid and semiarid areas after afforestation: a meta-analysis // Pol. J. Environ. Stud. 2013. V. 22. No. 2. P. 611–620.
14. Zhou W., Gong P., Gao L. A review of carbon forest development in China // Forests. 2017. V. 8. P. 295.
15. Suganuma H., Ito T., Tanouchi H., Egashira Y., Kurosawa K., Kojima T. Estimation of carbon sequestration potential of arid land afforestation using satellite image analysis and ground truth // Journal of Arid Land Studies. 2012. V. 22. No. 1. P. 69–72.

1. Tsaruk O.I., Chikin Yu.A. Caspian tiger – analysis of recent situation. Moskva: WWF Rossii, 2011. P. 1–37 (in Russian).
2. Alexandrov A., Pandeva D. Forest genetic resources of Europe, their conservation and use // Theoretical and Applied Ecology. 2008. No. 1. P. 80–84 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2008-1-080-84
3. Sipovich V.V. Research of growth curves of turanga stands // Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Lesnoy zhurnal. 1963. No. 2. P. 27–29 (in Russian).
4. Muratchaeva P.M.-S. Monitoring of the condition of tree species in artificial plantings of the Terek–Kuma lowland // Aridnye ekosistemy. 2014. V. 4. No. 1. P. 35–38. doi: 10.1134/S2079096114010053
5. Gorobets A.I. Productivity and sanitary state of stands of brittle willow in floodplain of the Don River // Lesotekhnicheskij zhurnal. 2015. V. 5. No. 1. P. 7–17 (in Russian).
6. Gorobets A.I. Productivity and sanitary state of stands of brittle willow in floodplain of medium and small rivers of Central Chernozemye // Lesotekhnicheskij zhurnal. 2016. V. 6. No. 4. P. 49–54 (in Russian).
7. Good Practice Guidance for Land Use, Land–Use Change and Forestry. IPCC, 2003. [Internet resource] https://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/gpplulucf/gpplulucf_languages.html (Accessed: 02.07.2019).
8. Zamolodchikov D.G., Utkin A.I., Chestnykh O.V. Coefficients of conversion of growing stock volumes to phytomas for main forest forming species of Russia // Lesnaya taksatsiya i lesoustroystvo. 2003. No. 1. P. 119–127 (in Russian).
9. Khamzina A., Lamers J.P.A., Vlek P.L.G. Tree establishment under deficit irrigation on degraded agricultural land in the lower Amu Darya River region, Aral Sea Basin // Forest Ecology and Management. 2008. V. 255. P. 168–178.
10. Baitulin I.O., Baitulin A.I., Belgibaeva G.I. Conservation and restoration of floodplain (riparian) forests of Syr Darya river // Rational use and conservation of forest resources: Mezhdunarodnaya nauchnaya konferentsiya. V. 21. Bishkek: Ilim, 2006. P. 47–51 (in Russian).
11. Zamolodchikov D.G. Assessment of carbon pool in coarse woody debris in Russian forests with accounting of influence of fires and felling // Lesovedenie. 2009. No. 4. P. 3–15 (in Russian).
12. Kaganov V.V. Change of ecosystem carbon reserves during afforestation in the steppe and semi-desert zones of the European part of Russia // Problemy regionalnoy ekologii. 2012. No. 4. P. 7–12 (in Russian).
13. Zhang Y.-Q., Liu J.-B., Jia X., Qin S.-G. Soil organic carbon accumulation in arid and semiarid areas after afforestation: a meta-analysis // Polish Journal of Environmental Studies. 2013. V. 22. No. 2. P. 611–620.
14. Zhou W., Gong P., Gao L. A review of carbon forest development in China // Forests. 2017. V. 8. P. 295. doi: 10.3390/f8080295
15. Suganuma H., Ito T., Tanouchi H., Egashira Y., Kurosawa K., Kojima T. Estimation of carbon sequestration potential of arid land afforestation using satellite image analysis and ground truth // Journal of Arid Land Studies. 2012. V. 22. No. 1. P. 69–72.

Оценка сорбционных способностей различных видов микромицетов рода *Fusarium* по отношению к ионам тяжёлых металлов

© 2019. С. Г. Скугорева^{1,2}, к. б. н., доцент, н. с.,
Г. Я. Кантор^{1,2}, к. т. н., н. с.,

Л. И. Домрачева^{1,3}, д. б. н., профессор, в. н. с.,

Т. К. Шешегова^{2,4}, д. б. н., зав. лабораторией, профессор,

¹Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
167982, Россия, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,

²Вятский государственный университет,
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,

³Вятская государственная сельскохозяйственная академия,
610017, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 133,

⁴ФАНЦ Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого,
610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, д. 166а,

e-mail: skugoreva@mail.ru, grigory_kantor@mail.ru, dli-alga@mail.ru

Изучена кинетика сорбции ионов тяжёлых металлов (ТМ) меди(II), свинца(II) и кадмия из растворов их нитратов с концентрацией $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л микромицетами р. *Fusarium*: *F. oxysporum* Schltdl. Г-15, *F. poae* (Peck) Wollenw PK-15, *F. sporotrichioides* Sherb. (Т-О 7/3) и *F. culmorum* (Smith) Sacc. Выявлено, что кинетика сорбции некоторых сорбентов для ряда ТМ хорошо описывается уравнением псевдо-первого порядка, а других сорбентов – уравнением псевдо-второго и модифицированного второго порядка.

Для сравнения сорбционных возможностей различных видов по отношению к ТМ использовали равновесную удельную массу сорбата (a_e), начальную скорость сорбции ($v_{нач.}$) и время сорбции 95% или 99% от значения a_e ($t_{95\%}/t_{99\%}$). Сорбция ионов кадмия протекает с заметно более низкой скоростью по сравнению с ионами меди(II) и свинца(II): начальная скорость сорбции была в 2,6–12,3 раза и 5,6–48,1 раза меньше по сравнению с медью и свинцом соответственно; $t_{95\%}$ – 4,0–25,4 и 6,1–18,9 раза больше; $t_{99\%}$ – в 7,6–148,2 и 3,8–61,2 раза больше.

Значения равновесной массы сорбата, которая характеризуют ёмкость сорбента, варьировали в интервале от 0,099 до 0,108 ммоль/г, при сорбции ионов кадмия *F. poae* и *F. sporotrichioides* значения были несколько ниже и составили 0,078 и 0,090 ммоль/г. Наибольшей скоростью сорбции по отношению к ионам свинца и меди характеризовались *F. oxysporum* и *F. poae*, а к ионам кадмия – *F. culmorum* и *F. sporotrichioides*.

Таким образом, различия в сорбции кадмия и других исследованных ТМ (свинец, медь) оказались наиболее существенными, чем межвидовые различия микромицетов.

Ключевые слова: микромицеты, *Fusarium*, биосорбция, кинетика сорбции, модели кинетики, равновесная (удельная) масса сорбата a_e , начальная скорость сорбции $v_{нач.}$, время сорбции.

Assessment of sorption abilities of various species of *Fusarium* micromycetes in relation to heavy metal ions

© 2019. S. G. Skugoreva^{1,2} ORCID: 0000-0002-5902-5187[†]

G. Ya. Kantor^{1,2} ORCID: 0000-0002-6462-6702[†]

L. I. Domracheva^{1,3} ORCID: 0000-0002-7104-3337[†]

T. K. Sheshegova^{3,4} ORCID: 0000-0003-2371-4949[†]

¹Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Division RAS,
28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Komi Republic, Russia, 167982,

²Vyatka State University,

36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,

³Vyatka State Agricultural Academy,

133, Oktyabrskiy Prospect, Kirov, Russia, 610017,

⁴Federal Agrarian Scientific Center of Northeast named N. V. Rudnitsky,

166a Lenina St., Kirov, Russia, 610007,

e-mail: skugoreva@mail.ru, grigory_kantor@mail.ru, dli-alga@mail.ru

The kinetics of sorption of heavy metal (HM) ions of copper(II), lead(II) and cadmium from solutions of their nitrates with a concentration of $1 \cdot 10^{-4}$ mol/L by micromycetes of the *Fusarium* genus (*F. oxysporum* Schltdl. G-15, *F. poae* (Peck) Wollenw PK-15, *F. sporotrichioides* Sherb. (T-O 7/3) and *F. culmorum* (Smith) Sacc.) was studied. It was revealed that the sorption kinetics by some sorbents for a number of HMs is well described by the pseudo-first order equation, and for other sorbents – by the pseudo-second and modified second order equation.

To compare the sorption capabilities of various species with respect to HM, the equilibrium relative mass of the sorbate (a_e), the initial sorption rate (v_{start}), and the sorption time for reaching 95 or 99% of the a_e value ($t_{95\%} / t_{99\%}$) were used. Sorption of cadmium ions proceeds at a noticeably lower rate compared to copper(II) and lead(II) ions: the initial sorption rate was 2.6–12.3 times and 5.6–48.1 times lower compared to copper and lead, respectively; $t_{95\%}$ – 4.0–25.4 and 6.1–18.9 times longer; $t_{99\%}$ – 7.6–148.2 and 3.8–61.2 times longer.

The values of the equilibrium mass of the sorbate characterizing the capacity of the sorbent, varied in the range 0.099 to 0.108 mmol/g, while sorption values of cadmium ions by *F. poae* and *F. sporotrichioides* were slightly lower and amounted to 0.078 and 0.090 mmol/g. *F. oxysporum* and *F. poae* were characterized by the highest sorption rates with respect to lead and copper ions, and *F. culmorum* and *F. sporotrichioides* – to cadmium ions.

Thus, the differences in the sorption of cadmium and other HMs studied (lead, copper) turned out to be more significant than the interspecies differences of micromycetes.

Keywords: micromycetes, *Fusarium*, biosorption, sorption kinetics, kinetics models, equilibrium (specific) mass of sorbate a_e , initial sorption rate $v_{нач.}$, sorption time.

В настоящее время загрязнение почвы и воды соединениями тяжёлых металлов (ТМ) является одной из глобальных экологических проблем [1]. При очистке загрязнённых сточных вод традиционные методы основаны на таких процессах, как адсорбция, коагуляция, флокуляция, ионный обмен, мембранное разделение и осаждение. К недостаткам подобных технологий относятся высокая стоимость, неполное удаление загрязнителей, высокое энергопотребление и образование токсичных отходов [2, 3].

Многообещающей альтернативной технологией очистки сточных вод является биосорбция. В её основе лежит способность живых организмов, прежде всего, микроорганизмов (МО) аккумулировать ТМ из растворов [4]. К достоинствам биосорбции относят экологическую безопасность, простоту, эффективность очистки, доступность, дешевизну сорбентов и возможность их регенерации [5, 6].

В качестве высокоэффективных биосорбентов используют бактерии, водоросли и грибы, включая дрожжи [7]. В частности, показан высокий потенциал биомассы грибов в качестве биосорбента для удаления ионов ТМ из загрязнённых вод [8, 9]. Они способны накапливать не только микроэлементы (Cu, Zn, Mn и др.), но и неэссенциальные металлы (U, Ni, Cd и Hg) [10].

Этот процесс происходит благодаря высокой степени адаптации микромицетов и их устойчивости к действию ТМ, способности аккумулировать и трансформировать соединения ТМ [11]. Среди микромицетов представители р. *Fusarium* имеют обширный ареал, занимая различные экологические ниши [12], обладают повышенной устойчивостью к загрязнению почв, в том числе соединениями ТМ [13–15].

При этом фузарии являются активными сорбентами ТМ. Показано, что при экспозиции культуры *F. oxysporum* в течение 7 сут степень извлечения из растворов сульфатов меди и никеля с концентрацией 20 мг/л для ионов меди составляла 58,8%, а для ионов никеля – 36,5% [16]. Установлено, что биомасса *F. oxysporum* обладает высокой сорбционной способностью по отношению к ионам Pb(II), при этом изотерму адсорбции хорошо описывают модели Ленгмюра и Флори-Хаггинса. Методом инфракрасной спектроскопии с Фурье-преобразованием подтверждено, что происходит взаимодействие между ионами и активными функциональными группами биомассы *F. oxysporum* [17].

Показано, что через 1 сутки экспозиции живого мицелия *F. culmorum* в растворе нитрата свинца (II) с концентрацией 10^{-4} моль/л происходило снижение концентрации Pb^{2+} в растворе и накопление элемента в мицелии (23,2 мг/г сухой массы) [18, 19]. Кинетика сорбции ионов свинца(II) и меди(II) сухим мицелием *F. culmorum* хорошо описывается уравнением псевдо-второго порядка. Способность к сорбции у микромицета значительно выше по сравнению с активированным углем и цеолитом [19, 21].

Целью данной работы было дать сравнительную характеристику сорбционной способности различных видов микромицетов р. *Fusarium* по отношению к ионам меди(II), свинца(II) и кадмия.

Объекты и методы исследования

При проведении опытов по сорбции ионов ТМ использовали четыре вида микромицетов рода *Fusarium*: *F. oxysporum* Schltdl. Г-15 (вы-

делен из корней гороха), *F. poae* (Peck) Wollenw PK-15 (выделен из корней озимой ржи), *F. sporotrichioides* Sherb. (Т-О 7/3) (выделен из зерна озимой ржи), *F. culmorum* (Smith) Sacc. (музейный штамм из Вятской ГСХА). Культивирование мицелия грибов проводили в чашках Петри в течение 3 месяцев на агаризованной среде Чапека [22].

Перед проведением эксперимента по изучению кинетики сорбции ионов ТМ мицелий микромицетов тщательно отмывали от питательной среды дистиллированной водой, высушивали до постоянной массы, измельчали и растирали в фарфоровой ступке. Измерение содержания ионов свинца(II), меди(II) и кадмия в растворе проводили потенциометрическим методом на иономере «Эксперт-001», подключённом к персональному компьютеру, с ионоселективными электродами, чувствительными к концентрации ионов ТМ в водном растворе. Опыт проводили с использованием магнитной мешалки при температуре 23 ± 1 °С. Перед работой электроды калибровали.

В стакан наливали 50 мл раствора нитрата ТМ (нитрат свинца(II), меди(II), кадмия) с концентрацией $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л (М), погружали в раствор магнит, ионоселективный электрод, рН-электрод и двухключевой электрод сравнения, включали мешалку [1]. Запускали программу приёма данных с иономера «Эксперт-001». Пробы сухих сорбентов взвешивали (средняя масса сорбента 0,0500 г), затем быстро вносили в стакан с раствором нитрата ТМ. Для приёма и обработки данных использовали программу EXP2PR, разработанную ООО «ЭКОНИКС-ЭКСПЕРТ» (версия от 26.03.2018), которая позволяет в режиме реального времени записывать кривые кинетики сорбции ионов ТМ.

При описании кинетики сорбции использовали модели псевдо-первого и псевдо-второго порядков, модифицированную модель второго порядка и модель Еловича [23–25]. Значения параметров кинетических моделей, усреднённые за полное время каждого измерения, были найдены методом наименьших квадратов при помощи надстройки «Поиск решения» программного пакета Microsoft Office Excel. При подборе уравнения модели кинетики рассчитывали коэффициент детерминации r^2 по формуле:

$$r^2 = 1 - \frac{D_1}{D_2} \quad (1),$$

где D_1 – дисперсия разности экспериментальных и расчётных данных; D_2 – дисперсия экспериментальных данных.

Результаты и обсуждение

В ходе исследования получены экспериментальные кривые сорбции ионов меди(II), свинца(II) и кадмия. На рисунках 1–3 приведены кривые кинетики сорбции ионов свинца(II), меди(II) и кадмия различными видами микромицетов р. *Fusarium* из растворов нитратов ТМ.

Для сравнительной характеристики сорбционной способности различных видов подбирали математическую модель [23, 24], оптимально описывающую кинетику сорбции. Подбор модели осуществляли по максимальным значениям коэффициента детерминации r^2 (табл. 1). На рисунке 4 приведён пример иллюстрации подбора математической модели для описания кинетики сорбции меди(II) микромицетом *F. culmorum*. В данном случае кинетику сорбции наиболее точно описывает модель псевдо-первого порядка ($r^2 = 0,9934$).

В целом, следует отметить, что для половины сорбентов и ионов ТМ наиболее приемлемо уравнение псевдо-первого порядка, для другой половины – уравнение модифицированного второго порядка и лишь для *F. poae* сорбция кадмия хорошо описывается уравнением Еловича (табл. 1).

Так как кинетика сорбции ионов ТМ исследованными видами микромицетов р. *Fusarium* описывается различными моделями, то для сравнения видов использовали такие параметры сорбентов, как равновесную удельную массу сорбата (a_e), начальную скорость сорбции ($v_{нач.}$) и время сорбции 95% и 99% от значения a_e ($t_{95\%}/t_{99\%}$) (рис. 5). Начальную скорость сорбции рассчитывали по формуле:

$$v_{нач.} = \frac{a_{t_1} - a_{t_0}}{t_1 - t_0}, \quad (2)$$

где t – время (с): $t_0 = 0$ с, $t_1 = 1,123$ с; a_i – удельная масса сорбата по наиболее оптимальной модели (ммоль/г): a_{t_0} при $t = t_0$, a_{t_1} при $t = t_1$.

Под временем $t_{95\%}/t_{99\%}$ понимали время, за которое происходило достижение в растворе 95% и 99% соответственно от значения равновесной (предельной) удельной масса сорбата a_e по наиболее оптимальной для сорбента модели.

Значения равновесной удельной массы сорбата, характеризующей ёмкость сорбента,

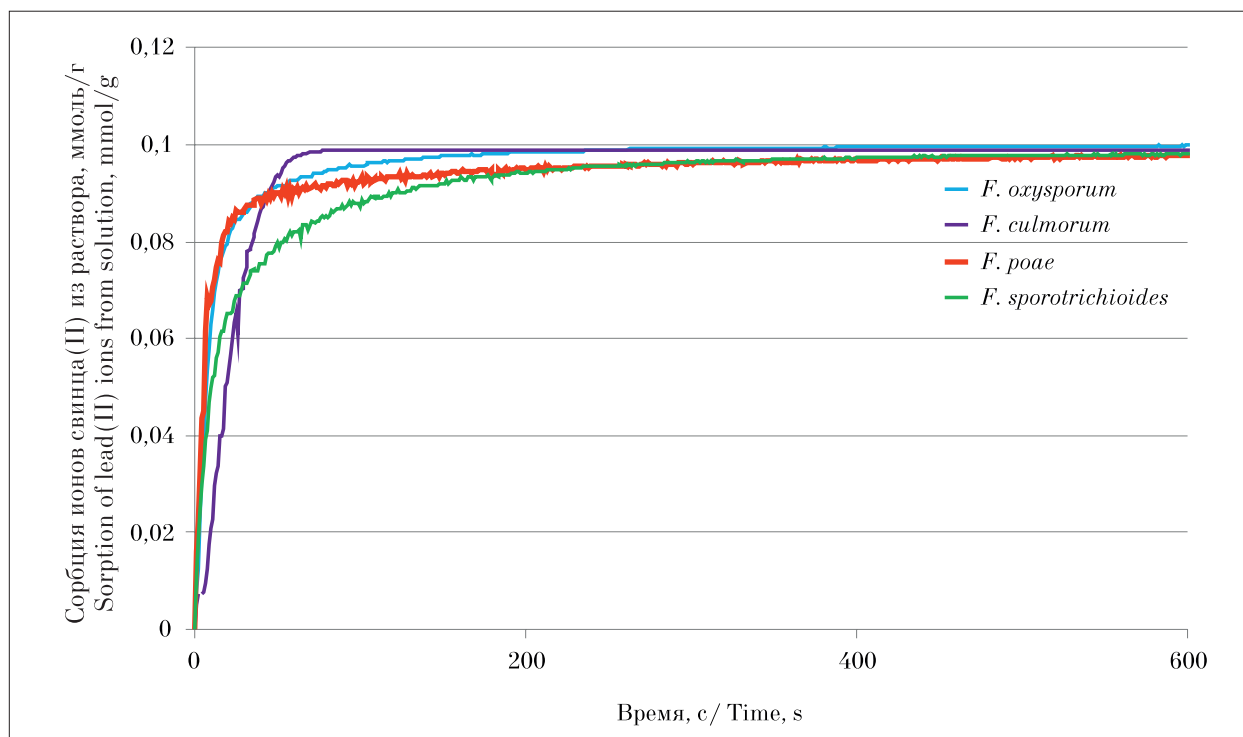


Рис. 1. Кривые кинетики сорбции ионов свинца(II) из растворов микромицетами р. *Fusarium*, ммоль/г
Fig. 1. Kinetic curves of the sorption of lead(II) ions from solutions by micromycetes of the genus *Fusarium*, mmol/g

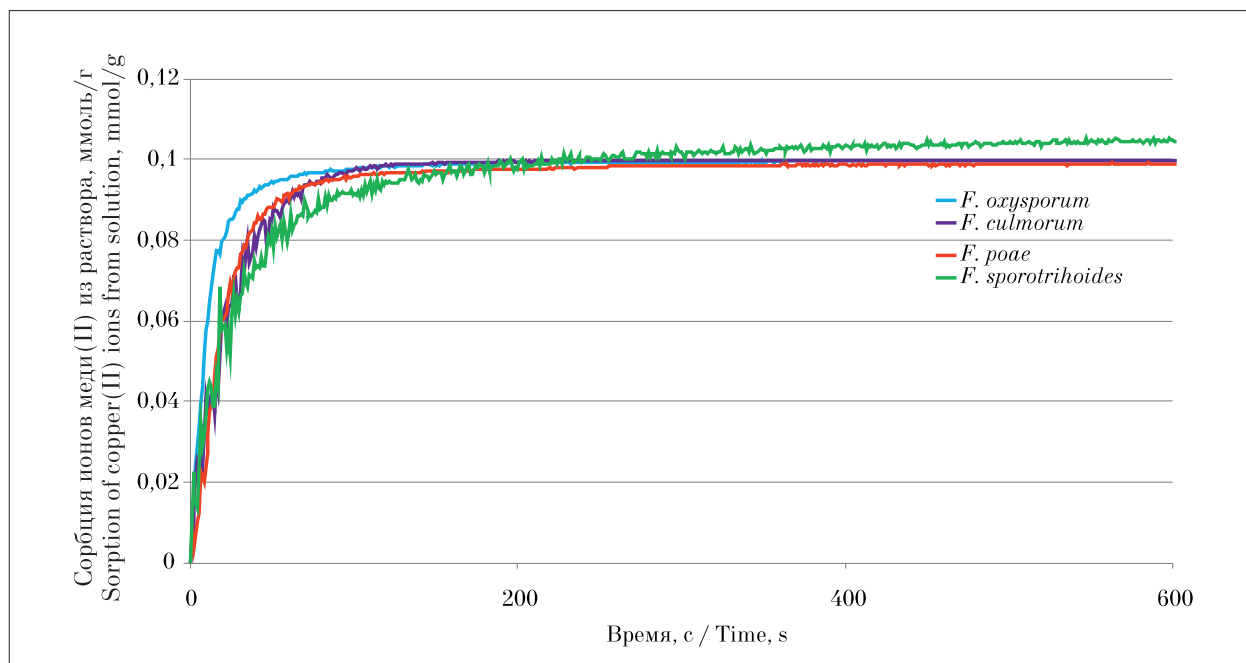


Рис. 2. Кривые кинетики сорбции ионов меди(II) из растворов микромицетами р. *Fusarium*, ммоль/г
Fig. 2. Kinetic curves of the sorption of copper(II) ions from solutions of micromycetes by the genus *Fusarium*, mmol/g

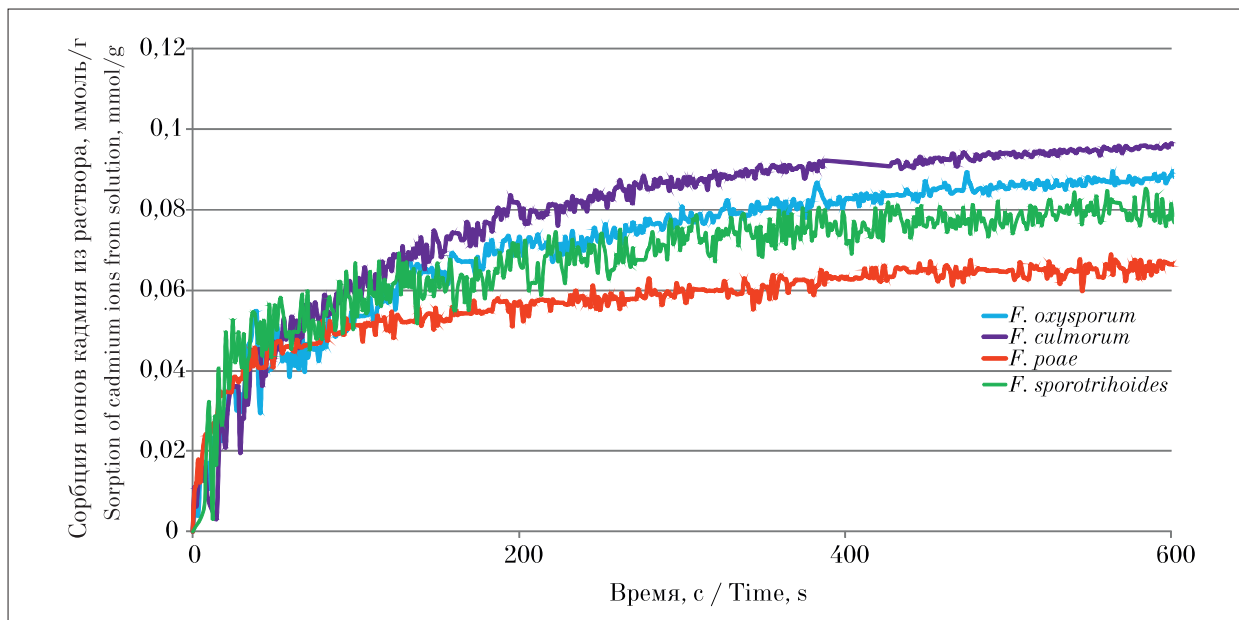


Рис. 3. Кривые кинетики сорбции ионов кадмия из растворов микромицетами р. *Fusarium*, ммоль/г
Fig. 3. Kinetic curves of the sorption of cadmium ions from solutions by micromycetes of the genus *Fusarium*, mmol/g

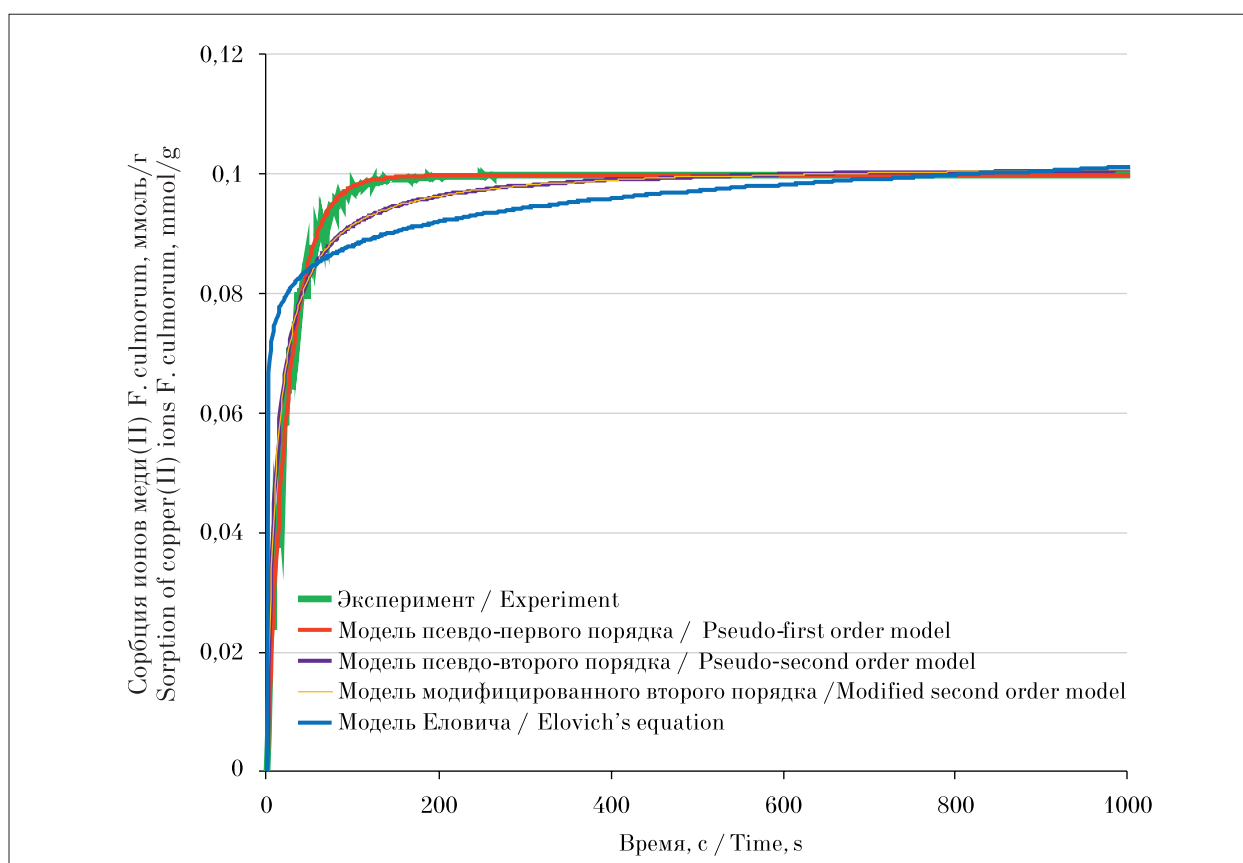


Рис. 4. Подбор моделей для описания кинетики сорбции ионов меди(II) *F. culmorum*
Fig. 4. Selection of models for describing the kinetics of sorption of copper(II) ions by *F. culmorum*

Таблица 1 / Table 1

Результаты статистической обработки (r^2) кинетических кривых сорбции тяжёлых металлов микромицетами р. *Fusarium* моделями химической кинетики
 Results of statistical processing (r^2) of kinetic curves of sorption of heavy metals by micromycetes of the genus *Fusarium* using chemical kinetics models

| Вид микромицета Species of micromycete | Модель / Model | | | |
|---|--|---|--|--------------------------------------|
| | псевдо-первого порядка pseudo-first order | псевдо-второго порядка pseudo-second order | модифицированного второго порядка modified second order | Модель Еловича Elovich's equation |
| Cu ²⁺ | | | | |
| <i>F. oxysporum</i> | <u>0,9877</u> | 0,9543 | 0,9543 | 0,4921 |
| <i>F. culmorum</i> | <u>0,9934</u> | 0,9274 | 0,9274 | 0,4979 |
| <i>F. poae</i> | <u>0,9893</u> | 0,9298 | 0,9298 | 0,5967 |
| <i>F. sporotrichioides</i> | 0,9341 | <u>0,9905</u> | <u>0,9905</u> | 0,8323 |
| Pb ²⁺ | | | | |
| <i>F. oxysporum</i> | <u>0,9949</u> | 0,9829 | 0,9829 | 0,5704 |
| <i>F. culmorum</i> | <u>0,9728</u> | 0,8487 | 0,8487 | 0,4013 |
| <i>F. poae</i> | 0,8751 | <u>0,9782</u> | <u>0,9782</u> | 0,6915 |
| <i>F. sporotrichioides</i> | 0,8791 | <u>0,9954</u> | <u>0,9963</u> | 0,7442 |
| Cd ²⁺ | | | | |
| <i>F. oxysporum</i> | 0,9170 | 0,9774 | <u>0,9845</u> | 0,9569 |
| <i>F. culmorum</i> | 0,9593 | <u>0,9875</u> | <u>0,9876</u> | 0,9066 |
| <i>F. poae</i> | 0,6768 | 0,8860 | 0,9498 | <u>0,9787</u> |
| <i>F. sporotrichioides</i> | 0,9305 | <u>0,9899</u> | <u>0,9899</u> | 0,6042 |

Примечание/Note: жирным шрифтом с подчеркиванием выделены максимальные значения / maximum values are highlighted in bold with underline.

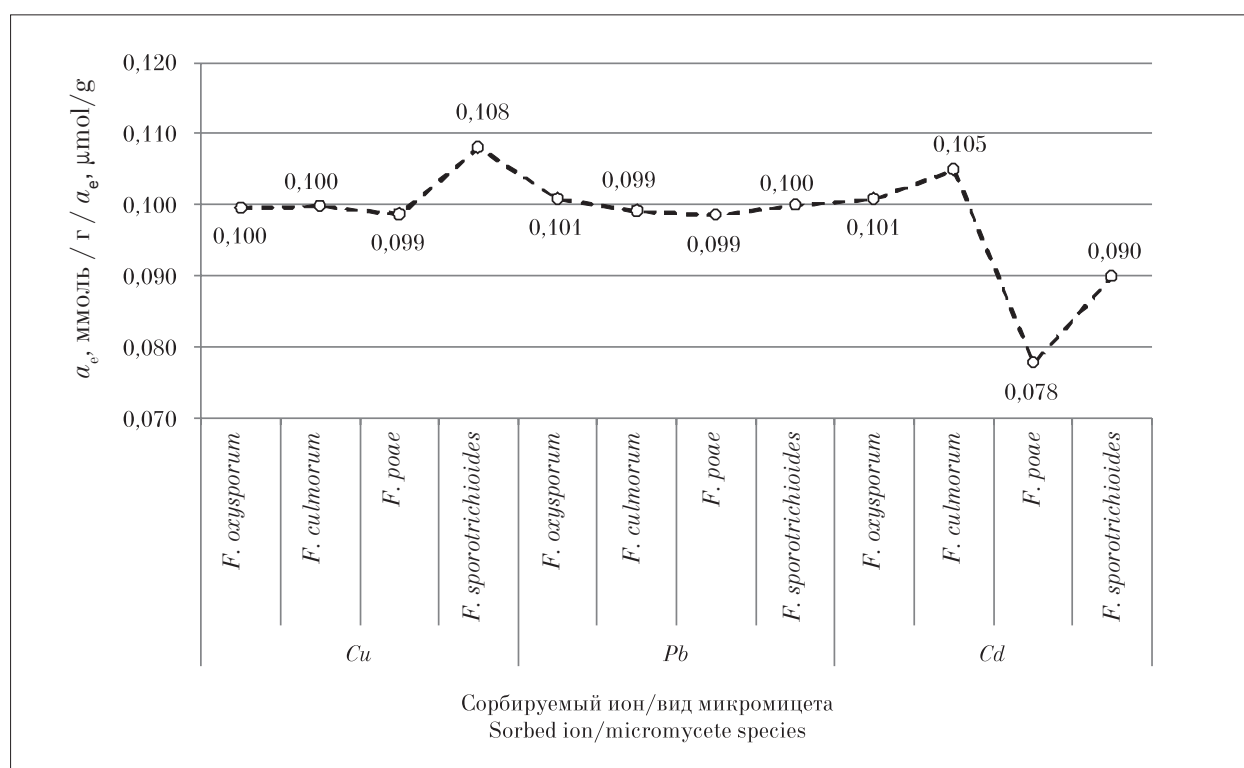


Рис. 5. Равновесная удельная масса сорбата a_e при сорбции ТМ микромицетами р. *Fusarium*
 Fig. 5. The equilibrium relative mass of the sorbate a_e during the sorption of heavy metals by micromycetes of the genus *Fusarium*

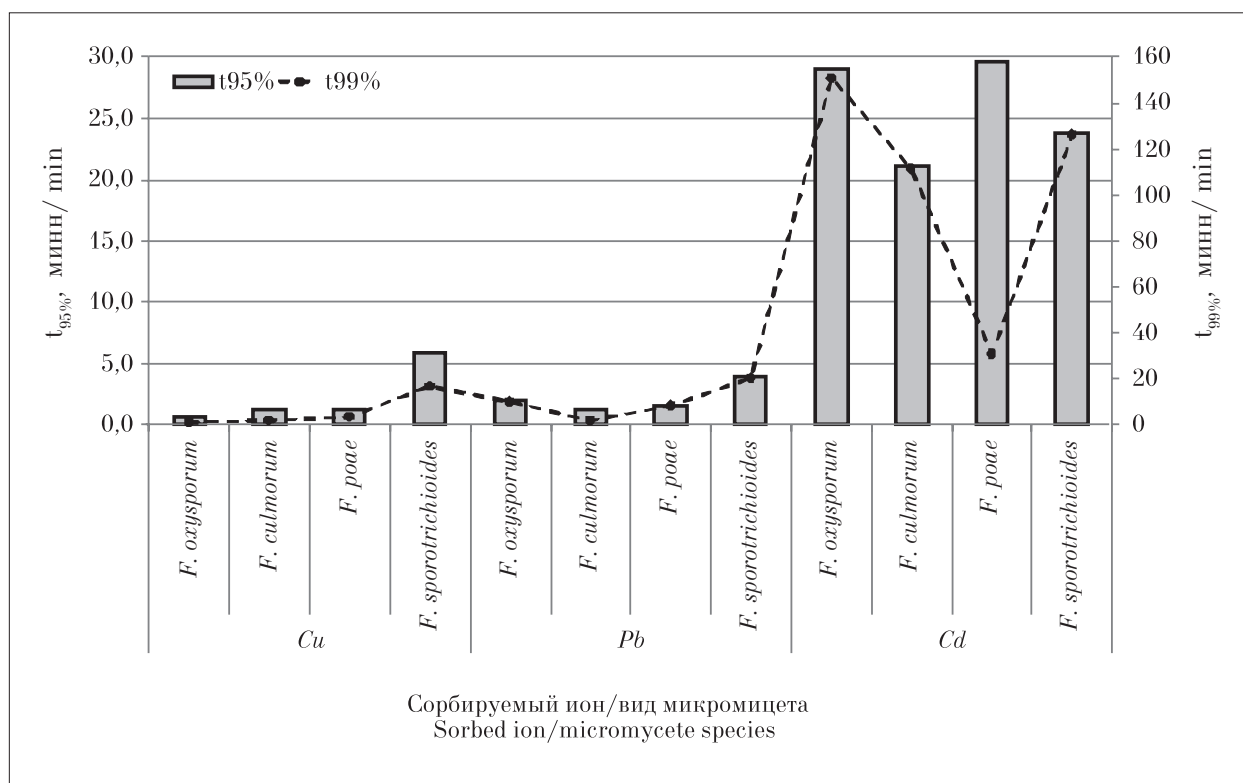


Рис. 6. Время сорбции ионов ТМ $t_{95/99\%}$, мин
 Fig. 6. The time of sorption of TM ions $t_{95/99\%}$, min

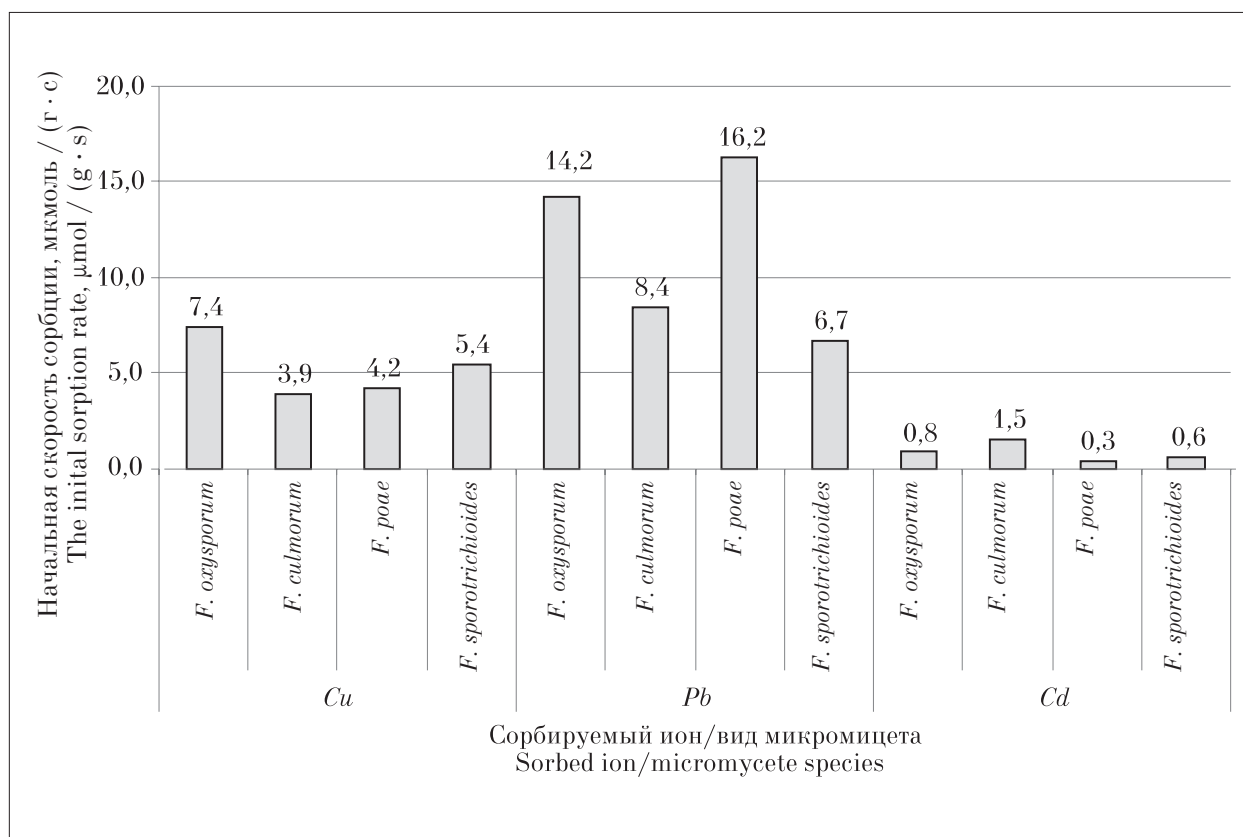


Рис. 7. Начальная скорость сорбции ионов ТМ микромицетами рода *Fusarium*
 Fig. 7. The initial rate of sorption of HM ions by micromycetes of the genus *Fusarium*

Таблица 2 /Table 2

Кислотность раствора (рН) раствора при сорбции ТМ микромицетами р. *Fusarium*: изменение и связь с $p(\text{ТМ}^{2+})$ /Acidity of the solution (pH) during sorption of ТМ by micromycetes genus of *Fusarium*: change and $\text{pH}-p(\text{HM}^{2+})$ relationship

| Сорбируемый ион Sorbed ion | Вид микромицета Species of micromycete | Снижение рН в начале сорбции, ед. The decrease in pH at the beginning of sorption, units | Коэффициент корреляции (r) между рН и $p(\text{ТМ}^{2+})$ в ходе сорбции Correlation coefficient (r) between pH and $p(\text{HM}^{2+})$ during sorption |
|-------------------------------|---|---|--|
| Cu ²⁺ | <i>F. oxysporum</i> | 0,52 | 0,9422 |
| | <i>F. culmorum</i> | 0,09 | 0,9821 |
| | <i>F. poae</i> | 0,95 | 0,8939 |
| | <i>F. sporotrichioides</i> | 0,54 | 0,9821 |
| Pb ²⁺ | <i>F. oxysporum</i> | 0,54 | 0,9397 |
| | <i>F. culmorum</i> | 0,36 | 0,9802 |
| | <i>F. poae</i> | 0,76 | 0,4512 |
| | <i>F. sporotrichioides</i> | 0,42 | 0,9919 |
| Cd ²⁺ | <i>F. oxysporum</i> | 0,25 | 0,5963 |
| | <i>F. culmorum</i> | 0,07 | 0,8866 |
| | <i>F. poae</i> | 0,16 | 0,9826 |
| | <i>F. sporotrichioides</i> | 0,19 | 0,6818 |

в основном варьировали в интервале от 0,099 до 0,108 ммоль/г сорбента, лишь только для двух видов *F. poae* и *F. sporotrichioides* при сорбции ионов кадмия она несколько ниже: 0,078 и 0,090 ммоль/г (рис. 5).

На рисунке 6 представлены сравнительные данные параметров сорбции для разных видов фузариума и разных ионов ТМ. Для большинства видов время $t_{95\%}$ для ионов меди(II) и свинца(II) варьировало от 0,7 до 1,9 мин. Для *F. sporotrichioides* оно было несколько выше, чем для других видов и составило 5,9 и 3,9 мин для меди и свинца соответственно. При сорбции кадмия $t_{95\%}$ было на порядок больше по сравнению с сорбцией других ионов и колебалось в пределах от 21,1 до 29,6 мин. При анализе времени $t_{99\%}$ в целом отмечали такую же тенденцию, что и для времени $t_{95\%}$. С увеличением исходной концентрации ионов кадмия в растворе время сорбции $t_{95\%} / t_{99\%}$ увеличивалось. Только для одного вида *F. poae* при сорбции кадмия различия во времени были незначительны: $t_{95\%}$ составляло 29,7 мин, $t_{99\%}$ – 30,7 мин. Данный факт может быть обусловлен тем, что в данном случае сорбция хорошо описывается уравнением Еловича, которое, в отличие от моделей псевдо-первого и псевдо-второго порядка, не предполагает насыщения сорбента.

Максимальные значения начальной скорости сорбции отмечали при сорбции микромицетами ионов свинца (6,7–17,2 мкмоль/(г·с)),

немного ниже были значения при сорбции меди (3,9–7,4 мкмоль/(г·с)), при сорбции кадмия установлены минимальные значения $v_{\text{нач}}$ (0,3–1,5 мкмоль/(г·с)) (рис. 7).

Если совместить используемые параметры скорости сорбции (время очистки раствора и начальную скорость сорбции), то наибольшая сорбционная способность к ионам свинца и меди характерна для *F. oxysporum* и *F. poae*, а к ионам кадмия – *F. culmorum* и *F. sporotrichioides*.

При проведении опытов по сорбции производили измерение рН раствора. Выявлено, что добавка биомассы микромицета приводила к снижению рН на 0,07–0,95 ед. рН (табл. 2). Наименьшее изменение было характерно для *F. culmorum* (0,07–0,36 ед. рН), наибольшее – для *F. poae* (0,16–0,95 ед. рН). Затем постепенно в процессе сорбции значение рН раствора несколько возрастало. При этом в большинстве случаев между показателем концентрации иона ТМ в растворе $p(\text{ТМ}^{2+})$ и рН наблюдалась достаточно тесная корреляционная связь. Другими словами, в ходе сорбции наряду со снижением концентрации ионов ТМ в растворе происходило снижение концентрации протонов. Данный факт может быть обусловлен ионно-обменным механизмом сорбции ТМ не с протонами, а с другими катионами, например, ионами калия, магния или кальция, которые содержатся в сорбенте-микромицете, что требует дальнейшего изучения.

Заключение

В ходе эксперимента изучена кинетика сорбции ионов меди(II), свинца(II) и кадмия из растворов их нитратов с концентрацией $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л четырьмя видами микромицетов р. *Fusarium*. Установлено, что в большинстве случаев кинетика сорбции части сорбентов хорошо описывается уравнением псевдо-первого порядка, другой части – и псевдо-второго и модифицированного второго порядка.

Для сравнения сорбционных возможностей различных видов фузариума по отношению к ТМ использовали a_e – равновесную удельную массу сорбата, $v_{нач}$ – начальную скорость сорбции и $t_{95\%}/t_{99\%}$ – время сорбции 95%/99% от значения a_e .

Выявлено, что сорбция ионов кадмия протекает с заметно более низкой скоростью по сравнению с ионами меди(II) и свинца(II): начальная скорость сорбции была в 2,6–12,3 раза и 5,6–48,1 раза меньше по сравнению с медью и свинцом соответственно; время $t_{95\%}$ в 4,0–25,4 и 6,1–18,9 раза больше; время $t_{99\%}$ – в 7,6–148,2 и 3,8–61,2 раза больше.

Значения равновесной массы сорбата, которая характеризуют ёмкость сорбента, варьировали в интервале от 0,099 до 0,108 ммоль/г, при сорбции ионов кадмия *F. roae* и *F. sporotrichioides* значения были несколько ниже и составили 0,078 и 0,090 ммоль/г. Наибольшей скоростью сорбции по отношению к ионам свинца и меди характеризовались *F. oxysporum* и *F. roae*, а к ионам кадмия – *F. culmorum* и *F. sporotrichioides*.

Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии Коми НЦ УрО РАН по теме «Оценка и прогноз отсроченного техногенного воздействия на природные и трансформированные экосистемы подзоны южной тайги» № 0414-2018-0003.

References

1. Skugoreva S.G., Ashihmina T.Ya., Fokina A.I., Lyalina E.I. Chemical groups of toxic effect of heavy metals (review) // Theoretical and Applied Ecology. 2016. No. 1. P. 4–13. doi: 10.25750/1995-4301-2016-1-014-019 (in Russian).
2. Fu F., Wang Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review // J. Environ. Manag. 2011. V. 92. P. 407–418. doi: 10.1016/j.jenvman.2010.11.011
3. Matheickal J.T., Yu Q. Biosorption of lead(II) and copper(II) from aqueous solutions by pre-treated biomass of Australian marine algae // Bioresour. Technol. 1999. V. 69. P. 223–229.

4. Papirio S., Frunzo L., Mattei M.R., Ferraro A., Race M., D'Acunto B., Pirozzi F., Esposito G. Heavy metal removal from wastewaters by biosorption: mechanisms and modeling // Sustainable heavy metal remediation. V. 1: Principles and processes. P. 25–64 / Eds. E.R. Rene, E. Sahinkaya, A. Lewis, P.N.L. Lens // Environmental chemistry for a sustainable world. Springer International Publishing AG. 2017. V. 8. doi: 10.1007/978-3-319-58622-9
5. Gadd G.M. Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment // J. Chem. Technol. Biotechnol. 2009. V. 84. P. 13–28. doi: 10.1002/jctb.1999
6. Tyupa D.V., Kalenov S.V., Suyasov N.A. Biosorbents of heavy metals based on micromycetes of active sludge // Butlevskiesoobshcheniya. 2017. V. 50. No. 5. P. 57–64 (in Russian).
7. Volesky B. Biosorbent materials // Biotechnol. Bioeng. Symp. 1986. V. 16. P. 121–126.
8. Das N., Vimala R., Karthika P. Biosorption of heavy metals – an overview // Indian J. Biotechnol. 2008. V. 7. P. 159–169.
9. Merrin J.S., Sheela R., Saswathi N., Prakasham R.S., Ramakrishna S.V. Biosorption of chromium(VI) using *Rhizopus arrhizus* // Ind. J. Exp. Biol. 1998. V. 36. P. 1052–1055.
10. Babel S., Kurniawan T.A. Low-cost adsorbents for heavy metals uptake from contaminated water: a review // J. Hazard. Mater. 2003. V. 97. P. 219–243.
11. Skugoreva S.G., Kantor G.Ya., Domracheva L.I. Biosorption of heavy metals by micromycetes: specificity of the process, mechanisms, kinetics // Theoretical and Applied Ecology. 2019. No. 2. P. 14–31. doi: 10.25750/1995-4301-2019-2-014-031 (in Russian).
12. Litovka Yu.A., Savitskaya A.G., Ryazanova T.V. Species composition and phytotoxic properties micromycetes of the genus *Fusarium*, distributed in forest kennels of Middle and South Siberia // Khvoynye borealnoy zony. 2011. V. XXIX. No. 3–4. P. 232–236 (in Russian).
13. Domracheva L., Trefilova L., Fokina A. *Fusarium*: biological control, sorption possibilities. Lap Lambert Academic Publishing, 2013. 183 p. (in Russian).
14. Artamonova V.C. Microbiological features of anthropogenically transformed soils of Western Siberia. Novosibirsk: Izd-vo SO RAN, 2002. 225 p. (in Russian).
15. Marfenina O.E. Anthropogenic ecology of soil mushrooms. Moskva: Meditsina dlya vseh, 2005. 156 p. (in Russian).
16. Fokina A.I., Zlobin S.S., Domracheva L.I., Trefilova L.V. Properties of some types of fungi of the genus *Fusarium* – the basis for the creation of biosorbent of heavy metals // Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2012. No. 2. P. 49–52 (in Russian).
17. Abdel-Galil E.A., Abdel Aziz O.A., Mostafa Zhran, Amin M. Characterization and sorption behavior of some toxic metal ions on *Fusarium oxysporum* as biomass adsorbent // Desalination and water treatment. 2018. V. 133. P. 134–145. doi: 10.5004/dwt.2018.23010

18. Skugoreva S.G., Domracheva L.I. Investigation of sorption of lead ions by fungus mycelium *Fusarium culmorum* from lead nitrate solution // Biodegradation of natural and natural-technogenic systems: Materialy XV Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem. Kirov: VyatGU, 2017. V. 2. P. 122–126 (in Russian).

19. Skugoreva S.G., Kantor G.Ya., Domracheva L.I., Fokina A.I. Sorption of lead(II) ions by the mycelium of the fungus *Fusarium culmorum* // Successes in medical mycology. 2018. V. XIX. P. 56–61 (in Russian).

20. Kantor G.Ya., Skugoreva S.G., Domracheva L.I. A comparative analysis of the kinetics of sorption of lead(II) ions by various sorbents // Ecology of the native land: problems and solutions: Materialy XIII Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem. Kniga 2. Kirov: Vyatskiy gosudarstvennyy universitet, 2018. P. 96–100 (in Russian).

21. Skugoreva S.G., Kantor G.Ya., Domracheva L.I., Kut'yavina T.I. Comparative analysis of the effectiveness of the use of sorbents of different nature with respect to copper(II) ions // Theoretical and Applied Ecology. 2018. No. 3. P. 12–18. doi: 10.25750/1995-4301-2018-3-012-018 (in Russian).

22. Workshop on microbiology / Ed. A.I. Netrusov. Moskva: Academiya, 2005. 608 p.

23. Ho Y.S., Ng J.C.Y., McKay G. Kinetics of pollutant sorption by biosorbents: review // Separ. Purif. Methods. 2000. V. 29. No. 2. P. 189–232. doi: 10.1018/SPM-100100009

24. Cheung W.H., Ng J.C.Y., McKay G. Kinetic analysis of the sorption of copper(II) ions on chitosan // J. Chem. Technol. Biotechnol. 2003. V. 78. No. 5. P. 562–571. doi: 10.1002/jctb.836

25. Neudachina L.K., Petrova Yu.S., Zasukhin A.S., Osipova V.A., Gorbunova E.M., Larina T.Yu. Kinetics of sorption of heavy metal ions by pyridylethylated aminopropyl polysiloxane // Analitika i kontrol. 2011. V. 15. No. 1. P. 87–95 (in Russian).

Распределение микроскопических грибов в мерзлотной торфяной почве плоскобугристого болота лесотундры

© 2019. Ю. А. Виноградова, к. б. н., н. с.,
Е. М. Лаптева, к. б. н., доцент, зав. отделом,
В. А. Ковалева, м. н. с., Е. М. Перминова, м. н. с.,
Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28,
e-mail: vinogradova@ib.komisc.ru

Исследован комплекс микроскопических грибов в торфяной мерзлотной почве плоскобугристого болота (бассейн нижнего течения р. Печора, лесотундра). Таксономический список включает 42 вида микромицетов, в том числе две формы стерильного мицелия. Отдел Zygomycota представлен 8 видами (19%) из родов *Mucor*, *Mortierella*, *Umbelopsis*, отдел Ascomycota – 32 видами (76%), среди которых по числу видов доминирует род *Penicillium* (17 видов). Остальные роды – *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Pseudogymnoascus*, *Chrysosporium*, *Fusarium*, *Talaromyces*, *Trichoderma* – представлены единичными видами. Наибольшим видовым разнообразием грибов (38 видов) отличается верхняя часть сезонно-талого слоя (глубина 0–20 см). В нижней его части (20–55 см) и мёрзлых слоях торфа (5–115 см) количество видов соответственно 11 и 9. Численность микромицетов в сезонно-талом слое составила 5–104 тыс. КОЕ/г почвы, в мёрзлой толще торфа – 0,2–3,7 тыс. КОЕ/г почвы. В структуре микромицетного комплекса на долю редких видов приходится 60%, частых – 12%, доминирующих – 29%. В верхней части сезонно-талого слоя наиболее обильны *Penicillium simplicissimum* (23,6%), *Pseudogymnoascus pannorum* (12,0%), *Mycelia sterilia* (светлоокрашенный) (19,9%), в его нижней части – *Penicillium simplicissimum* (43,8%) и *P. lanosum* (47,7%), в многолетнемёрзлых слоях торфа – *Penicillium implicatum* (32,3%), *P. simplicissimum* (19,4%), *Mycelia sterilia* (светлоокрашенный) (17,7%).

Ключевые слова: бугристые болота, торфяники, мерзлота, микробная биомасса микроскопические грибы, структура, разнообразие.

Distribution of microfungi in the permafrost peat soil of the flat-hilly bog of the forest-tundra

© 2019. Yu. A. Vinogradova ORCID: 0000-0003-4891-4904, E. M. Lapteva ORCID: 0000-0002-9396-7979,
V. A. Kovaleva ORCID: 0000-0001-5465-6134, E. M. Perminova ORCID: 0000-0002-8650-2524,
Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of RAS,
28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,
e-mail: vinogradova@ib.komisc.ru

The micromycetes complex was studied in the permafrost affected peat soil of the forest-tundra peatland (lower course of the Pechora river, forest tundra). Taxonomical list of microscopic fungi contains 42 species (including two forms of sterile mycelium). Division Zygomycota contains eight species (19%) from genera *Mucor*, *Mortierella*, and *Umbelopsis*; division Ascomycota – 32 species (76%). *Penicillium* genus contains the highest number of species (21). The other genera – *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Pseudogymnoascus*, *Chrysosporium*, *Cephalosporium*, *Fusarium* and *Trichoderma* are presented by single species. The highest number of fungi species was found in the upper part of the active layer (depth 0–20 cm) – 38 species (Shannon index $H = 2.53$), the lowest – in the lower part of the active layer (20–55 cm) – 11 species ($H = 0.90$) and permafrost layer (55–115 cm) – 9 species ($H = 1.31$). The highest number (51–84 thousands CFU per g of soil) of microscopic fungi was found in the upper part of the active layer (depth 0–4 cm). In the lower part of active layer, high number of micromycetes (60–104 thousands CFU per g of soil) was found only at rich by hydrocarbons media (worth agar, Sabouraud's medium). In the permafrost layer, this number was lower by 1–2 orders of magnitude (0.2–3.7 thousands CFU per g of soil). According to the species abundance, the structure of micromycetes complex is presented by rare species – 60%, abundant species count 12–29%. *Penicillium simplicissimum* (23.6–48.3%), *Pseudogymnoascus pannorum* (12.0%), and *Mycelia sterilia* (white) (19.9%) were the most abundant in the active layer; *Penicillium implicatum* (32.3%) and *Penicillium simplicissimum* (19.4%) and *Mycelia sterilia* (white) (17.7%) – in the permafrost layers.

Keywords: peatland, peatbogs, permafrost, microbial biomass, microscopic fungi, structure, diversity.

Экстремальные условия Крайнего Севера определяют низкую численность почвенных микробных сообществ, их адаптированность к низким температурам, высокой кислотности и олиготрофности среды [1], а также карликовость клеток прокариот [2]. Отрицательные температуры не препятствуют распространению и сохранности в почвах криолизоны спор и фрагментов мицелия микромицетов [3]. В настоящее время из тундровых почв выделено около 135 видов микромицетов [4], многолетнемерзлых грунтов Арктики – порядка 80 видов [5], почв континентальной Антарктиды – 115 видов микроскопических грибов [6]. Остаются слабо исследованными вопросы о роли вечной мерзлоты в распределении микромицетов в толще торфяных отложений бугристых болот Арктики и Субарктики, изменении их численности и разнообразия в системе «сезонно-талые слои (СТС) – многолетнемерзлые породы (ММП)».

Цель данной работы заключалась в выявлении особенностей распределения комплекса микроскопических грибов в сезонно-талых и многолетнемерзлых слоях торфяной почвы бугристого болота лесотундры.

Материалы и методы

Исследования проводили в северо-западной части Большеземельской тундры (Ненецкий автономный округ) на территории бугристо-мочажинного болотного комплекса, расположенного на правобережной надпойменной террасе долины р. Печора. Пробы

торфа для микологического анализа отбирали с соблюдением условий, препятствующих биологической контаминации образцов, из СТС (0–4, 4–10, 10–20, 20–30, 30–47, 47–55 см) и верхней части ММП (55–70, 70–90, 90–115 см) торфяного бугра (67°39'10,7" с.ш.; 53°23'24,9" в.д.). До начала исследований образцы торфа хранили при температуре -18– -20 °С.

Численность бактерий, спор грибов, длину мицелия и их биомассу определяли методом люминесцентной микроскопии [7]. Изоляты грибов выделяли на подкисленной среде Чапека, сусло-агаре, средах Сабура и Гетчинсона при температурах размораживания образцов (+25, +35, +52 °С) и культивирования посевов (+4, +25, +35 °С). Их таксономическую принадлежность идентифицировали с использованием современных определителей. Названия и положения таксонов унифицировали с помощью базы данных CBS (www.indexfungarum.org). Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью [8].

Результаты и обсуждение

Суммарная биомасса микроорганизмов в торфяной залежи варьирует от 1,7 до 15,3 мг/г (рис. 1А). Максимум её концентрации приходится на глубину 20–30 см, где сосредоточено больше всего спор (510±40 млн кл./г) и мицелия (1044±227 м/г) грибов. В верхней части СТС (0–20 см) и в мерзлой толще торфа (55–115 см) ведущую роль играют споры грибов (80–97%) (рис. 1Б). В нижней части СТС

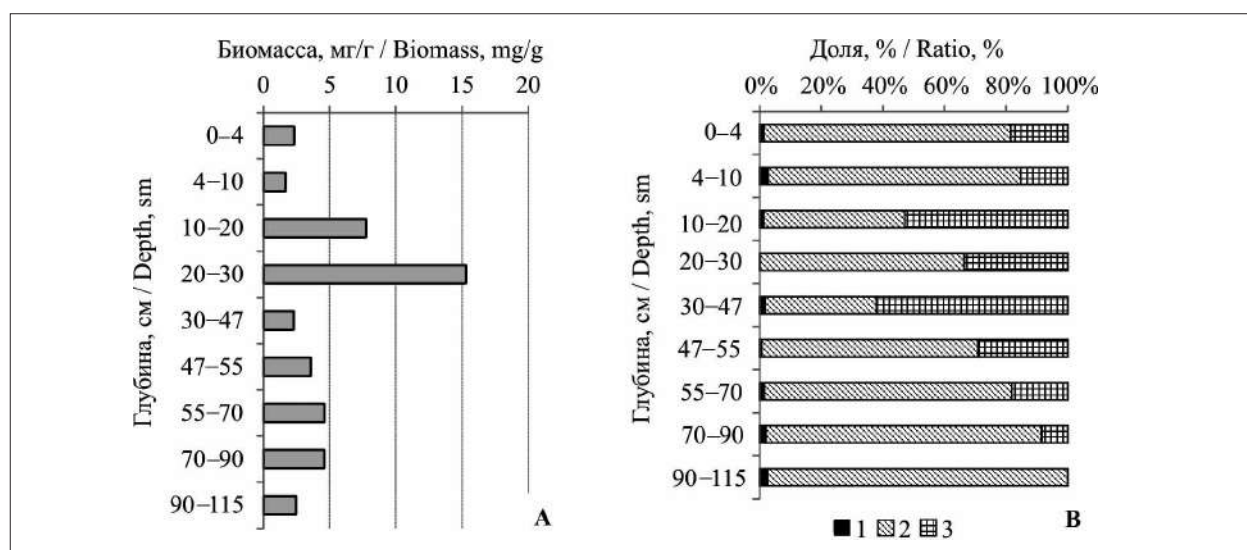


Рис. 1. Профильное изменение суммарной биомассы микроорганизмов (А, мг/г) в торфяной мерзлотной почве бугристого болота лесотундры и долевое участие в ней бактерий (1), спор (2) и мицелия (3) биомассы микроскопических грибов (В, %) в торфяной мерзлотной почве бугристого болота лесотундры.

Таблица 1 / Table 1

Показатели структуры комплекса микромицетов в торфяной мерзлотной почве плоскобугристого болота лесотундры / Main characteristics of the structure of the micromyces complex in the peat permafrost affected soil of the forest-tundra peatland

| Показатели / Indicators | Слои торфяной почвы / Layer of peat soil | | |
|--|--|-------------|-------------------------|
| | СТС active layer | | ММП permafrost layer |
| | 0–20 см/cm | 20–55 см/cm | 55–115 см/cm |
| Количество выделенных видов The number of species | 39 | 11 | 10 |
| Индекс видового разнообразия Шеннона (H) Shannon index of species diversity (H) | 2,53 | 0,90 | 1,31 |
| Индекс выравненности Пиелу (E) Pielou index (E) | 0,70 | 0,39 | 0,59 |
| Индекс полидоминантности Вильямса (D ⁻¹) Williams index of polydominance (D ⁻¹) | 8,03 | 2,17 | 4,82 |
| Коэффициент Сьёренсена-Чекановского (Ks) Sørensen-Chekanovsky coefficient (Ks) | 12,30% | | |

(20–55 см) отмечено некоторое выравнивание между биомассой спор (36–66%) и биомассой мицелия грибов (34–62%), что, скорее всего, обусловлено сфагновым составом торфа.

Из проанализированных образцов торфа выделено 42 вида микромицетов из 11 родов, в том числе две формы стерильного мицелия. Основу таксономического списка (32 вида) составляют анаморфные грибы. Практически половина из них (53%) – это виды р. *Penicillium*. Они занимают лидирующее положение в почвах тайги [9], в мерзлых грунтах Арктики [10] и Антарктики [11, 12]. Роды *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Pseudogymnoascus*, *Chrysosporium*, *Cephalosporium*, *Talaromyces*, *Trichoderma* представлены единичными видами. Отдел Zygomycota включает 8 видов из родов *Mucor*, *Mortierella*, *Umbelopsis*. Ведущие позиции по обилию занимают виды *Penicillium simplicissimum* (37,0%), *P. lanosum* (26,9%) и *Pseudogymnoascus pannorum* (5,4%). Отмечено достаточно высокое обилие стерильного светлоокрашенного мицелия (9,3%), который также доминирует в микоценозах криогенных почв [13].

Комплекс микромицетов торфяной мерзлотной почвы представлен в основном психротолерантными видами, которые дают рост колоний при температуре культивирования +4–+25 °С [14]. Однако её увеличение до +35 °С позволило учесть те виды микромицетов, которые являются представителями почв более южных регионов, например, виды р. *Aspergillus* [15].

Таксономическое разнообразие микромицетов закономерно снижается вниз по профилю почвы торфяного бугра (табл. 1).

Наиболее высокими значениями индексов видового разнообразия Шеннона (2,53) и выравненности Пиелу (0,7) отличаются микоценозы верхней части СТС. Здесь выявлено максимальное количество видов микроскопических грибов (табл. 2). Основная их часть (31 вид) сконцентрирована в верхнем 0–4 см слое (рис. 2А), где наряду с остатками дикрановых мхов присутствуют фрагменты лишайников.

В болотных экосистемах таёжной зоны наибольшим таксономическим разнообразием характеризуются слои торфа на глубину до 50 см от поверхности почвы [16], в исследованном нами мерзлом болоте лесотундры – лишь верхние 0–20 см торфяной залежи (рис. 2А). Здесь наиболее обильны *Penicillium simplicissimum* (23,6%), светлоокрашенный *Mycelia sterilia* (19,9%) и *Pseudogymnoascus pannorum* (12,0%). Основная часть выделенных видов микромицетов (59 % от общего числа видов) имеет показатели обилия менее 1%, а треть видов – от 1 до 7%.

Активное прогревание в летний период верхней части СТС (0–20 см) почвы торфяного бугра обусловило, по всей видимости, присутствие здесь видов *Aspergillus flavus* и *A. niger*, более характерных для почв южных регионов [15]. Их изоляты были идентифицированы при анализе образцов торфа с глубины 4–20 см. Возможно, отсутствие этих видов в поверхностных слоях почвы (0–4 см) связано с их низкой конкурентной способностью в условиях активного роста других видов.

К отличительной особенности микромицетного комплекса верхней части СТС следует отнести также наличие в нём меланин-

Таблица 2 / Table 2

Распределение микромицетов в различных слоях торфяной мерзлотной почвы плоскобугристого болота лесотундры / Distribution of the micromycetes in the permafrost affected peat soil of the forest-tundra peatland

| Слои торфяной почвы / Layer of peat soil | | |
|---|-------------|--|
| СТС / Active layer | | ММП / Permafrost layer |
| 0–20 см/cm | 20–55 см/cm | 55–115 см/cm |
| <i>Pseudogymnoascus pannorum</i> (Link) Sigler, J.W. Carmich., <i>Penicillium commune</i> Thom, <i>P. lanosum</i> Westling, <i>P. simplicissimum</i> (Oudem.) Thom, <i>Talaromyces variabilis</i> (Sopp) Samson, N. Yilmaz, Frisvad & Seifert, <i>Mycelia sterilia</i> (светлоокрашенный / white) | | |
| <i>Penicillium raistrickii</i> G. Sm., <i>P. spinulosum</i> Thom, <i>Talaromyces rugulosus</i> (Thom) Samson, N. Yilmaz, Frisvad, Seifert, <i>Trichoderma polysporum</i> (Link) Rifai | | <i>Penicillium implicatum</i> Biourge, <i>Talaromyces diversus</i> (Raper, Fennell) Samson, N. Yilmaz, Frisvad |
| <i>Mortierella alpina</i> Peyron, <i>M. verticillata</i> Linnem., <i>Mortierella</i> sp., <i>Mucor hiemalis</i> Wehmer, <i>M. racemosus</i> Fresen., <i>Mucor</i> sp., <i>Umbelopsis ramanniana</i> (Moller) W. Gams, <i>U. vinacea</i> (Dixon-Stew.) Arx, <i>Alternaria tenuis</i> Nees, <i>Aspergillus flavus</i> Link, <i>Aspergillus</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Chrysosporium merdarium</i> (Ehrenb.) J.W. Carmich., <i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries, <i>Cephalosporium terricola</i> Kamyschko, <i>Penicillium digitatum</i> (Pers.) Sacc., <i>P. camemberti</i> Sopp, <i>P. canescens</i> Sopp, <i>P. citrinum</i> Thom, <i>P. chrysogenum</i> Thom, <i>P. granulatum</i> Bainier, <i>P. thomii</i> K.M. Zaleski, <i>P. turbatum</i> Westling, <i>P. waksmanii</i> K.M. Zaleski, <i>P. sp.</i> , <i>Trichoderma</i> sp., <i>Mycelia sterilia</i> (тёмноокрашенный / dark) | | <i>Penicillium verrucosum</i> Dierckx <i>Aspergillus niger</i> Tiegh.*, <i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link* |

Примечание / Note: * – общие виды для слоёв СТС (0–20 см) и ММП (55–115 см) торфяной залежи / common species for active layer (0–20 cm) and permafrost layer (55–115 cm) of peat soil.

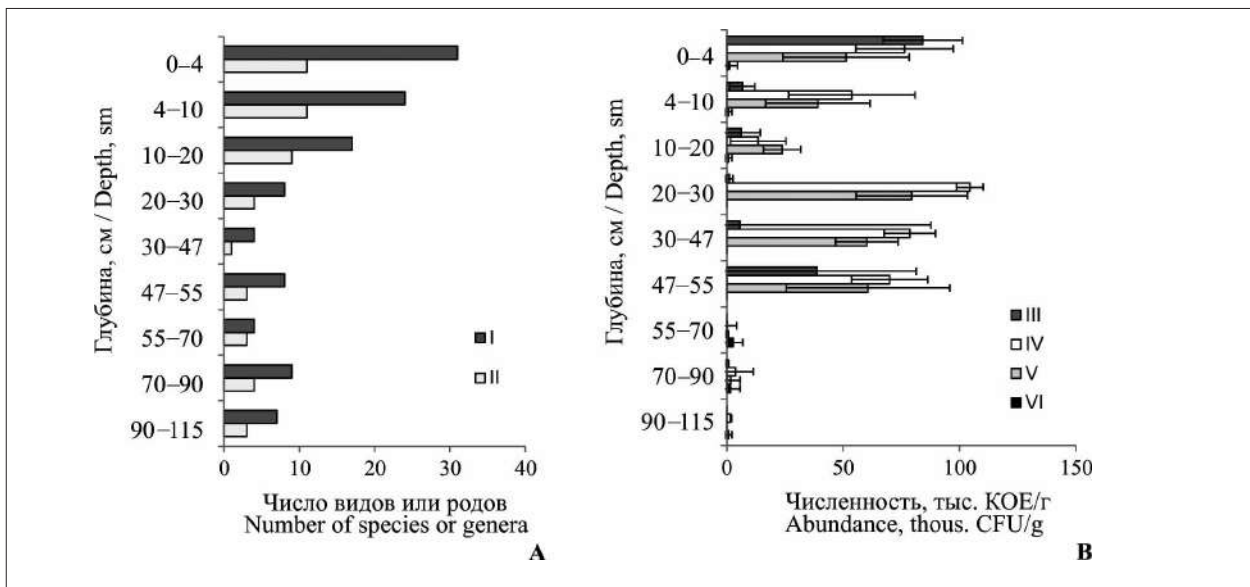


Рис. 2. Изменение таксономического разнообразия (А) и численности (В) микроскопических грибов в торфяной мерзлотной почве: I – количество видов; II – количество родов; III – среда Чапека; IV – сусло-агар; V – среда Сабуро; VI – среда Гетчинсона. Планками погрешности показана величина стандартного квадратического отклонения / Fig. 2. The profile change of the taxonomic diversity (A) and number (B) of the microscopic fungi in the peat permafrost affected soil: I – number of species; II – number of genera; III – Czapek medium; IV – beer wort agar; V – Saburo medium; VI – Getczinson medium. Error bars show the standard deviation

содержащих видов грибов: *Alternaria tenuis*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*. Известно, что синтез тёмных пигментов типа меланинов в клеточной стенке грибов обеспечивает их устойчивость к неблагоприятным факторам среды [17].

Микромицетный комплекс нижней части СТС, несмотря на высокую численность изолятов, дающих рост на богатых углеводами средах (рис. 2Б), представлен небольшим количеством видов. Здесь идентифицированы только анаморфные грибы родов *Penicillium* (8 видов), *Trichoderma* (1 вид), *Pseudogymnoascus* (1 вид) и светлоокрашенный стерильный мицелий (табл. 2). В составе представителей р. *Penicillium* активно спорулируют и наиболее обильны *P. simplicissimum* (48,3%) и *P. lanosum* (47,7%). Кроме того, выделен вид *Penicillium waksmanii* – активный продуцент вторичных метаболитов (группы алкалоидов) [18] и протеазных внеклеточных ферментов, участвующих в гидролизе крупных белковых молекул [19]. Низкое видовое разнообразие микоценозов нижней части СТС ($H = 0,90$, $E = 0,39$) при значимом доминировании единичных видов (индекс $D^{-1} = 2,17$) может быть обусловлено не только близостью залегания мерзлоты (55 см), но и преобладанием здесь слабо разложенных остатков сфагновых мхов.

Мёрзлые слои торфа (55–115 см) отличаются крайне низкой (от 0 до 3,7 тыс. КОЕ/г) численностью изолятов (рис. 2Б). Здесь идентифицировано 10 видов грибов из отдела *Ascomycota*, 6 из которых относятся к р. *Penicillium*. Роды *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Pseudogymnoascus* представлены единичными видами. В отличие от СТС, в мёрзлой толще торфа наиболее обилён вид *Penicillium implicatum* (32,3%) – характерный представитель микоценозов торфяных почв верховых и низинных болот [20]. Присутствие в толще ММП видов *Aspergillus niger* и *Cladosporium herbarum* может быть связано с консервацией спор и их сохранением в мёрзлых слоях торфа в качестве свидетелей прошлых этапов развития бугристого торфяника лесотундры в голоцене. О сложной истории формирования торфяной залежи свидетельствует разнокачественный характер ботанического состава торфа и низкое сходство микоценозов СТС и ММП (коэффициент Сьёренсена-Чекановского 12,3%).

Заключение

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о специфичности рас-

пределения микроскопических грибов в пределах СТС–ММП торфяной мерзлотной почвы плоскобугристого болота лесотундры. Продолжительное действие отрицательных температур в ММП обуславливает снижение величины суммарной микробной биомассы, численности грибных пропагул, сокращение видового разнообразия и изменение таксономической структуры микроскопических грибов, по сравнению с микоценозами сезонно-талых слоёв торфа. В верхней части СТС (0–20 см) наряду с аскомицетами, в составе которых лидирующие позиции занимают виды р. *Penicillium*, в разложении торфа участвуют зигомицеты, представители которых являются пионерными видами – это виды рр. *Mortierella*, *Mucor*, *Umbelopsis*. В нижних слоях СТС (20–55 см) и в мерзлой части торфяной залежи (55–115 см) основные деструкторы торфа – аскомицеты с доминированием видов р. *Penicillium*. В верхней части СТС наиболее обильны *Penicillium simplicissimum* (23,6%), *Pseudogymnoascus pannorum* (12,0%), *Mycelia sterilia* (светлоокрашенный) (19,9%), в его нижней части – *Penicillium simplicissimum* (43,8%) и *P. lanosum* (47,7%). В ММП на первое место по обилию выходит *Penicillium implicatum* (32,3%) при сохранении доминирующей роли *P. simplicissimum* (19,4%) и стерильного светлоокрашенного мицелия (17,7%). В надмерзлотных слоях торфа значительную численность изолятов (60–104 тыс. КОЕ/г почвы), дающих рост на богатых углеводами твёрдых питательных средах, определяет небольшое количество (11) видов микроскопических грибов.

Работа выполнена в рамках темы государственного задания Института биологии Коми НЦ УрО РАН (AAAA-A17-117122290011-5) и проекта УрО РАН № 18-9-4-40 (AAAA-A17-117122190039-0).

References

1. Andersen R., Chapman S.J., Artz R.R.E. Microbial communities in natural and disturbed peatlands: a review // *Soil Biology and Biochemistry*. 2013. No. 57. P. 979–994. doi: 10.1016/j.soilbio.2012.10.003
2. Evdokimova G.A., Mozgova N.P. Microflora of soils of the tundra zone of the Kola Peninsula // *Pochvovedenie*. 1995. No. 12. P. 1487–1497 (in Russian).
3. Wallenstein M.W., McMahon S., Schimel J. Bacterial and fungal community structure in Arctic tundra tussock and shrub soils // *FEMS Microbiol Ecology*. 2007. No. 59. P. 428–435.

4. Khabibullina F.M. Soil mycobiota of natural and anthropogenically disturbed ecosystems of the North-East of the European part of Russia: Avtoref. ... doct. nauk. Syktyvkar, 2009. 45 p. (in Russian).
5. Ozerskaya S.M., Ivanushkina N.E., Kochkina G.A., Fattakhova R.N., Gilichinsky D.A. Mycelial fungi in cryopegs // International Journal of Astrobiology. 2004. V. 3. P. 327–331 (in Russian). doi: 10.1017/S1473550405002260
6. Godinho V.M., Gonzalves V.N., Santiago I.F., Figueredo H.M., Vitoreli G.A., Schaefer Carlos E.G.R., Barbosa E.C., Oliveira J.G., Alves T.M.A., Zani C.L., Junior P.A.S., Murta S.M.F., Romanha A.J., Kroon E.G., Cantrell C.L., Wedge D.E., Duke S.O., Ali A., Rosa C.A., Rosa L.H. Diversity and bioprospection of fungal community present in oligotrophic soil of continental Antarctica // Extremophiles. 2015. No. 19. P. 585–596. doi: 10.1007/s00792-015-0741-6
7. Polyanskaya L.M., Zvyagintsev D.G. The content and composition of microbial biomass as an index of the ecological status of soil // Pochvovedenie. 2005. No. 6. P. 706–714 (in Russian).
8. Novakovskiy A.B. The interaction between Excel and the statistical package R for data processing in ecology // Vestnik Instituta Biologii. 2016. No. 3. P. 26–33 (in Russian).
9. Khabibullina F.M., Kuznetsova E.G., Vaseneva I.Z. Micromycetes in podzolic and bog-podzolic soils in the middle taiga subzone of northeastern European Russia // Pochvovedenie. 2014. No. 10. P. 1228–1234 (in Russian).
10. Ozerskaya S., Kochkina G., Ivanushkina N., Gilichinskii D.A. Fungi in permafrost // Ed. R Margesin. Permafrost Soils. Soil Biology 16. Chapter 7. Berlin: Springer, 2009. P. 85–95.
11. Ruisi S., Barreca D., Selbmann L., Zucconi L., Onofri S. Fungi in Antarctica // Reviews in Environ. Science Biotechnology. 2007. No. 6. P. 127–141. doi: 10.1007/s11157-006-9107-y
12. Zucconi L., Selbmann L., Buzzini P., Turchetti B., Guglielmin M., Frisvad J.C., Onofri S. Searching for eukaryotic life preserved in Antarctic permafrost // Polar Biology. 2012. No. 35. P. 749–757. doi: 10.1007/s00300-011-1119-6
13. Kochkina G.A., Ozerskaya S.M., Ivanushkina N.E., Chigineva N.I., Vasilenko O.V., Spirina E.V., Gilichinskii D.A. Fungal diversity in the antarctic active layer // Mikrobiologiya. 2014. V. 83. No. 2. P. 236–244 (in Russian).
14. Hassan N., Rafiq M., Hayat M., Shah A.A., Hasan F. Psychrophilic and psychrotrophic fungi: a comprehensive review // Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. 2016. No. 15. P. 147–172. doi: 10.1007/s11157-016-9395-9
15. Marfenina O.E., Bubnova E.N., Semenova T.A., Ivanova A.E., Danilogorskaya A.A. Microfungi of the genus *Aspergillus*: distribution and accumulation in different conditions of natural environments (on example of European Russia) // Mikologia i fitopatologiya. 2014. V. 48. No. 3. P. 139–219 (in Russian).
16. The functioning of complexes of microorganisms in raised peat bogs – an analysis of the reasons for the slow decomposition of peat. Moskva: Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK, 2013. 128 p. (in Russian).
17. Marfenina O. E., Makarova N.V., Ivanova A.E. Opportunistic moulds in soils and upper soil air layers in megalopolis (on an example of region Tushino, Moscow) // Mikologia i fitopatologiya. 2011. V. 45. No. 5. P. 397–407 (in Russian).
18. Antipova T.V., Zhelifonova V.P., Baskunov B.P., Ozerskaya S.M., Ivanushkina N.E., Kozlovsky A.G. New producers of biologically active compounds-fungal strains of the genus *Penicillium* isolated from permafrost // Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya. 2011. V. 47. No. 3. P. 318–323 (in Russian).
19. Graminho E.R., Silva R.R., Cabral T.P.F., Arantes E.C., da Rosa N.G., Juliano L., Okamoto D.N., Oliveira L.C.G., Kondo M.Y., Juliano M.A., Cabral H. Purification, characterization, and specificity determination of a new serine protease secreted by *Penicillium waksmanii* // Appl. Biochem. Biotechnol. 2013. No. 169. P. 201–214. doi: 10.1007/s12010-012-9974-3
20. Grum-Grzhymaylo O.A., Bilanenko E.N. Microfungi as a component of bogs ecosystems // Mikologia i fitopatologiya. 2010. V. 44. No. 6. P. 485–496 (in Russian).

**Адаптивный ответ регенерантов *Fragaria ananassa* Duch.
под действием механокомпозита на основе аморфного диоксида
кремния и флавоноидов зелёного чая в условиях *in vitro***

© 2019. Е. В. Амброс¹, к. б. н., н. с., О. В. Коцупий¹, к. б. н., н. с.,
Е. А. Карпова¹, к. б. н., с. н. с., Е. Г. Трофимова², к. х. н., н. с.,
Ю. Г. Зайцева¹, к. б. н., н. с., Т. И. Новикова¹, д. б. н., зав. лабораторией,

¹Центральный сибирский ботанический сад
Сибирского отделения Российской академии наук,

630090, Россия, г. Новосибирск, ул. Золотолинская, д. 101,

²Институт химии твёрдого тела и механохимии Сибирского отделения
Российской академии наук,

630128, Россия, г. Новосибирск, ул. Кутателадзе, д. 18,

e-mail: ambros_ev@mail.ru

Впервые на примере растений-регенерантов *Fragaria ananassa* изучены рострегулирующая и адаптогенная активности механокомпозита на основе аморфного диоксида кремния шелухи риса и флавоноидов зелёного чая. Преимуществом исследуемого механокомпозита является экологичность технологии его получения, основанной на использовании растительных отходов. Все испытанные концентрации механокомпозита (2,5; 5,0 и 10,0 мг/л) способствовали развитию корневой системы и надземной части регенерантов. Величины концентраций фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов), их соотношений (хлорофилл *a/b*, хлорофилл (*a+b*)/каротиноиды) и содержания большинства фенольных соединений, в том числе галловой, кофейной, *p*-кумаровой, феруловой кислот, свидетельствуют о том, что концентрации механокомпозита 2,5 и 5,0 мг/л являются оптимальными для процесса адаптации к условиям *ex vitro* у регенерантов с высоким физиологическим статусом.

Ключевые слова: механокомпозит, диоксид кремния, клональное микроразмножение, земляника крупноплодная, адаптация, фенольные соединения, эллаговая кислота.

***In vitro* adaptive responses of *Fragaria ananassa* Duch.
plantlets induced by the mechanocomposite based
on amorphous silica and flavonoids of green tea**

© 2019. E. V. Ambros¹ ORCID: 0000-0002-2119-6503, O. V. Kotsupiy¹ ORCID: 0000-0002-5326-4371,
E. A. Karpova¹ ORCID: 0000-0002-4023-3090, E. G. Trofimova² ORCID: 0000-0002-6769-3724,
Y. G. Zaytseva¹ ORCID: 0000-0001-9413-4664, T. I. Novikova¹ ORCID: 0000-0002-6690-1878

¹Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
101, Zolotodolinskaya St., Novosibirsk, Russia, 630090,

²Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry Siberian Branch
of the Russian Academy of Science,

18, Kutateladze St., Novosibirsk, Russia, 630128,

e-mail: ambros_ev@mail.ru

For the first time, morphological and physiological characteristics of *Fragaria ananassa* microclones of two cultivars (Alpha and Solnechnaya polyanka) under the influence of mechanocomposite based on rice husks amorphous silica and flavonoids of green tea (2.5; 5.0 and 10.0 mg/L in the medium) during the rooting stage in *in vitro* conditions were studied. The advantage of mechanochemical technology of raw materials is the obtaining of biologically active compounds without using any chemical solvents with the least impact on the environment. The growth-stimulating effect of all tested mechanocomposite concentrations on the development of the plantlets root system was revealed. Root length, root number per microshoot, and the wet and dry weight of the roots were significantly increased (by 1.5, 1.4, 1.6 and 2.5 times, respectively). Moreover, the treatment resulted in increase of leaf number per microshoot, leaf area, and wet and dry weight of aerial parts appropriately by 1.3, 1.3, 1.2 and 1.9 times. Concentrations of photosynthetic pigments

(chlorophylls *a* and *b*, and carotenoids), and their ratios (chlorophyll *a/b*, chlorophyll (*a+b*)/carotenoids) indicated a high physiological state of the plantlets at mechanocomposite concentrations of 2.5 and 5 mg/L. At a concentration of 10 mg/L, chlorophylls *a* and *b* in the leaves of the plantlets of both cultivars and the ratio chlorophyll (*a+b*)/carotenoids in the leaves of the plantlets of cultivar Alpha decreased to the control level and below, which indicated stress level of this mechanocomposite concentration. The concentrations of 2.5 and 5.0 mg/L are optimal for adaptation of plantlets with high physiological state to *ex vitro* environment. In the composition of phenolic compounds, ellagic, gallic, p-coumaric, ferulic, and cinnamic acids, and their derivatives, were found. The mechanocomposite contributed to an increase in the content of most phenolic compounds in both cultivars. The contents of some constituents had not significantly changed or decreased (including ellagic acid in both cultivars). The results may be used for the development of production systems for a healthy planting material using biotechnological approaches and recommended for commercial strawberry micropropagation.

Keywords: mechanocomposite, silica, micropropagation, adaptation, cultivated strawberry, phenolic compounds, ellagic acid.

Земляника крупноплодная (*Fragaria ananassa* Duch.) – одна из наиболее востребованных ягодных культур во многих странах мира. Использование клонального микро размножения позволяет получить не только оздоровленный, генетически однородный посадочный материал, но и значительно ускорить процесс коммерческого размножения сортов *F. ananassa*. Однако размножение *in vitro* сопровождается различными типами стрессорных воздействий (высокая относительная влажность, недостаток кислорода, повышенное осмотическое давление), приводящих к формированию специфического фенотипа растений со слабо развитыми эпидермальными покровами, фотосинтезирующими тканями, устьичным аппаратом и корневой системой. В результате этого при переносе растений *in vitro* в условия *ex vitro* возможны значительные потери неадаптированных растений, снижающие эффективность технологии в целом. В связи с этим актуальным становится поиск новых веществ, позволяющих повысить эффективность систем регенерации и адаптации растений в условиях *in vitro/ex vitro*. В настоящее время большое внимание уделяется экологически чистым материалам «зелёной химии», преимуществами которых также является простота обработки и низкая себестоимость [1]. Известно, что соединения кремния обладают ростостимулирующей активностью и обеспечивают защитные функции растений на механическом, физиологическом и биохимических уровнях [2]. Значительный интерес вызывают кремнийсодержащие препараты, полученные из возобновляемого растительного сырья механохимическими методами. Преимуществом механохимической технологии является извлечение ценных соединений с наименьшей нагрузкой на окружающую среду, без дополнительных затрат тепловой энергии и органических растворителей [3]. Препараты такого типа имеют повышенную

растворимость, сохраняют натуральный состав и, поэтому, наиболее эффективно усваиваются растениями.

Основными показателями физиологического состояния растений являются содержание фотосинтезирующих пигментов в листьях и их соотношения [4]. Каротиноиды и фенольные соединения (ФС) различной структуры служат индикаторами состояний стресса и адаптации [5]. Состав ФС листьев *F. ananassa* изучен фрагментарно. В листьях обнаружены эллаговая и галловая кислоты, их производные, ванилиновая, п-оксибензойная, кофейная, хлорогеновая кислоты, а также флавонолы: кверцетин, кемпферол, мирицетин и их гликозиды, в том числе рутин [6, 7]. При этом до 50% суммы ФС могут составлять производные эллаговой кислоты. Содержание флавоноидов также достигает значительных величин (до 30% суммы фенольных соединений) [8, 9].

Целью данного исследования является изучение ростовых и биохимических параметров развития регенерантов *F. ananassa* под действием механокомпозиата на основе аморфного диоксида кремния и флавоноидов зелёного чая на этапе укоренения *in vitro*.

Объекты и методы

Характеристика механокомпозиата. Механокомпозиат (МК) на основе рисовой шелухи и зелёного чая получен в Институте химии твёрдого тела и механохимии СО РАН (г. Новосибирск). Шелуха риса *Oryza sativa* L. сорта Лиман (Краснодарский край, Россия) является богатым источником биогенного диоксида кремния (до 20%), имеющего аморфную структуру, что определяет его конкурентоспособность при синтезе производных по сравнению с кристаллическими модификациями, требующими затрат дополнительной энергии на разрушение кристаллической решетки. Листья зелёного чая *Camelia sinensis* L. (Крас-

нодарский край, Россия) содержат хелатирующие функциональные группы, существенно повышающие растворимость кремния с 6,5 до 34,1 мг/л. Механохимическую обработку сырья проводили в роликовой мельнице РМ-20 при частоте вращения 1000 об./мин, время пребывания материала в зоне механического воздействия составляло 40–60 с [10]. Химический состав МК: экстрактивные вещества – 16,3±1,1%; гемицеллюлоза – 22,3±0,8%; лигнин – 20,2±1,5%; целлюлоза – 38,9±2,0%; катехины – 1,4±0,2%; водорастворимый мономерный кремний – 34,0±0,7 мг/л. Массовое соотношение рисовой шелухи и зелёного чая в МК 10:1.

Растительный материал и условия культивирования. Микропобеги двух сортов *F. ananassa* Альфа и Солнечная полянка, адаптированных для выращивания в сибирском регионе, длиной около 1,0 см с двумя-тремя листьями из стерильной культуры помещали на питательные среды по прописи Гамборга и Эвелега – В₅ [11], дополненные 20,0 г/л сахарозы, 6,0 г/л агара бактериологического и МК в концентрациях 0,0; 2,5; 5,0 и 10,0 мг/л. Применение среды В₅ и указанных концентраций МК обусловлено их успешным использованием при микроразмножении *F. ananassa* [12]. Культуры содержали под люминесцентными лампами холодного белого света с интенсивностью освещения 3000 лк при 16-часовом фотопериоде и температуре 23±2 °С. Продолжительность культивирования составила 8 недель. В конце эксперимента оценивали ростовые параметры длину микропобегов и корней (см), количество листьев и корней на микропобег (шт.), сырую и сухую массы

корней и микропобегов (г), площадь листовой пластинки (см²), содержание фотосинтетических пигментов (мг/г сырой массы) и фенольных соединений (мг в 100 г абсолютно сухой массы) у регенерантов. Площадь листовых пластинок рассчитывали с помощью системы анализа изображений SIAMS MesoPlant.

Биохимический анализ. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях регенерантов определяли в ацетоновом экстракте спектрофотометрическим методом и рассчитывали по уравнениям Хольма–Ветштейна для 100% ацетона [13]. Сумму ФС экстрагировали 70% этанолом на водяной бане. Состав ФС изучали до и после гидролиза 2н HCl на жидкостном хроматографе «Agilent 1200» с диодноматричным детектором и системой для сбора и обработки хроматографических данных ChemStation [14]. Расчёт содержания ФС производили в эквивалентах эллаговой кислоты.

Статистический анализ. Все эксперименты выполнены в трёх повторностях по 20 регенерантов в каждом варианте. Данные представлены в виде средних значений и стандартных ошибок (M±m). Для сравнения средних значений независимых выборок использовали многокритерийный тест Дункана (однофакторный дисперсионный анализ). Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 8.0.

Результаты и обсуждение

Все испытанные концентрации МК способствовали развитию корневой системы

Таблица 1 / Table 1
Влияние механокомпозиата на ростовые параметры корневой системы *F. ananassa* в условиях *in vitro*
Effect of mechanocomposite on *in vitro* growth characteristics of *F. ananassa* root system

| Сорт Cultivar | Концентрация механокомпозиата, мг/л Mechanocomposite concentration, mg/L | Длина корней, см Root length, cm | Количество корней на микропобег, шт. Roots (number per microshoot) | Масса корней, г Root weight, g | |
|---|---|---|---|-----------------------------------|----------------------------|
| | | | | сырая / wet | сухая / dry |
| Солнечная полянка Solnechnaya polyanka | 0,0 | 3,02±0,15 ^c | 5,64±0,15 ^c | 0,031±0,003 ^c | 0,0021±0,0002 ^c |
| | 2,5 | 3,23±0,18 ^c | 7,68±0,27 ^a | 0,044±0,004 ^b | 0,0040±0,0002 ^b |
| | 5,0 | 4,00±0,21 ^b | 6,97±0,38 ^b | 0,042±0,006 ^b | 0,0051±0,0003 ^a |
| | 10,0 | 4,65±0,21 ^a | 6,87±0,25 ^b | 0,053±0,003 ^a | 0,0052±0,0003 ^a |
| Альфа Alpha | 0,0 | 3,29±0,09 ^b | 5,66±0,22 ^b | 0,044±0,002 ^b | 0,0040±0,0002 ^c |
| | 2,5 | 3,63±0,19 ^{ab} | 6,85±0,34 ^a | 0,053±0,005 ^a | 0,0061±0,0005 ^a |
| | 5,0 | 3,98±0,23 ^a | 6,64±0,33 ^a | 0,054±0,003 ^a | 0,0064±0,0005 ^a |
| | 10,0 | 4,24±0,18 ^a | 6,75±0,21 ^a | 0,040±0,003 ^b | 0,0050±0,0003 ^b |

Примечание к таблицам 1–3: Средние значения в столбцах, за которыми следуют одинаковые буквы, не имеют значимого отличия друг от друга в соответствии с тестом Дункана при $p < 0,05$.
Note to tables 1–3: Means followed by the same letter are not significantly different according to Duncan's test ($p < 0.05$).

Таблица 2 / Table 2

Влияние механокомпозита на ростовые параметры надземной части *F. ananassa* в условиях *in vitro*
Effect of mechanocomposite on *in vitro* growth characteristics of *F. ananassa* microshoots

| Сорт Cultivar | Концентрация механокомпозита, мг/л Mechanocomposite concentration, mg/L | Высота розетки, см Rosette height, cm | Количество листьев на микрообер, шт. /Leaves, (number per microshoot) | Площадь листовой пластинки, см ² Leaf blade area, cm ² | Масса микропобега, г Shoot weight, g | |
|---|--|--|--|---|---|--------------------------|
| | | | | | сырая wet | сухая dry |
| Солнечная полянка Solnechnaya polyanka | 0,0 | 2,55±0,08 ^a | 6,97±0,18 ^c | 5,34±0,39 ^b | 0,101±0,008 ^c | 0,009±0,001 ^b |
| | 2,5 | 2,24±0,10 ^b | 8,03±0,24 ^b | 5,54±0,4 ^b | 0,123±0,011 ^b | 0,013±0,003 ^a |
| | 5,0 | 2,26±0,11 ^b | 8,56±0,44 ^{ab} | 6,31±0,45 ^a | 0,134±0,011 ^{ab} | 0,014±0,001 ^a |
| | 10,0 | 2,38±0,07 ^{ab} | 8,63±0,20 ^a | 4,40±0,48 ^c | 0,146±0,010 ^a | 0,015±0,001 ^a |
| Альфа Alpha | 0,0 | 2,18±0,06 ^a | 6,95±0,21 ^c | 4,02±0,34 ^b | 0,072±0,005 ^c | 0,010±0,001 ^c |
| | 2,5 | 1,81±0,06 ^c | 7,81±0,21 ^b | 5,20±0,32 ^a | 0,112±0,010 ^a | 0,015±0,001 ^a |
| | 5,0 | 1,98±0,07 ^b | 8,24±0,25 ^b | 5,54±0,24 ^a | 0,122±0,007 ^a | 0,014±0,001 ^a |
| | 10,0 | 1,81±0,05 ^c | 9,20±0,30 ^a | 5,16±0,37 ^a | 0,088±0,007 ^b | 0,012±0,001 ^b |

Таблица 3 / Table 3

Влияние механокомпозита на содержание фотосинтетических пигментов в листьях
растений-регенерантов *F. ananassa* в условиях *in vitro* / Effect of mechanocomposite on *in vitro*
photosynthetic pigments content in leaves of *F. ananassa* plantlets

| Сорт Cultivar | Концентрация механокомпозита, мг/л Mechanocomposite concentration, mg/L | Хлорофилл, мг/г сырой массы Chlorophyll, mg/g | | | | Каротиноиды, мг/г сырой массы Carotenoids, mg/g | <i>a+b</i> / каротиноиды <i>a+b</i> / carotenoids |
|---|--|--|-------------------------|------------------------|-------------------------|---|--|
| | | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>a+b</i> | <i>a/b</i> | | |
| Солнечная полянка Solnechnaya polyanka | 0,0 | 0,53±0,02 ^{bc} | 0,71±0,04 ^c | 1,24±0,06 ^c | 0,75±0,02 ^a | 0,25±0,03 ^{ab} | 5,05±0,37 ^a |
| | 2,5 | 0,58±0,03 ^{ab} | 0,87±0,04 ^b | 1,45±0,07 ^b | 0,66±0,01 ^b | 0,23±0,02 ^b | 6,21±0,10 ^a |
| | 5,0 | 0,65±0,05 ^a | 0,99±0,06 ^a | 1,64±0,11 ^a | 0,66±0,01 ^b | 0,29±0,02 ^a | 5,77±0,02 ^a |
| | 10,0 | 0,49±0,05 ^c | 0,75±0,08 ^c | 1,24±0,12 ^c | 0,65±0,004 ^b | 0,22±0,02 ^b | 5,90±1,19 ^a |
| Альфа Alpha | 0,0 | 0,60±0,01 ^a | 0,83±0,03 ^b | 1,43±0,04 ^a | 0,73±0,02 ^a | 0,29±0,02 ^{ab} | 4,97±0,17 ^{bc} |
| | 2,5 | 0,64±0,07 ^a | 0,88±0,11 ^{ab} | 1,52±0,18 ^a | 0,73±0,01 ^a | 0,29±0,02 ^{ab} | 5,15±0,38 ^{ab} |
| | 5,0 | 0,68±0,05 ^a | 0,99±0,08 ^a | 1,67±0,14 ^a | 0,69±0,01 ^b | 0,30±0,03 ^a | 5,61±0,44 ^a |
| | 10,0 | 0,49±0,05 ^b | 0,65±0,05 ^c | 1,14±0,10 ^b | 0,75±0,02 ^a | 0,25±0,01 ^c | 4,41±0,17 ^c |

регенерантов. Длина корней увеличивалась в 1,5 раза, число корней – в 1,4 раза, сырая и сухая массы корней – в 1,6 и 2,5 раза относительно контроля, в зависимости от генотипа ($p < 0,05$) (табл. 1). Отмечено увеличение количества листьев и площади листовых пластинок в 1,3 раза (за исключением варианта с 10,0 мг/л у сорта Солнечная полянка), сырой и сухой массы микророзеток – в 1,2–1,9 раза в сравнении с контролем ($p < 0,05$) (табл. 2).

Применение МК в концентрации 2,5 и 5,0 мг/л приводило к увеличению содержания хлорофиллов *a* и *b* у регенерантов относительно контроля ($p < 0,05$) (табл. 3). Повышение концентрации МК до 10,0 мг/л оказывало ингибирующее действие на синтез фотосинтетических пигментов. Величина соотношения хлорофиллов *a/b* уменьшалась за счёт более интенсивного снижения синтеза хлорофилла *a*, по сравнению с хлорофиллом *b*.

Тенденция к увеличению доли хлорофилла *b* у регенерантов *F. ananassa* на средах с добавлением МК может быть связана с его адаптогенной активностью, направленной на повышение эффективности светособирающих комплексов. Величина соотношения хлорофилл (*a+b*)/каротиноиды увеличивалась относительно контроля в присутствии практически всех концентраций МК, что свидетельствует об оптимальном физиологическом состоянии регенерантов и способствует повышению адаптивности растений при переносе в нестерильные условия *ex vitro*.

Исключение составляет концентрация МК 10,0 мг/л в культуре сорта Альфа. Ухудшение физиологического состояния регенерантов на этой среде сопровождалось достоверным понижением величины соотношения хлорофилл (*a+b*)/каротиноиды на фоне уменьшения содержания суммы хлорофиллов (табл. 3).

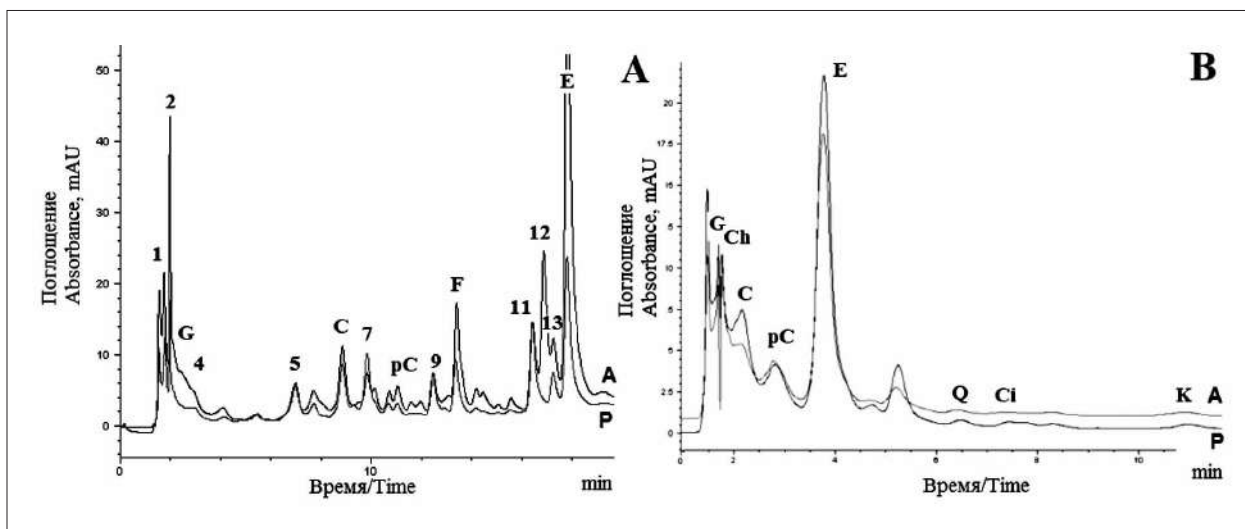


Рис. Фрагменты хроматограмм экстрактов (А) и гидролизатов (В) надземной части регенерантов сортов Альфа (А) и Солнечная полянка (Р). Условные обозначения: G – галловая кислота, Ch – хлорогеновая кислота, C – кофейная кислота, pC – p-кумаровая кислота, F – феруловая кислота, E – эллаговая кислота, Q – кверцетин, Ci – коричная кислота, K – кемпферол
Fig. Segments of the chromatograms of the extracts (A) and hydrolyzates (B) of aboveground parts of plantlets of the cultivars Alpha (A) и Solnechnaya polyanka (P). G – gallic acid, Ch – chlorogenic acid, C – caffeic acid, pC – p-coumaric acid, F – ferulic acid, E – ellagic acid, Q – quercetin, Ci – cinnamic acid, K – kaempferol

Таблица 4 / Table 4

Влияние механокомпозита на содержание фенольных соединений (мг/100 г) в надземной части растений-регенерантов *F. ananassa* в условиях *in vitro* / Effect of mechanocomposite on *in vitro* phenolic compounds contents (mg/100 g) in aerial parts of *F. ananassa* plantlets

| Пики Peaks | t _r | Сорт / Cultivar | | | | | | | |
|----------------|----------------|---|------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | Солнечная полянка / Solnechnaya polyanka | | | | Альфа / Alpha | | | |
| | | Концентрация механокомпозита, мг/л / Mechanocomposite concentration, mg/L | | | | | | | |
| | | 0,0 | 2,5 | 5,0 | 10,0 | 0,0 | 2,5 | 5,0 | 10,0 |
| 1hb | 1,8 | 102,6±5,5 | 123,3±10,4 | 95,2±7,6 | 149,5±8,8 | 84,5±5,5 | 205,5±16,0 | 302,1±14,2 | 166,3±11,9 |
| 2hb | 2,0 | 87,8±4,2 | 43,6±2,7 | 56,0±4,1 | 121,8±6,7 | 46,6±1,9 | 111,2±3,6 | 331,6±19,4 | 182,7±9,3 |
| G | 2,4 | 74,5±3,7 | 19,2±1,0 | 101,0±7,5 | 84,4±2,7 | 51,4±2,2 | 117,4±4,5 | 151,7±13,4 | 59,4±2,4 |
| 4hc | 2,9 | 54,4±2,4 | 177,7±7,7 | 61,5±1,6 | 174,7±12,1 | 56,2±0,6 | 83,1±2,3 | 122,4±9,4 | 116,2±6,4 |
| 5hb | 6,8 | 60,7±5,6 | 84,0±5,7 | 23,6±1,3 | 62,1±4,2 | 52,9±3,7 | 78,1±2,1 | 108,3±6,2 | 71,6±4,3 |
| C | 8,6 | 73,1±2,7 | 100,5±6,4 | 107,5±4,9 | 132,8±31,6 | 66,5±2,2 | 165,9±6,8 | 40,0±2,0 | 229,3±8,1 |
| 7hb | 9,7 | 78,7±2,4 | 35,6±1,1 | 20,1±1,3 | 104,1±6,7 | 52,5±1,7 | 78,7±2,9 | 53,4±2,1 | 55,9±1,4 |
| pC | 10,8 | 50,7±1,3 | 76,3±5,8 | 65,4±0,9 | 88,1±3,7 | 27,1±1,1 | 118,7±12,7 | 37,8±1,9 | 57,1±2,4 |
| 9hb | 12,3 | 123,7±7,0 | 80,3±2,4 | 107,5±6,9 | 90,5±4,6 | 77,5±2,3 | 74,1±1,8 | 45,1±2,1 | 45,5±1,9 |
| F | 13,3 | 55,6±2,0 | 120,8±5,7 | 323,4±20,9 | 275,3±19,3 | 71,3±2,2 | 386,8±16,1 | 223,3±14,8 | 173,8±6,4 |
| 11el | 16,3 | 250,7±3,1 | 239,8±20,2 | 257,0±16,7 | 190,6±9,0 | 184,0±12,3 | 149,0±11,0 | 153,8±9,4 | 165,2±11,5 |
| 12el | 16,8 | n.o. / n.d. | n.o. / n.d. | n.o. / n.d. | n.o. / n.d. | 261,5±22,8 | 202,7±0,7 | 185,9±14,4 | 129,7±9,3 |
| 13el | 17,2 | 44,9±1,3 | 86,6±4,7 | 104,0±6,8 | 87,2±5,2 | 117,2±10,3 | 121,9±13,8 | 84,1±5,7 | 218,6±17,7 |
| E | 17,7 | 317,4±16,2 | 257,2±20,8 | 310,3±16,9 | 331,4±25,6 | 461,4±36,3 | 585,1±27,3 | 436,1±23,2 | 501,5±23,5 |
| Итого Total | | 1375,0± 57,4 | 1444,9± 100,6 | 1632,6± 97,4 | 1892,3± 140,2 | 1610,7± 105,1 | 2478,3± 121,5 | 2275,6± 138,2 | 2172,9± 116,5 |

Примечание: t_r – время удерживания, мин. Обозначения пиков идентифицированных компонентов и цифровой индекс пиков неидентифицированных компонентов соответствуют рисунку. Буквенные индексы пиков: hb – оксисалicylic кислоты, hc – оксисалицильные кислоты, el – производные эллаговой кислоты. Н.о. означает отсутствие детекции пика.

Note: t_r – retention time, min. Peak designation of identified compounds and digital indexes of unidentified compounds correspond to figure. Alphabetic indexes of the peaks: hb – hydroxybenzoic acid, hc – hydroxycinnamic acid, el – ellagic acid derivative. N.d.: not detectable.

В составе ФС надземной части регенерантов *F. ananassa* обнаружены галловая, кофейная, феруловая, пара-кумаровая, эллаговая кислоты и их производные (рис.). Максимальным содержанием отличались эллаговая кислота и её производные (компоненты 12–13). Производные кверцетина, кемпферола и коричной кислоты выявлены в следовых количествах (рис., В). Такое соотношение групп фенольных соединений, вероятно, отражает специфику фенольного метаболизма изученных сортов в данных условиях, так как оно совпадает с таковым у растений, выращенных в открытом грунте. Это согласуется с данными о незначительном содержании гликозидов кверцетина в листьях некоторых видов *Fragaria* [15].

Сорт Альфа отличался от сорта Солнечная полянка по составу производных эллаговой кислоты (3 и 2 соответственно) и более высоким (в 1,2–1,7 раза) содержанием ФС. Содержание большинства компонентов при повышении концентрации МК увеличивалось (табл. 4) за исключением некоторых компонентов, содержание которых достоверно не изменялось или понижалось (компоненты 9 и 11 у обоих сортов, эллаговая кислота у сорта Солнечная полянка, компонент 12 у сорта Альфа).

Сорт Альфа отличался более значительным возрастанием концентраций большинства компонентов под действием МК. Сумма компонентов уже при концентрации 2,5 мг/л увеличилась в 1,5 раза. Содержание галловой, кофейной кислот и компонента 1 при добавлении МК увеличилось более чем в 3 раза, содержание п-кумаровой и феруловой кислот увеличилось более чем в 4,4 и 5,4 раза, а содержание компонента 2 – более чем в 7 раз. Увеличение в содержании компонентов сорта Солнечная полянка составляло 1,4–5,9 раза по сравнению с контролем.

Таким образом, добавление МК к среде способствовало возрастанию содержания большей части ФС изученных сортов. Более существенное возрастание суммы ФС и индивидуальных компонентов выявлено у сорта Альфа. Наиболее отзывчивыми компонентами на добавление МК являются минорные компоненты, а содержание эллаговой кислоты и ее производных либо изменяется незначительно, либо возрастает не столь значительно (в 1,1–2,0 раза). Этот факт согласуется с нашими предыдущими исследованиями [4]. Возрастание содержания фенолкарбоновых кислот и производных эллаговой кислоты в растениях

F. ananassa при адаптации также ранее было показано [9, 15].

Известно, что ФС принимают участие в процессах адаптации растений в роли низкомолекулярных антиоксидантов, уменьшающих последствия окислительного стресса [16]. Можно предположить, что МК индуцирует механизмы, способствующие повышению адаптивного статуса у регенерантов.

Заключение

Исследование морфологических и биохимических параметров роста растений-регенерантов *F. ananassa* на среде с добавлением МК на основе аморфного диоксида кремния и флавоноидов зелёного чая показало, что все испытанные концентрации МК (2,5; 5,0 и 10,0 мг/л) способствовали развитию корневой системы и надземной части регенерантов. Величины концентраций фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов), их соотношений (хлорофилл *a/b*, хлорофилл (*a+b*)/каротиноиды) и содержания большинства ФС, в том числе галловой, кофейной, п-кумаровой, феруловой кислот, свидетельствовали о том, что концентрации МК 2,5 и 5 мг/л являются оптимальными для получения регенерантов с высоким физиологическим статусом.

Полученные результаты морфо-физиологических и биохимических изменений регенерантов могут быть использованы для улучшения адаптивного потенциала растений под действием МК и позволяют рассматривать препарат, как перспективное соединение для практического применения с целью защиты растений от стресса при переносе растений из условий *in vitro* в условия *ex vitro*.

Исследование биохимических параметров регенерантов выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Новосибирской области в рамках Проекта № 19-44-540004 «Структурно-функциональный адаптогенез растений под действием механокомпозита на основе биогенного диоксида кремния и флавоноидов растительного происхождения в условиях in vitro и ex vitro: морфо-гистологические и биохимические подходы (на примере Fragaria ananassa Duch.)». Работа по выращиванию растений F. ananassa в условиях in vitro выполнена в рамках государственного задания ЦСБС СО РАН № АААА-А17-117012610051-5 по проекту «Оценка морфогенетического потенциала популяций растений Северной Азии экспериментальными

методами». При подготовке публикации использовались материалы биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН, «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте», USU 440534.

References

1. Karmanov A.P., Kocheva L.S., Ovodov Yu.S., Brovko O.S. The research of lignins of the agricultural plant waste // Theoretical and Applied Ecology. 2014. No. 2. P. 35–40 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2014-2-035-040
2. Guerriero G., Hausman J.F., Legay S. Silicon and the plant extracellular matrix // Front. Plant Sci. 2016. V. 7. Article 463. [Internet resource] <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2016.00463/full> (Accessed: 12.04.2016).
3. Lomovsky O.I., Lomovskiy I.O., Orlov D.V. Mechanochemical solid acid/base reactions for obtaining biologically active preparations and extracting plant materials // Green Chem. Lett. Rev. 2017. V. 10. No. 4. P. 171–185.
4. Karpova E.A., Fershalova T.D. Dynamics of leaf pigments content of *Begonia grandis* Dryander subsp. *grandis* introduced in West Siberia (Novosibirsk) // Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology. 2016. V. 33. No. 1. P. 140–158 (in Russian). doi: 10.17223/19988591/33/9
5. Karpova E.A., Fershalova T.D., Petruk A.A. Flavonoids in Adaptation of *Begonia grandis* Dryander subsp. *grandis* Introduced in West Siberia (Novosibirsk) // J. Stress. Physiol. Biochem. 2016. V. 12. No. 3. P. 44–56 (in Russian).
6. El-Mesallamy A.M.D., Hussein S.A.M., Gerby M.El., Abd El Azim M.H.M. Phenolic composition and biological activities of methanolic extract of strawberry leaves (*Fragaria ananassa*) // Natural products. 2013. V. 9. No. 6. P. 251–257.
7. Kårlund A., Hanhineva K., Lehtonen M., McDougall G.J., Stewart D., Karjalainen R.O. Nontargeted metabolite profiling highlights the potential of strawberry leaves as a resource for specific bioactive compounds // J. Sci. Food Agric. 2016. V. 97. No. 7. P. 2182–2190. doi: 10.1002/jsfa.8027
8. Simirgiotis M., Schmeda-Hirschmann G. Determination of phenolic composition and antioxidant activity in fruits, rhizomes and leaves of the white strawberry (*Fragaria chiloensis* spp. *chiloensis* form *chiloensis*) using HPLC-DAD–ESI-MS and free radical quenching techniques // J. Food Compos. Anal. 2010. V. 23. No. 6. P. 545–553. doi: 10.1016/j.jfca.2009.08.020
9. Kårlund A., Salminen J.-P., Koskinen P., Ahern J.R., Karonen M., Tiilikkala K., Karjalainen R.O. Polyphenols in strawberry (*Fragaria × ananassa*) leaves induced by plant activators // J. Agric. Food Chem. 2014. V. 62. No. 20. P. 4592–4600. doi: 10.1021/jf405589f.
10. Trofimova E.G., Podgorbunskikh E.M., Skripkina T.S., Bychkov A.L., Lomovsky O.I. Scaling of the mechanochemical process of production of silicon chelates // Bulg. Chem. Commun. 2018. V. 50. Special Issue K. P. 45–48.
11. Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley // Can. J. Biochem. 1968. V. 46. P. 417–421.
12. Ambros E., Batrakova V., Krasnikov A., Zaytseva Y., Trofimova E., Novikova T. Effect of a biogenic silica and green-tea-flavonoids-based mechanocomposite on *Fragaria × ananassa* Duch. leaf anatomy in in vitro conditions // BIO Web Conf. 2018. V. 11. Article 00001. [Internet resource] (Accessed: 21.08.2018). doi: 10.1051/bioconf/20181100001
13. Ermakov A.I., Arasimovich V.V., Yarosh N.P. Metody biokhimičeskogo issledovaniya rasteniy. Leningrad: Agropromizdat, 1987. 420 p. (in Russian).
14. Ambros E.V., Kotsupy O.V., Novikova T.I., Vysochina G.I. Clonal micropropagation of *Astragalus sericeocanus* Gontsch. and content of phenolic compounds in vitro // Turczaninowia. 2018. V. 21. No. 4. P. 87–99 (in Russian).
15. Hukkanen A.T., Kokko H.I., Buchala A.J., McDougall G.J., Stewart D., Karenlampi S.O., Karjalainen R.O. Benzothiadiazole induces the accumulation of phenolics and improves resistance to powdery mildew in strawberries // J. Agric. Food Chem. 2007. V. 55. No. 5. P. 1862–1870. doi: 10.1021/jf063452p
16. Kulbat K. The role of phenolic compounds in plant resistance // Biotechnol. Food Sci. 2016. V. 80. No. 2. P. 97–108.

Влияние солевого стресса на экспрессию генов K^+/Na^+ -транспортеров *HKT* и ферментов *SOD* и *Nfn* у пшеницы

© 2019. Л. И. Федорева, д. б. н, в. н. с.,
ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии РАН,
127550, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 42,
НИИ физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского МГУ
имени М. В. Ломоносова,
119991, Россия, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40,
e-mail: fedlara@inbox.ru

Проблема определения потенциала солеустойчивости пшеницы – одна из наиболее актуальных в селекционной практике для районов с первичным и вторичным засолением. Одним из способов, позволяющим преодолеть негативное воздействие фактора засоления, служит использование толерантных к засолению селекционных линий и сортов пшеницы. Высокая концентрация минеральных солей оказывает своё негативное влияние в основном за счёт нарушения ионного и осмотического равновесия клетки. В засоленных почвах высокие уровни ионов натрия приводят к торможению роста растений и даже к гибели. У растений имеется несколько механизмов защиты от вредного воздействия солей, которые включают выведение токсичных ионов Na^+ и Cl^- , блокировку транспорта ионов Na^+ в клетку, исключение Na^+ из потока транспирации и другие механизмы. Экспрессия генов K^+/Na^+ -транспортеров *HKT* является важным для характеристики солеустойчивости пшеницы. В сортах твёрдой и мягкой пшеницы Оренбургская 10 и Оренбургская 22 при солевом стрессе наблюдается увеличение экспрессии генов K^+/Na^+ -транспортеров семейств *HKT* 1;4 и *HKT* 2;1 в 3–4 раза. Уровень экспрессии генов супероксиддисмутазы *SOD* и бифункционального фермента *Nfn*, катализирующего восстановление никотинамидадениндинуклеотидфосфата, увеличиваются в 2–4 раза, что указывает на высокие адаптивные свойства этих сортов пшеницы к солевому стрессу. Вероятно, экспрессия генов семейств *HKT*, *SOD* и *Nfn* взаимосвязана. Увеличение уровня экспрессии генов семейств *HKT*, *SOD* и *Nfn* в корнях и листьях в условиях солевого стресса связано с быстрым восстановлением ионного баланса K^+/Na^+ и удалением токсичных ионов Na^+ и реактивных форм кислорода, то есть защитной функцией. Было отмечено, что при длительном воздействии засоления растение адаптируется к таким экстремальным условиям и роль ионных транспортеров уменьшается: чем сильнее снижается уровень экспрессии транспортеров *HKT* 1;4, тем сорт пшеницы более устойчив к хлоридному засолению.

Таким образом, было найдено, что сорта твёрдой пшеницы Оренбургская 10 и мягкой Оренбургская 22 имеют разную устойчивость к длительному воздействию хлорида натрия.

Ключевые слова: пшеница, солевой стресс, K^+/Na^+ -транспортеры, окислительный стресс, экспрессия генов.

Effect of salt stress on the expression of genes of K^+/Na^+ -transporters *HKT*, *SOD* and *Nfn* in *Triticum durum* and *Triticum aestivum*

© 2019. L. I. Fedoreyeva ORCID: 0000-0003-4601-1496
All-Union Scientific Research Institute of Agricultural Biotechnology,
Russian Academy of Sciences,
42, Timiryazevskaya St., Moscow, Russia, 127550,
Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology,
Lomonosov Moscow State University,
1/40, Leninskie Gori, Moscow, Russia, 119991,
e-mail: fedlara@inbox.ru

The problem of determining the potential of salt tolerance of wheat is one of the most pressing in the selection practice for areas with primary and secondary salinity. One of the ways to overcome the negative impact of the salinity factor is the use of saline-tolerant breeding lines and wheat genotypes. A high concentration of mineral salts has a negative effect mainly due to the violation of the ionic and osmotic equilibrium of the cell. In saline soils, high levels of sodium ions lead to inhibition of plant growth and even death. Plants have several mechanisms of protection against the

harmful effects of salts, which include the removal of toxic Na^+ and Cl^- ions, blocking the transport of Na^+ ions into the cell, the exclusion of Na^+ from the transpiration stream, and other mechanisms. Expression of K^+/Na^+ -transporter genes *HKT* is important for characterizing the salt tolerance of wheat. In genotypes of durum and aestivum wheat Orenburgskaya 10 and Orenburgskaya 22 under salt stress, an increase in the expression of the K^+/Na^+ genes of transporters of the *HKT1* and *HKT2* families is observed by 3–4 times. The expression level of superoxidedismutase *SOD* and bifunctional enzyme catalyzing reduction of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate *Nfn* increases by 2–4 times, which indicates the high adaptive properties of these wheat genotypes to salt stress. Probably, the expression of the *HKT*, *SOD* and *Nfn* genes are interconnected. An increase in the level of expression of the *NKT*, *SOD* and *Nfn* families in roots and leaves under salt stress conditions are associated with the rapid recovery of the K^+/Na^+ ion balance and the removal of toxic Na^+ and ions of reactive oxygen forms, i. e. protective function. It was noted that with prolonged exposure to salinity, the plant adapts to such extreme conditions and the role of ion transporters decreases: the level of expression of transporters *HKT1;4* decreases, wheat is more resistant to chloride salinity.

Thus, it was found that the varieties of wheat Orenburgskaya 10 and Orenburgskaya 22 have different resistance to prolonged exposure of sodium chloride.

Keywords: wheat, salt stress, K^+/Na^+ -transporters, oxidative stress, gene expression.

Избыточное засоление почвы неблагоприятно для большинства культурных растений. Легкорастворимые минеральные соли в концентрациях, превышающих 0,1–0,3%, влияют на физиологические, биохимические и молекулярные функции растений и, следовательно, приводят к снижению продуктивности и качества сельскохозяйственных культур во всём мире [1]. Общая площадь засоленных почв в мире составляет более 950 млн га. В России площадь засоленных почв составляет 36 млн га, или 18% от всех орошаемых площадей [2]. Площади засоленных сельскохозяйственных угодий имеют тенденцию к постоянному увеличению в результате процессов вторичного засоления, которое ежегодно приносит большой урон многим отраслям растениеводства и ограничивает использование площадей под сельскохозяйственные культуры в засушливых районах нашей страны. В настоящее время засоление почвы относится к одному из основных лимитирующих факторов, негативно влияющих на рост и развитие пшеницы.

Высокая концентрация солей оказывает своё негативное влияние в основном за счёт нарушения ионного и осмотического равновесия клетки. В засоленных почвах высокие уровни ионов натрия приводят к торможению роста растений и даже к гибели. Механизмы солеустойчивости включают выведение ионов Na^+ и Cl^- из вакуолей, блокировку транспорта ионов Na^+ в клетку, исключение Na^+ из потока транспирации и некоторые другие механизмы [3].

В ответ на высокий уровень солевого стресса экспрессируются различные гены, которые прямо или косвенно участвуют в защите растений [4]. Восприимчивость и толерантность к стрессу, обусловленному действием высокой концентрации NaCl у растений – это скоординированное действие мно-

жества генов, реагирующих на стресс [5, 6]. Клеточная токсичность, вызванная высоким содержанием ионов Na^+ , является преобладающей ионной токсичностью, она приводит к торможению различных процессов, таких как поглощение K^+ , инактивации жизненно важных ферментов [7, 8], торможение фотосинтеза [9]. У растений были выявлены несколько важных Na^+ -транспортеров, которые снижают высокую концентрацию Na^+ [10–12].

Растительные гены *HKT* транспортеры ионов калия и натрия разделяются на два подсемейства. Подсемейство *HKT1* найдено во всех высших растениях. Гены этого класса кодируют селективные ионные транспортеры, а гены подсемейства 2 кодируют транспортеры, которые являются проницаемыми для обоих ионов K^+ и Na^+ [13, 14]. Нарушение экспрессии генов семейства *HKT1* приводит к гиперчувствительности к ионам Na^+ и избыточному накоплению натрия в побегах. Изучение сигналов у растений в ответ на солевой стресс является одной из важнейших задач для решения увеличения урожайности в условиях засоления. Участие генов, чувствительных к стрессу, вызванному высокой концентрацией хлорида натрия, в различных метаболических процессах, может иметь решающее значение для решения увеличения устойчивости растений к абиотическому стрессу.

Устойчивость растений к засолению обусловлена наличием специфических и/или неспецифических механизмов обеспечения стабильного метаболизма, роста и развития в онтогенезе растения, связанных с чувствительностью к одному или нескольким видам стрессовых факторов, а именно к осмотическому, окислительному и токсическому стрессовому воздействию NaCl [12]. В результате соль-индуцированного окислительного стресса в растительных клетках образуется большое

количество супероксида, который является одним из основных прооксидантов [15]. Супероксиддисмутаза (SOD) относится к группе антиоксидантных ферментов и защищает клетку от образующихся кислородных радикалов, превращая супероксид в свободный кислород и перекись водорода, в результате чего этот фермент играет одну из ключевых ролей в защите организма от окислительного стресса. *Nfn* – это бифункциональный фермент, катализирующий восстановление никотинамидадениндинуклеотидфосфата (NADP), который необходим в метаболизме, он состоит из двух субъединиц: NADP⁺-оксидоредуктазы и NADH-зависимого ферредоксина [16].

Работа посвящена изучению экспрессии генов K⁺/Na⁺-транспортеров и генов, участвующих в ответе на окислительный стресс у твердой и мягкой пшеницы и выяснению характера их взаимосвязи.

Материалы и методы

Объектом изучения были два сорта яровой пшеницы Оренбургская 22 (*Triticum aestivum* Host.) и Оренбургская 10 (*Triticum durum* Desf.) из коллекции Оренбургского Федерального Научного центра Биологических Систем и Агротехнологий РАН. Пророщенные семена раскладывали на 20-ти см полоски фильтровальной бумаги. Рулоны поме-

щали в стаканы со 150 мл воды (контроль) или 150 мМ раствора NaCl. Выращивание проводили в климатической камере при 24 °С с искусственным освещением (5000 лк) день/ночь – 10/14 часов, соответственно. Схема опыта приведена на рисунке 1. Через 7 сут к ½ контрольных рулонов добавляли 150 мМ NaCl, а ½ рулонов с 150 мМ NaCl переносили на воду.

После окончания опыта собирали биомассу проростков и выделяли РНК из корней и побегов по стандартному методу с использованием наборов реагентов для выделения РНК «РНК-Экстран» (ООО «Синтол», Россия). Концентрацию выделенных препаратов РНК определяли спектрофотометрически. Для проведения обратной транскрипции кДНК получали по стандартной методике, используя набор реагентов ООО «Синтол».

Сведения о первичной структуре генов *HKT*, *SOD*, *Nfn* взяты из базы данных NCBI. Праймеры к этим генам были подобраны с помощью онлайн сервиса NCBI Primer-BLAST и синтезированы в ООО «Синтол».

ПЦР в реальном времени проводили в термоциклере CFX 96 Real-Time System (BIO-RAD). Подготовку образцов осуществляли по стандартному методу с помощью набора реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии Sybr Green ООО «Синтол». Реакцию ПЦР-РВ проводили в одинаковых условиях для всех образцов: 95 °С 5 мин – активация полиме-

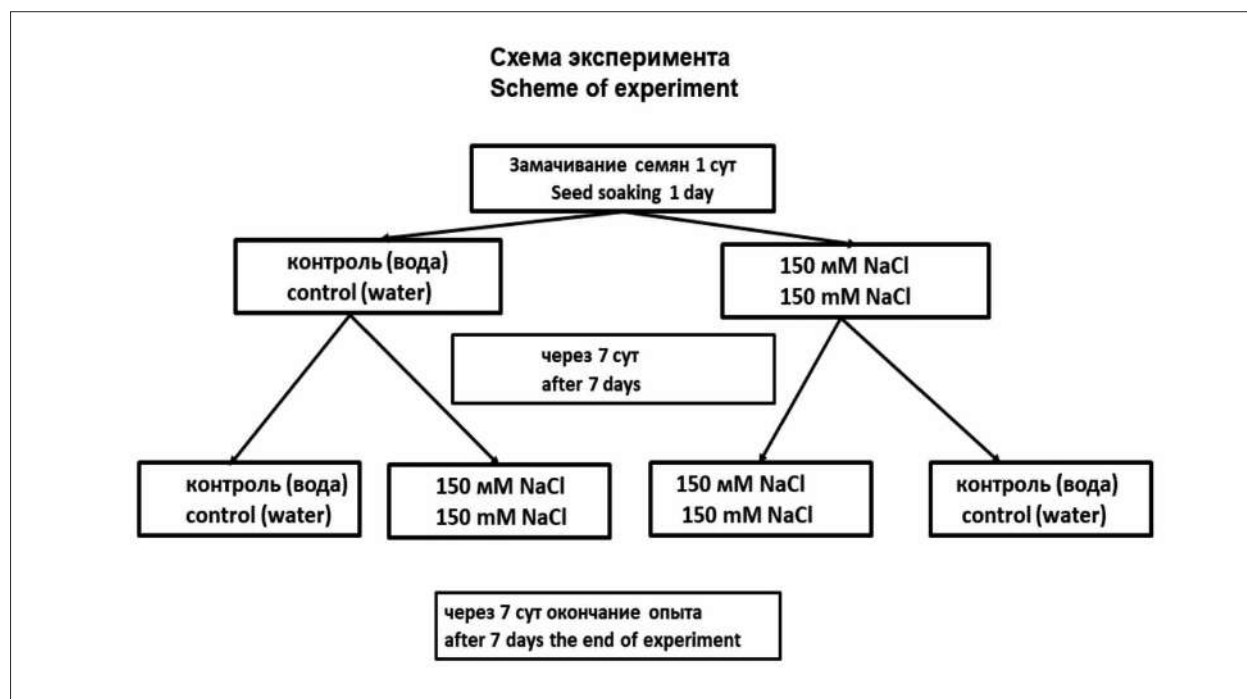


Рис. 1. Схема проведения опыта
Fig. 1. Scheme of the experiment

разы, далее 45 циклов – 94 °С 30 с, 58 °С 30 с, 72 °С 30 с. Реакцию осуществляли в 3-х повторениях. Относительный уровень экспрессии генов рассчитывали по калибровочной кривой, построенной с ПЦР-продуктами, полученными с праймерами к референсному гену *GaPDh*, экспрессия которого не зависит от внешних условий. Эффективность ПЦР в реальном времени с праймерами к исследованным генам была 95%.

В работе использовано оборудование Центра коллективного пользования ФГБНУ ВНИИСБ РАН.

Результаты и обсуждение

Засоление, индуцированное NaCl, вызывает ряд специфических реакций, воздействующих на прорастание семян. Нарушения могут сказываться в ингибировании набухания, нарушении наклёвывания семян, а также на более поздних этапах вызывать изменение роста первичного корня, боковых корней, колеоптиля или побега. Реакция каждого сорта на засоление имеет индивидуальные особенности.

Одним из видимых симптомов воздействия засоления является нарушение роста проростков. Несмотря на разную степень воздействия, результатом во всех случаях будет ингибирование роста корня и/или побега и по силе проявления этих показателей можно судить о влиянии токсичности соли на

развитие растения. Длительное воздействие высокой концентрации хлористого натрия (150 мМ) у сортов твёрдой (Оренбургская 10) и мягкой (Оренбургская 22) пшеницы вызывало уменьшение роста надземной части растения: у твёрдой почти в 2 раза, а у мягкой только на 20% по сравнению с контролями, и корневой системы только у мягкой почти в 2 раза по сравнению с контролем (проростками, выращенными на воде) (рис. 2).

Относительный уровень экспрессии гена *НКТ 1;4* у сорта мягкой пшеницы выявил незначительное увеличение экспрессии этого гена в корнях по сравнению с листьями ($\approx 25\%$) при выращивании в контрольных условиях (на воде). Выращивание пшеницы в присутствии высокой концентрации соли приводит к увеличению уровня экспрессии гена *НКТ 1;4* в побегах, в корнях, наоборот, наблюдается уменьшение уровня экспрессии почти в 2 раза (рис. 3).

Анализ литературных данных показал, что все исследования по изучению роли ионных транспортеров проводились при кратковременном воздействии NaCl на растения. В условиях солевого стресса роль транспортера *НКТ* класса I в корнях заключается в удалении ионов Na^+ из ксилемы в корнях, чтобы уменьшить их содержание в побегах [12–14]. Следовательно, чем выше уровень экспрессии транспортеров *НКТ 1;4*, тем меньше токсичных ионов остаётся в клетке. Однако, при постоянном воздействии засоления на пше-

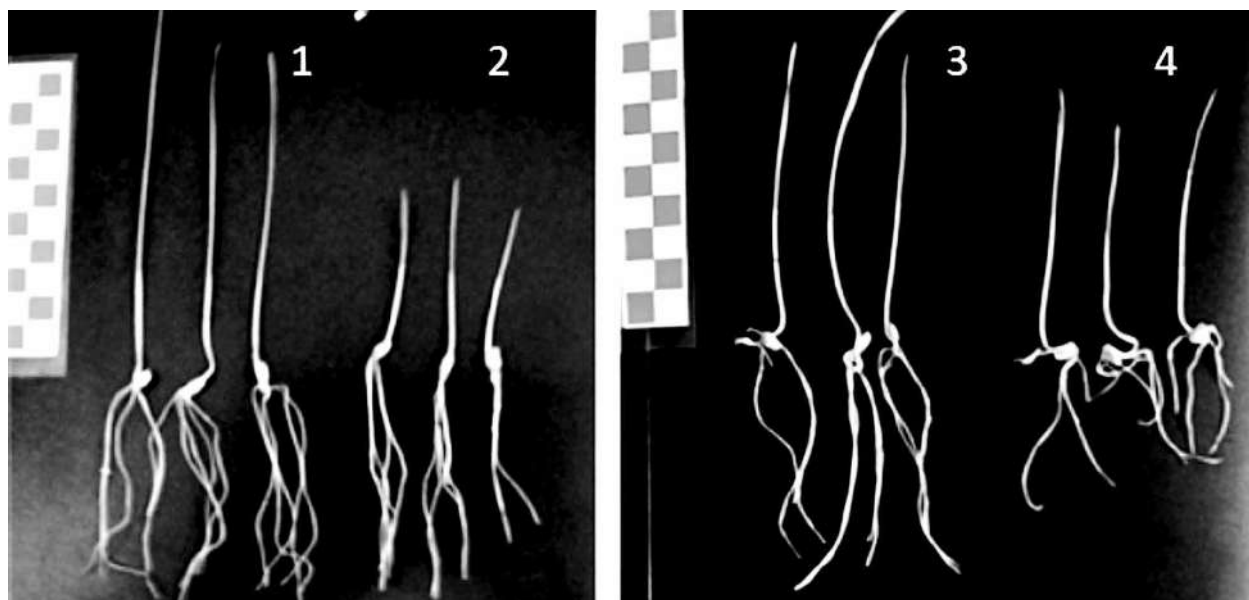


Рис. 2. Влияние 150 мМ NaCl на рост твёрдой (*Triticum durum*) (1, 2) и мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*) (3, 4): 1, 3 – контроль, 2, 4 – 150 мМ NaCl

Fig. 2. Influence of 150 mM NaCl on the growth wheat *Triticum durum* (1, 2) and *Triticum aestivum* (3, 4): 1, 3 – control, 2, 4 – 150 mM NaCl

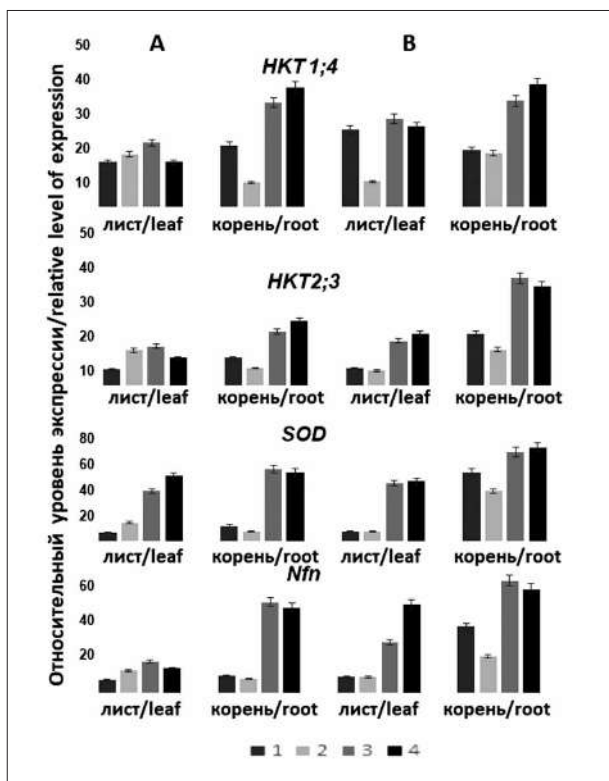


Рис. 3. Относительный уровень экспрессии генов в *Triticum durum* (А) и *Triticum aestivum* (В): 1 – контроль (вода), 2 – 150 мМ NaCl, 3 – перевод из воды в 150 мМ NaCl, 4 – перевод из 150 мМ NaCl на воду

Fig. 3. Relative level of expression genes in wheat *Triticum durum* (A) and *Triticum aestivum* (B): 1 – control (water), 2 – 150 mM NaCl, 3 – transfer from water into 150 mM NaCl, 4 – transfer from 150 mM NaCl into water

ницу из данных, представленных на рисунке 3, наблюдается обратная зависимость: чем выше уровень экспрессии транспортеров *HKT 1;4*, тем сильнее морфологические изменения у растения.

Так, у твёрдой пшеницы уровень экспрессии *HKT 1;4* в побегах увеличивается в присутствии NaCl, а высота побега уменьшается (хоть и незначительно). У мягкой пшеницы уровень экспрессии в побегах в присутствии NaCl уменьшается, а высота побегов остаётся без изменения. Совсем другая картина наблюдается в корнях мягкой пшеницы: уровень экспрессии транспортера *HKT 1;4* практически не изменяется, а длина корней сильно меняется. Вероятно, в условиях постоянного воздействия хлоридного засоления растение адаптируется к таким условиям и роль ионных транспортеров уменьшается. Чем сильнее подавляется экспрессия транспортеров *HKT 1;4*, тем сорт пшеницы более устойчив к действию постоянного воздействия NaCl.

Изменения условий выращивания пшеницы: замена водной среды на среду, содержащую 150 мМ NaCl, и замена солевой среды на воду приводит к увеличению уровня экспрессии гена *HKT 1;4*. По величине экспрессии гена *HKT 1;4* в пшенице можно судить об устойчивости или чувствительности сорта к солевому стрессу. Уровень экспрессии в корнях обоих сортов пшеницы увеличивается более чем в 2 раза по сравнению с листьями и в 3–4 раза по сравнению с контрольными вариантами. Интересно отметить, что экспрессия гена *HKT 1;4* в побегах твёрдой и мягкой пшеницы при солевом стрессе (изменение состава среды с воды на соль) выше, чем при водном стрессе (изменение состава среды с соли на воду), а в корнях обнаружена обратная зависимость.

Суперэкспрессия этого гена как в листьях, так и, особенно, в корнях, приводит к увеличению устойчивости растения к токсичному воздействию ионов натрия. Действительно, в обоих сортах пшеницы не было отмечено практически никаких морфологических изменений в результате действия стресса. Следовательно, именно изменение условий выращивания приводит к увеличению экспрессии гена *HKT* подсемейства 1, т. е. к увеличению его роли в выведении ионов натрия из клеток и, следовательно, к уменьшению поражения клеток в результате токсичного действия ионов натрия.

Транспортеры подкласса *HKT 2* переносят как ионы натрия, так и ионы калия. Ионные каналы имеют петли с четырьмя остатками глицина, замена даже одного из остатков глицина на серин может сопровождаться изменением селективности канала. Зависимость экспрессии генов *HKT 2;1* в обоих сортах пшеницы от солевого воздействия на наземную часть и на корневую систему имеет подобный характер с генами *HKT 1;4*. Присутствие высокой концентрации соли приводит к значительному увеличению экспрессии гена *HKT 2;1* как в побегах, так и в корнях, практически в 3–4 раза.

Можно предположить, что транспортеры класса *HKT 1* играют более важную роль в устойчивости растения к солевому стрессу, чем транспортеры класса *HKT 2*, который, скорее всего, выполняет дополнительную функцию в выведении токсичных ионов.

Изменение концентрации солей в воде, дисбаланс ионов и гиперосмотический стресс вызывают образование реактивных форм кислорода (ROS), что приводит к дальнейшему замедлению роста растений вплоть до гибели [17, 18]. Для уменьшения негативного влия-

ния ROS в растениях существуют различные механизмы. Одним из механизмов является ферментативное уменьшение токсикации ROS. В данной работе мы рассматривали экспрессию генов супероксиддисмутазы *SOD* и *Nfn*.

При длительном выращивании пшеницы в присутствии 150 мМ NaCl в корнях мягкой пшеницы уровень экспрессии *SOD* более высокий, чем в корнях твёрдой пшеницы, что может указывать на повышенный уровень ROS у мягкой пшеницы, образованных при воздействии высокой концентрации соли (рис. 3). Образование высокого содержания супероксида в корнях мягкой пшеницы под действием NaCl может приводить к морфометрическим изменениям, что и наблюдается в действительности: значительное уменьшение длины корня у пшеницы Оренбургская 22.

При изменении условий выращивания пшеницы уровень экспрессии *SOD* увеличивается в 3–4 раза, что указывает на высокие адаптивные свойства этих сортов пшеницы к солевому стрессу.

Уровень экспрессии гена *Nfn* имеет сходный характер с геном *SOD*, кроме низкого уровня экспрессии его в листьях твёрдой пшеницы сорта Оренбургская 10, что, скорее всего, указывает на взаимосвязь этих генов между собой.

Заключение

Изучение экспрессии генов-транспортеров *HKT* и генов *SOD* и *Nfn* является важным для характеристики солеустойчивости пшеницы. Уровень экспрессии генов семейств *HKT*, *SOD* и *Nfn* зависит от содержания NaCl в среде, изменения уровня экспрессии этих генов, вероятно, происходят по одному механизму и, скорее всего, они взаимосвязаны. Обнаружено, что изменение условий выращивания пшеницы сопровождается изменением экспрессии генов *HKT*, *SOD* и *Nfn*. При постоянном воздействии засоления растение адаптируется к таким экстремальным условиям и роль ионных транспортеров уменьшается: чем сильнее снижается уровень экспрессии транспортеров *HKT* 1;4, тем сорт пшеницы более устойчив к длительному воздействию NaCl.

Увеличение уровня экспрессии генов семейства *HKT*, *SOD* и *Nfn* в корнях и в листьях пшеницы сортов Оренбургская 10 и Оренбургская 22 в условиях солевого стресса связано с быстрым восстановлением ионного баланса K^+/Na^+ и удалением токсичных ионов Na^+ и ROS, т. е. защитной функцией и увели-

чением адаптивных свойств разных сортов пшеницы. Обнаружена тканевая специфичность экспрессии K^+/Na^+ -транспортеров у пшеницы в ответ на солевой стресс. Если относительный уровень экспрессии генов *HKT* в листьях увеличивается незначительно, то в корнях, как твёрдой, так и мягкой пшеницы, увеличивается в 2–3 раза по сравнению с контролем. Можно предположить, что основная роль ионных транспортеров – блокировать транспорт токсичных ионов из корней в побег и их выведение из корней.

На основании полученных данных следует, что сорта твёрдой и мягкой пшеницы имеют разную устойчивость к длительному воздействию NaCl, но оба сорта имеют высокую устойчивость к его кратковременному воздействию.

Понимание механизмов ионного транспорта важно для выяснения функции *HKT* во всём растении. Выяснение тканеспецифичной экспрессии *HKT*, *SOD* и *Nfn* и их механизмов контроля представляет интерес для увеличения толерантности растения к солевому стрессу.

Работа выполнена по госзаданию АААА-А17-117091460012-8 и при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-016-00150.

References

- Balandrán-Quintana R.R., Mercado-Ruiz J.N., Mendoza-Wilson A.M. Wheat bran proteins: a review of their uses and potential // Food Reviews International. 2015. V. 31. P. 279–293. doi: 10.10110.1016/j.foodchem.2016.01.005
- Belozerova A.A., Bome N.A. Study of the reaction of spring wheat to salinization by the variability of morphometric parameters of seedlings // Fundamentalnye issledovaniia. 2014. No. 12–2. P. 300–306 (in Russian).
- Munns R., Tester M. Mechanisms of salinity tolerance // Annu Rev Plant Biol. 2008. V. 59. P. 651–681. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911
- Tuteja N. Mechanisms of the high salinity tolerance in plants // Methods in Enzymology. 2007. V. 428. P. 419–438. doi: 10.1016/S0076-6879(07)28024-3
- DeRose-Wilson L., Gaut B.S. Mapping salinity tolerance during Arabidopsis thaliana germination and seedling growth // PLoS One. 2011. V. 6 (8). P. 1–12. doi: 10.1371/journal.pone.0022832
- Rains D.W., Epstein E. Transport of sodium in plant tissue // Science. 1965. V. 148. P. 1611. doi: 10.1126/science.148.3677.1611
- Flowers T.J., Läuchli A. Sodium versus potassium: substitution and compartmentation // Inorganic Plant Nutrition. 1983. V. 15b. P. 651–681.

8. Murguía J.R., Bellés J.M., Serrano R. A salt-sensitive 3(2'),5'-bisphosphate nucleotidase involved in sulfate activation // *Science*. 1995. V. 267. P. 232–234. doi: 10.1126/science.7809627
9. Tsugane K., Kobayashi K., Niwa Y., Ohba Y., Wada K., Kobayashi H. A recessive Arabidopsis mutant that grows photoautotrophically under salt stress shows enhanced active oxygen detoxification // *Plant Cell*. 1999. V. 11. P. 1195–1206. doi: 10.1105/tpc.11.7.1195
10. Wu S.J., Ding L., Zhu J.K. *SOS1*, a genetic locus essential for salt tolerance and potassium acquisition // *Plant Cell*. 1996. V. 8. P. 617–627. doi: 10.1105/tpc.8.4.617
11. Apse M.P., Aharon G.S., Snedden W.A., Blumwald E. Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiport in *Arabidopsis* // *Science*. 1999. V. 20. P. 1256–1258. doi: 10.1126/science.285.5431.1256
12. Apse M.P., Blumwald E. Na⁺ transport in plants // *FEBS Lett*. 2007. V. 581. P. 2247–2254. doi:10.1016/j.febslet.2007.04.014
13. Jabnoute M., Espeout S., Mieulet D., Fizames C., Verdeil J.L., Conéjéro G., Rodríguez-Navarro A., Sentenac H., Guiderdoni E., Abdely C., Véry A.A. Diversity in expression patterns and functional properties in the rice *HKT* transporter family // *Plant Physiol*. 2009. V. 150. P. 1955–1971. doi: 10.1104/pp.109.138008
14. Munns R., James R.A., Xu B., Athman A., Conn S.J., Jordans C., Byrt C.S., Hare R.A., Tyerman S.D., Tester M., Plett D., Gilliam M. Wheat grain yield on saline soils is improved by an ancestral Na⁺ transporter gene // *Nat. Biotechnol*. 2012. V. 11. P. 360–364. doi: 10.1038/nbt.2120
15. Houmani H., Rodríguez-Ruiz M., Palma J.M., Abdely C., Corpas F.J. Modulation of superoxide dismutase (SOD) isozymes by organ development and high long-term salinity in the halophyte *Cakile maritima* // *Protoplasma*. 2016. V. 253. P. 885–894. doi: 10.1007/s00709-015-0850-1
16. Buckel W., Thauer R.K. Flavin-based electron bifurcation. A new mechanism of biological energy coupling // *Chem Rev*. 2018. V. 118. P. 3862–3886. doi: 10.1021/acs.chemrev.7b00707
17. Foyer C.H., Noctor G. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications // *Antioxid. Redox Signal*. 2009. V. 11. P. 861–906. doi: 10.1089/ars.2008.2177
18. Kreslavskii V.D., Los D.A., Allakhverdiev S.I., Kuznetsov V.V. The signal role of reactive oxygen species in plants stress // *Fiziologiya rasteniy*. 2012. V. 59. P. 163–178 (in Russian).

К механизмам антивирусной активности бактерий рода *Bacillus* на растениях картофеля

© 2019. Р. М. Хайруллин¹, д. б. н., г. н. с., Г. Ф. Бурханова¹, к. б. н., н. с.,
А. В. Сорокань¹, к. б. н., н. с., Е. Р. Сарварова¹, м. н. с.,
С. В. Веселова¹, к. б. н., с. н. с., Е. А. Черепанова¹, к. б. н., н. с.,
С. Г. Вологин², к. б. н., в. н. с., Ф. Ф. Замалиева², д. с.-х. н., г. н. с.,
И. В. Максимов¹, д. б. н., зав. лабораторией,

¹Институт биохимии и генетики Уфимского федерального
исследовательского центра Российской академии наук,
450054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, д. 71, литер 1Е,

²Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Федерального
исследовательского центра
«Казанский научный центр Российской академии наук»,
420059, Россия, г. Казань, ул. Оренбургский тракт, д. 48,
e-mail: krm62@mail.ru

Вирусные заболевания ежегодно вызывают потери урожая и заметное снижение качества продукции растениеводства, в том числе важнейшей сельскохозяйственной культуры – картофеля (*Solanum tuberosum* L.). Антивирусных препаратов для растениеводства практически нет и, в этих условиях, использование биопрепаратов на основе эндофитных микроорганизмов, продуцирующих РНКазы, является перспективным методом защиты растений от вирусов. Проведён анализ способности штаммов бактерий *Bacillus* spp. влиять на поражение растений картофеля вирусами, а также продуцировать РНКазы. Обнаружено, что обработка штаммами бактерий *B. subtilis* 26Д и ВКПМ-5689 снижала уровень инфицированности растений вирусами более, чем на две трети в сравнении с контролем. При использовании комбинированного препарата МИКС (*B. subtilis* 26Д + *B. thuringiensis* ВКПМ-5689 + *B. thuringiensis* ВКПМ-6066) развитие Y-вируса картофеля (YVK) уменьшалось более, чем в 2 раза по сравнению с контрольными растениями. Впервые выявлено свойство этих штаммов бактерий секретировать РНКазы, способные, по мнению авторов, оказывать литический эффект на вирусы. Высказано предположение, что эндофитные штаммы *Bacillus* spp. с высокой РНКазной активностью являются перспективной основой экологически безопасных биопрепаратов для комплексной защиты растений.

Ключевые слова: картофель, микробиологические препараты, вирусы, РНКазы.

To the mechanisms of antiviral activity of *Bacillus* bacteria on potato plants

© 2019. R. M. Khairullin¹ ORCID: 0000-0001-8613-0786¹

G. F. Burkhanova¹ ORCID: 0000-0003-2346-3502¹, A. V. Sorokan¹ ORCID: 0000-0002-0443-7547¹

E. R. Sarvarova¹ ORCID: 0000-0002-0599-7618¹, S. V. Veselova¹ ORCID: 0000-0002-1219-2383¹

E. A. Cherepanova¹ ORCID: 0000-0002-9976-0944¹, S. G. Vologin² ORCID: 0000-0001-9173-7742²

F. F. Zamalieva² ORCID: 0000-0001-9110-5622², I. V. Maksimov¹ ORCID: 0000-0002-5707-3265¹

¹Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre
of the Russian Academy of Sciences,
Letter 1E, Building 71, Prospekt Oktyabrya, Ufa, Russia, 450054,

²Tatarstan Research and Development Institute of Agriculture – Subdivision of the Federal
Research Center “Kazan Scientific Center of Russian Academy of Sciences”,
48, Orenburgsky Trakt, Kazan, Russia, 420059,
e-mail: krm62@mail.ru

sive viruses with dominant monogenic type of inheritance. Transgenic technologies and genome editing technologies temporarily is effective when genes encoding the synthesis of certain proteins that contribute to increasing the resistance of plants to insects – viruses vectors or viruses themselves, are introduced into the genome of a plant of a commercially valuable variety by genetic transformation. A new approach to form genetically modified insect and virus resistant plants through an RNA-interference mechanism is also known. In this regard, new methods of transport such RNA-insecticides by using specific symbiotic microorganisms living in the insect intestine or using endophytic bacteria are interesting. Some strains of such endophytes can theoretically exhibit high antiviral activity due to the ability to synthesize, for example, RNase that degrades the viral genome, or the ability to induce systemic resistance in plants, as well as to exhibit insecticidal properties. The use of biological preparation based on endophytic microorganisms producing RNase can be a promising method of protecting plants from viruses. The ability of *Bacillus* spp. strains to affect the lesion of potato plants by viruses, and also produce RNases in our work was analyzed. Potato plants of Udacha variety were grown in Bashkortostan in the field at the Birsky Experimental Station of the Bashkir Research Institute of Agriculture of the Ufa Federal Research Centre of the RAS, and of Nevsky variety were grown in the field at the Central Experimental Base of the Tatar Research Institute of Agriculture of Federal Research Center Kazan Scientific Center of RAS. It was found that plant treatment with bacterial strains *B. subtilis* 26D and VKPM-5689 reduced the degree of infection of plants with viruses by more than two-thirds in comparison with the control. When using the combined preparation MIX (*B. subtilis* 26D + *B. thuringiensis* VKPM-5689 + *B. thuringiensis* VKPM-6066), the development of Y-potato virus (YBK) decreased by more than 2 times compared to control plants. For the first time was revealed that these bacterial strains can secrete RNases, which, according to the authors, is capable of causing a lytic effect on viruses. Thus, it is shown that it is possible to increase the resistance of potato plants to viruses by means of preparations based on studied strains of bacteria, which can limit the spread of insect – as viral vectors, as well, probably can have a direct viricidal effect due to the production of RNases.

Keywords: potato, microbiological preparations, viruses, RNases.

Экологизация защиты растений является одним из приоритетных направлений современного растениеводства. Неконтролируемое использование химических средств защиты сельскохозяйственных культур, применение их в больших дозах оказывают значительное негативное воздействие на агроценозы. В этих условиях применение биопрепаратов на основе живых микроорганизмов (МО) представляет больший интерес.

Существенные потери урожая клубней картофеля *Solanum tuberosum* L. (до 30%) и заметное снижение их качества вызывается поражением растений вирусами, число видов которых не менее 40 [1]. Одним из главных путей борьбы с вирусной инфекцией остаётся селекция устойчивых сортов, но, к сожалению, источников генов иммунитета к агрессивным вирусам с доминантным моногенным типом наследования у растений не так много [2]. Временно эффективными оказались трансгенные технологии и технологии редактирования геномов, когда в геном растения хозяйственно ценного сорта путём генетической трансформации вводятся определённые гены, кодирующие синтез защитных растительных белков, чужеродных инсектотоксичных белков (например, Cry и Vip бактерий *B. thuringiensis*, интерферон) или вирусных белков [3], способные улучшить то или иное его свойство [4]. Известен также подход к созданию генетически модифицированных растений, устойчивых к насекомым и вирусам, с помощью механизма РНК-интерференции. Перспективность борьбы с вредителями на

основе РНК-интерференции обсуждается также в аспекте создания биоинсектицидов (их, на наш взгляд, можно назвать «RNAi-инсектицидами») [5, 6]. С позиции [7], необходимо создавать несколько видов «RNAi-инсектицидов» или вводить целую кассету (против насекомых, вирусов, и, может быть, грибных фитопатогенов) в геном растения, что является проблемой как с точки зрения биобезопасности, так и с позиции формирования впоследствии у патогенов и вредных насекомых устойчивости к действию токсичных веществ, продуцируемых модифицированными растениями. В связи с этим интересны новые способы доставки таких «РНК-инсектицидов» с помощью специфичных симбиотических МО, живущих в кишечнике только определённого вида вредного насекомого [7] или с использованием эндофитных бактерий, ассоциированных с определёнными видами сельскохозяйственных культур. Некоторые штаммы таких эндофитов, теоретически, могут проявлять и высокую антивирусную активность благодаря наличию пула, например, РНКаз, разрушающих вирусный геном, индукции у растений системной устойчивости, а также проявлению инсектицидных свойств. Так, выявлено многократное уменьшение степени поражения растений свёклы вирусом некротического пожелтения жилок (BNYVV) после их обработки бактерией *B. amylolequifaciens*, что коррелировало с уменьшением численности гриба *Polymyxa betae* и экспрессией растительных генов, кодирующих защитные белки (PR-8, NPR-1) [8]. Обнаружено, что бактерия

B. subtilis BS3A25 сдерживает развитие мозаики огурца на томатах посредством угнетения переносчика этого заболевания – бахчевой тли *Aphis gossypii* [9].

В связи с этим изучение свойств эндофитных бактерий *Bacillus* spp. является актуальным для создания биопрепаратов с комплексной (антивирусной, инсектицидной, фунгицидной, иммунизирующей и ростстимулирующей) активностью с целью экологически безопасной защиты растений картофеля от болезней и вредителей. Целью данной работы явилось исследование наличия РНКазной активности у эндофитных, а также неэндофитных инсектотоксичных бактерий, влияние обработки ими растений картофеля на устойчивость к фитопатогенным вирусам.

Материалы и методы

Для проведения экспериментов использованы штаммы бактерий *B. subtilis* 26Д, *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* В-5689, *B. thuringiensis* var. *kurstaki* В-6066, любезно предоставленные для исследований ООО Научно-внедренческим предприятием «Башинком». Эндофитность бактерий была установлена ранее [10, 11]. Бактерии культивировали на среде Luria-Bertani (LB) в термостате ES-20 (Biosan, Латвия) при 25–27 °С. Для оценки влияния бактерий на антивирусную активность и урожайность картофеля использовали суточные культуры.

Внеклеточную РНКазную активность бактерий определяли согласно методике [12]. Для этого штаммы выращивали на среде LB с добавлением дрожжевой РНК (6 г/л) (Sigma, США) при 30 °С. Через 48 ч чашки Петри заливали 3 мл раствора 1М хлорной кислоты и выдерживали в течение 5 мин для осаждения РНК. При отсутствии РНКаз среда становилась молочно-белой, а при наличии вокруг колонии формировался прозрачный ореол (гало).

Активность внеклеточной РНКазы в культуральном фильтрате оценивалась согласно методике [13]. Для этого штаммы выращивали 48 ч на жидкой среде LB с добавлением дрожжевой РНК при 30 °С. Активность РНКаз в культуральном фильтрате после центрифугирования оценивали спектрофотометрически по поглощению при длине волны 260 нм, обусловленному гидролизом высокополимерной РНК и увеличением количества растворённых нуклеотидов.

Отбор растительного материала проводили на посадках картофеля раннеспелого сорта

Удача Бирской опытной станции Башкирского НИИ сельского хозяйства – обособленного структурного подразделения Уфимского федерального исследовательского центра РАН (БНИИСХ УФИЦ РАН) и посадках картофеля среднераннего сорта Невский Центральной экспериментальной базы Татарского НИИ сельского хозяйства Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр РАН» (ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН). Подготовка почвы и технология выращивания картофеля – общепринятая для регионов [14]. Площадь делянок 50 м², размещение систематизированное, повторность трёхкратная [15]. Сроки обработки: 1) полные всходы – до бутонизации; 2) бутонизация–цветение. Варианты обработок в условиях ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН: 1) Контроль – вода 200 л/га; 2) *B. subtilis* 26Д (сухой препарат) – 3 кг/га в 200 л воды; 3) МИКС (в 1 г сухой крахмально-сахарозной смеси 0,5 млрд. жизнеспособных спор и клеток бактерий *B. subtilis* 26Д, 0,25 млрд – *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* (ВКПМ В-5689) и 0,25 млрд – *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* (ВКПМ В-6066)) – 1 кг/га в 200 л воды. Варианты обработок в условиях БНИИСХ УФИЦ РАН: 1) контроль – вода, 200 л/га; 2) обработка бактериями *B. subtilis* 26Д – 2 л/га препарата (титр клеток 1 млрд/мл) в 200 л воды; 3) обработка бактериями *B. thuringiensis* В-5689 – 2 л/га препарата (титр клеток 1 млрд/мл) в 200 л воды.

Оценку распространения тлей и поражение растений вирусами в поле проводили согласно [16]. Диагностику вирусов картофеля Y (YBK), S (SBK) и M (MBK) проводили методом иммуноферментного анализа. Статистическую обработку результатов проводили с оценкой точного критерия Фишера [17].

Результаты и обсуждение

Обработка растений картофеля препаратом, содержащим только клетки *B. subtilis* 26Д – основу биофунгицида Фитоспорин-М, привела к уменьшению поражения растений MBK (табл. 1). При обработке смесью штаммов бактерий статистически достоверно уменьшилось распространение YBK и SBK на 57 и 44%, соответственно, но распространённость MBK не изменилась по сравнению с контролем.

Сходным образом обработка растений картофеля уменьшала степень распространения вирусов в условиях БНИИСХ УФИЦ РАН. Так, если на контрольных делянках было поражено 60% растений, то при обработке препа-

Таблица 1 / Table 1
Поражение растений картофеля вирусами (%) / The lesion of potato plants by viruses (%)

| Вариант / Variant | Вирус картофеля / Potato virus | | |
|---|--------------------------------|-----------|---------|
| | YBK | SBK | MBK |
| Контроль / Control | 50,4±4,3 | 33,6±4,0 | 5,8±2,0 |
| <i>B. subtilis</i> 26Д / <i>B. subtilis</i> 26D | 47,9±5,9 | 43,7±5,9 | 1,4±1,4 |
| МИКС / MIX | 21,7±5,0* | 18,8±4,7* | 5,8±2,8 |

Примечание: * Различия с контрольными растениями статистически значимы ($p < 0,05$).
Note: * Differences compared with control plants are statistically significant ($p < 0.05$).

Таблица 2 / Table 2
Влияние эндофитных штаммов рода *Bacillus* на распространённость тлей на посадках картофеля и поражённость растений насекомыми (%) / The influence of endophytic *Bacillus* strains on the prevalence of aphids in potatoes field and on the damage of plants by insects (%)

| Показатель / Index | Вариант / Variant | | | |
|---|---------------------|--|--------------------------|------------------------|
| | контроль control | <i>B. subtilis</i> 26Д <i>B. subtilis</i> 26D | <i>B. thuringiensis</i> | |
| | | | ВКПМ-5689 / VKPM-5689 | ВКПМ-6066 VKPM-6066 |
| Распространённость / Prevalence | 25,6 | 14,8 | 12,2 | 17,9 |
| Поражённость растений Damaged plants | 6,5 | 3,5 | 3,1 | 4,3 |

ратом бактерий *B. subtilis* 26Д выявлено 18% больных растений, бактериями *B. thuringiensis* В-5689 – 33%.

Очевидно, что наличие антивирусной активности препарата, содержащего три штамма бактерий (табл. 1), из которых два вида относятся к инсектотоксичным, могло проявиться благодаря подавлению распространённости насекомых переносчиков вирусов и, как следствие, уменьшению ими повреждения, в то время как антивирусную активность *B. subtilis* 26Д до данной работы невозможно было объяснить.

Кроме того, установлено, что обработка растений не только двумя штаммами известных по инсектотоксичности бактерий *B. thuringiensis* существенно уменьшала распространение тли – одного из известных переносчиков вирусов, но и обработка препаратом на основе бактерии *B. subtilis* 26Д, известной, в первую очередь, как основы биофунгицида (табл. 2) оказывала аналогичное инсектицидное действие.

Таким образом, одним из механизмов уменьшения распространения вирусов на растениях картофеля при обработке препаратами на основе изученных штаммов бактерий является их способность подавлять распространение тли на растениях.

На основе полученных данных можно предположить, что кроме инсектицидной активности бактерии могли оказывать негативный эффект и непосредственно на сами вирусные частицы. По имеющимся у нас данным,

прямых тестов на проявление антивирусной активности бактериями *in vitro* нет. Косвенно о способности бактерий оказывать влияние на вирусы можно судить по наличию активности РНКаз, полагая, что эти МО секретируют такие ферменты в среду и, тем самым, способны разрушать РНК вирусных частиц.

Действительно, нами впервые была выявлена способность исследованных штаммов секретировать в окружающую среду РНКазы (табл. 3). При этом все три штамма характеризовались примерно в равной степени такой активностью. Аналогичные результаты были получены и при оценке активности РНКазы в двухсуточном культуральном фильтрате. Таким образом, препарат МИКС характеризовался наличием инсектицидной и антивирусной активностей благодаря уменьшению распространения насекомых на посадках картофеля и, возможно, прямому антивирусному действию бактерий.

Известно, что многие бактерии, в особенности из рода *Bacillus*, способны продуцировать РНКазы, а также нуклеазы и другие белки, отвечающие за РНК-интерференцию [18]. Например, бактерии *B. amyloliquefaciens*, *B. intermedius* и *B. licheniformis* могут вырабатывать внеклеточные рибонуклеазы – барназы, биназы и балифазы, соответственно [19, 20]. Вероятно, этим можно объяснить способность сока из листьев табака, инфицированных клетками *Pseudomonas putida* АЗ, непосредственно разрушать частицы вируса табачной мозаики (ВТМ) [21, 22]. Обнаруже-

Сравнительная активность РНКазы бактерий
Comparative activity of bacteria RNase

| Штамм / Strain | Размер гало, мм Halo size, mm | Активность РНКазы, ед./ (мин · мг белка) RNase activity, unit/ (min · mg protein) |
|--|----------------------------------|--|
| <i>B. subtilis</i> 26Д / <i>B. subtilis</i> 26D | 4,5 | 13,8±0,4 |
| <i>B. thuringiensis</i> ВКПМ-6066 <i>B. thuringiensis</i> VKPM-6066 | 4,0 | 10,8±0,3 |
| <i>B. thuringiensis</i> ВКПМ-5689 <i>B. thuringiensis</i> VKPM-5689 | 5,0 | 13,7±0,4 |

но, что барназы, кроме способности подавлять вирусную инфекцию, могут уменьшать развитие других болезней, например, фитофтороза, что доказано на трансгенных растениях табака, продуцирующих барназу [23]. Недавние исследования демонстрируют способность искусственных рибонуклеаз инактивировать РНК-содержащие вирусы посредством разрушения РНК и оболочки вирусных частиц [24]. Известно, что высокая устойчивость к патогенам наблюдается у трансгенных растений, экспрессирующих, например, нуклеазу *Serratia marcescens* [25]. Установлено, что бактерии штамма *B. cereus* ZH14 продуцируют новый тип секреторируемой РНКазы, активной против вируса табачной мозаики [26]. У бактерий рода *Bacillus*, особенно *B. subtilis* и *B. thuringiensis*, чаще всего используемых в защите растений, секреторируемые барназы и биназы известны как антивирусные и антираковые агенты [20].

В нашей работе впервые изучена способность описанных выше штаммов бацилл продуцировать внеклеточные РНКазы. Установлено, что, несмотря на принадлежность к разным видам и подвидам, бактерии продуцируют фермент(ы), примерно равные по активности, при культивировании как на твердой, так и жидкой питательной средах.

Заключение

Для эффективного подавления вирусных заболеваний необходимо постоянное присутствие противовирусных соединений непосредственно в тканях растений. Такой способностью могут обладать только эндофитные МО, продуцирующие РНКазы. Поэтому одним из подходов в защите растений от вирусной инфекции может быть использование эндофитных бактерий *Bacillus* spp., продуцирующих высокоактивные РНКазы, наряду со способностью проявлять инсектотоксичные и фунгицидные свойства. Однако данных об использовании такого подхода к созданию био-

препаратов с комплексом защитных свойств в научных публикациях не встречается. На основе проведенных исследований нами показана возможность применения такого подхода для повышения устойчивости растений картофеля к вирусам с помощью препаратов на основе изученных штаммов бактерий, способных ограничивать распространение насекомых-переносчиков вирусных частиц, а также оказывать прямой вирицидный эффект благодаря продукции РНКаз.

Работа выполнена в рамках совместного международного гранта РНФ и Департамента науки и техники (DST) правительства Индии № 19-46-02004. Энтомологические исследования (ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН) проводились в рамках Государственного задания Минобрнауки РФ № АААА-А18-118031390148-1.

References

1. Makarova S.S., Makarov V.V., Taliansky M.E., Kalinina N.O. Resistance to viruses of potato: current status and prospects // Russian Journal of Genetics: Applied Research V. 21. No. 1. P. 62–73 (in Russian). doi: 10.18699/VJ17.224
2. Nicaise V. Boosting innate immunity to sustainably control diseases in crops // Current Opinion in Virology. 2017. V. 26. P. 112–119. doi: 10.1016/j.coviro.2017.07.030
3. Dasgupta I., Malathi V.G., Mukherjee S.K. Genetic engineering for virus resistance // Current Science. 2003. V. 84 (3). P. 341–354.
4. Prins M., Laimer M., Noris E., Schubert J., Wasenegger M., Tepfer M. Strategies for anti-viral resistance in transgenic plants // Mol. Plant. Pathol. 2008. V. 9 (1). P. 73–83. doi: 10.1099/vir.0.80958-0
5. Whyard S., Singh A.D., Wong S. Ingested double-stranded RNase can act as species-specific insecticides // Insect Biochemistry and Mol. Biol. 2009. V. 39 (11). P. 824–832. doi: 10.1016/j.ibmb.2009.09.007
6. Huvenne H., Smaghe G. Mechanisms of dsRNA uptake in insects and potential of RNAi for pest control: a review // J. Insect. Physiol. 2010. V. 56 (3). P. 227–235. doi: 10.1016/j.jinsphys.2009.10.004

7. Whitten M.M.A., Facey P.D., Del Sol R., Fernández-Martínez L.T., Evans M.C., Mitchell J.J., Dyson P.J. Symbiont-mediated RNA interference in insects // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2016. V. 283 (1825). P. 20160042. doi: 10.1098/rspb.2016.0042
8. Desoignies N., Schramme F., Ongena M., Legrève A. Systemic resistance induced by *Bacillus* lipopeptides in *Beta vulgaris* reduces infection by the rhizomania disease vector *Polymyxa betae* // *Mol. Plant Pathol.* 2013. V. 14 (4). P. 416–421. doi: 10.1111/mp.12008
9. Sudhakar N., Thajuddin N., Murugesana K. Plant growth-promoting rhizobacterial mediated protection of tomato in the field against cucumber mosaic virus and its vector *Aphis gossypii* // *Biocontrol Science and Technology*. 2011. V. 21 (3). P. 367–386. doi: 10.1080/09583157.2011.552969
10. Burkhanova G.F., Veselova S.V., Sorokan' A.V., Blagova D.K., Nuzhnaya T.V., Maksimov I.V. Strains of *Bacillus* ssp. regulate wheat resistance to *Septoria nodorum* Berk // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2017. V. 53. No. 3. P. 346–352. doi: 10.7868/S0555109917030047
11. Sorokan A.V., Benkovskaya G.V., Blagova D.K., Maksimova T.I., Maksimov I.V. Defense responses and changes in symbiotic gut microflora in the colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* under the effect of endophytic bacteria from the genus *Bacillus* // *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2018. No. 4. P. 264–270 (in Russian). doi: 10.7868/S0044452918040063
12. Hole R.C., Singhal R.S., Melo J.S., D'Souza S.F. A rapid plate screening technique for extracellular ribonuclease producing strains // *BARC Newsletter*. 2004. No. 249. P. 91–96.
13. Margulis A.B., Sidiat O.V., Nikitina E.V., Kolpakov A.I., Ilinskaya O.N. Homoserine lactone as regulator of inducible and constitutive microorganisms enzymes // *Vestnik Kazanskogo Technologicheskogo Universiteta*. 2012. V. 15. No. 17. P. 173–176 (in Russian).
14. Zamalieva F.F., Salikhova Z.Z., Stashevskii Z., Safiullina G.F., Nazmieva R.R. Healthy potato seeds. Recommendations for growing. Kazan: Foliant, 2007. 60 p. (in Russian).
15. Dospikhov B.A. Methodology of field experience. Moskva: Agropromizdat, 1985. 351 p. (in Russian).
16. Research methodology for the protection of potatoes from diseases, pests, weeds and for plant immunity. Moskva: VNIKH, Rossel'hozakademiya, 1995. 65 p. (in Russian).
17. Rebrova O.Y. Statistical analyses of medical dates. Application of STATISTICA programs. Moskva: Media Sfera, 2002. 312 p. (in Russian).
18. Aguiar E.R.G.R., Olmo R.P., Marques J.T. Virus derived small RNAs: molecular footprints of host-pathogen interactions // *WIREs RNA*. 2016. No. 7. P. 824–837. doi: 10.1002/wrna.1361
19. Ulyanova V., Mahmud R.Sh., Dudkina E., Vershinina V., Domann E., Ilinskaya O. Phylogenetic distribution of extracellular guanyl-preferring ribonucleases renews taxonomic status of two *Bacillus* strains // *J. Gen. Appl. Microbiol.* 2016. V. 62. P. 181–188. doi: 10.2323/jgam.2016.02.005
20. Ulyanova V., Vershinina V., Ilinskaya O. Barnase and binase: twins with distinct fates // *FEBS J.* 2011. V. 278. P. 3633–3643. doi: 10.1111/j.1742-4658.2011.08294.x
21. Yang J., Guo C., Zhai X., Shen L., Qian Y., Wang F. Inactivation of tobacco mosaic virus in soil by *Pseudomonas putida* A3-m strain to prevent virus mosaic disease // *African J. Microbiol. Res.* 2012. V. 6. P. 6300–6307. doi: 10.5897/AJMR12.1123
22. Guo B., Lin J., Ye K. Structure of the autocatalytic cysteine protease domain of potyvirus helper-component proteinase // *J. Biol. Chem.* 2011. V. 286 (21). P. 937–943. doi: 10.1074/jbc.M111.230706
23. Natsoulis G., Boeke J.D. New antiviral strategy using capsid-nuclease fusion proteins // *Nature*. 1991. No. 352. P. 632–635. doi: 10.1038/352632a0
24. Fedorova A.A., Azzami K., Ryabchikova E.I., Spitsyna Y.E., Silnikov V.N., Ritter W., Gross H.J., Tautz J., Vlassov V.V., Beier H., Zenkova M.A. Inactivation of a non-enveloped RNA virus by artificial ribonucleases: honey bees and acute bee paralysis virus as a new experimental model for in vivo antiviral activity assessment // *Antiviral Research*. 2011. V. 91. P. 267–277. doi: 10.1016/j.antiviral.2011.06.011
25. Trifonova E.A., Komarova M.L., Leonova N.S., Shcherban' A.B., Kochetov A.V., Malinovskii V.I., Shumnyi V.K. Transgenic potato (*Solanum tuberosum* L.) plants expressing the gene of secretory nuclease from *Serratia marcescens* // *Doklady RAN*. 2004. V. 394. P. 39–41 (in Russian).
26. Zhou W.W., Niu T.G. Purification and some properties of an extracellular ribonuclease with antiviral activity against tobacco mosaic virus from *Bacillus cereus* // *Biotechnol. Lett.* 2009. V. 31. P. 101–105. doi: 10.1007/s10529-008-9831-1

Сигнальная регуляция активности защитных белков в растениях картофеля *in vitro* при поражении возбудителем фитофтороза

© 2019. Л. Г. Яруллина^{1,2}, д. б. н., профессор, в. н. с.,
А. В. Сорокань¹, к. б. н., н. с., Г. Ф. Бурханова¹, к. б. н., н. с.,
В. О. Цветков², к. б. н., доцент,

¹Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН,
450054, Россия, г. Уфа, пр. Октября, д. 71,

²Башкирский государственный университет,
450076, Россия, г. Уфа, ул. Заки Валиди, д. 32,
e-mail: yarullina@bk.ru

Проведена сравнительная оценка влияния различных сигнальных молекул – салициловой (СК) и жасмоновой (ЖК) кислот, хитоолигосахаридов (ХОС), метаболитов бактерий *Bacillus subtilis* (МБ) на активность защитных белков в растениях *Solanum tuberosum* L. при инфицировании оомицетом *Phytophthora infestans* Mont. de Bary. Исследования проводили на пробирочных растениях картофеля восприимчивого сорта Ранняя Роза. Выявлено, что обработка растений СК, ЖК, ХОС и МБ способствует снижению степени поражённости листьев картофеля *P. infestans* и оказывает стимулирующее действие на концентрацию пероксида водорода (H₂O₂) и транскрипционную активность генов патоген-индуцируемых белков (PR-белков) (ингибиторов гидролаз, хитиназ, пероксидаз). Обсуждаются возможные механизмы повышения устойчивости картофеля к возбудителю фитофтороза экологически безопасными соединениями.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, *Phytophthora infestans*, сигнальные молекулы, PR-белки, экологически безопасное растениеводство.

Signal regulation of activity of protective proteins in potato plants *in vitro* with the defeat potato late blight

© 2019. L. G. Yarullina^{1,2} ORCID: 0000-0003-1459-0067, A. V. Sorokan¹ ORCID: 0000-0002-0443-7547,
G. F. Burkhanova¹ ORCID: 0000-0003-2346-3502, V. O. Tsvetkov² ORCID: 0000-0001-9646-478X,

¹Institute of Biochemistry and Genetics,
71, Prospekt Oktyabrya, Ufa, Russia, 450054,

²Bashkir State University,
32, Zaki Validi St., Ufa, Russia, 450076,
e-mail: yarullina@bk.ru

A comparative assessment of the influence of various signal molecules – salicylic (SA) and jasmonic (JA) acids, chitoooligosaccharides (COS), metabolites of *Bacillus subtilis* bacteria (MB) on the degree of infestation of the leaves and the activity of protective proteins in the plants of *Solanum tuberosum* L. infected with oomycete *Phytophthora infestans* Mont. de Bary is carried out. Studies were carried out on test-tube plants of potato of susceptible variety Early rose. It is revealed that processing plants SA, JA, COS and MB reduces the degree of infestation of potato leaves by *P. infestans*, but at varying degrees. The best protective effect provided the JA and the *B. subtilis* 26D bacterial strain. Treatment with SA, JA, COS and *B. subtilis* increased the level of H₂O₂ in potato plants. COS and *B. subtilis* 11VD had earlier stimulating effect on the production of hydrogen peroxide (24 h after infection). The maximum stimulating effect on the production of H₂O₂ in the case with treatment with SA and *B. subtilis* 26D at 48 hours after inoculation was revealed. SA and JA had a stimulating effect on the transcriptional activity of amylase inhibitor and proteinase inhibitor genes in uninfected potato plants and especially in infected ones. The possible mechanisms of increasing the resistance of potatoes to the pathogen of late blight by environmentally safe compounds are discussed. Very promising for potato plants is the creation and use of environmentally friendly drugs, the protective effect of which against *P. infestans* is based on the stimulation of H₂O₂ production and activation of hydrolase inhibitor gene expression in infected tissues.

Keywords: *Solanum tuberosum*, *Phytophthora infestans*, signal molecules, PR-proteins, environmentally safe crop production.

В условиях высокой антропогенной нагрузки на агроэкосистемы остро встаёт вопрос экологически безопасного растениеводства, требующего новых подходов к защите растений от патогенов. Предполагается, что важную роль в защите от патогенов играют мобильные сигнальные элементы, последовательно формирующие системную устойчивость к патогенам [1]. Сигнальные молекулы могут быть как эндогенного (растительного), так и экзогенного (патогенного) происхождения [2]. Наиболее эффективными экзогенными сигнальными молекулами считаются производные хитона, в частности, низкомолекулярные водорастворимые хитоолигосахариды (ХОС) [3].

Салициловая кислота (СК) и жасмоновая кислота (ЖК) являются эндогенными сигнальными молекулами, механизм защитного действия которых связан с индукцией генерации активных форм кислорода (АФК) в растительных тканях. Эти вещества, сами не обладая антимикробной активностью, стимулируют защитные реакции клеток растений посредством активации синтеза ряда связанных с патогенезом белков, в том числе и ингибиторов гидролаз патогенов [4].

Большое значение в сигнальной регуляции устойчивости к патогенам отводят непатогенным ризобактериям, регулирующим рост растений (*plant growth promoting rhizobacteria*, PGPR). Большинство из них запускают каскад защитных реакций за счёт выработки различных метаболитов [5], в том числе веществ пептидной природы, обладающих противовирусным, бактерицидным, фунгицидным и инсектицидным действием [6].

Особый интерес представляют циклические низкомолекулярные липопептиды – сурфактин, итурин и фенгизин [7]. В частности, сурфактины запускают в растениях табака активную генерацию H_2O_2 и ряда компонентов оксипириновой сигнальной системы, включая ингибиторы протеиназ [8].

Поскольку СК, ЖК, ХОС, PGPR положительно влияют на устойчивость растений, они находят широкое применение в сельскохозяйственной практике. В то же время, механизмы формирования защитного ответа недостаточно изучены. Подобные исследования являются важными для патосистемы картофель – возбудитель фитофтороза, учитывая широкое распространение этого заболевания в России.

Целью работы было изучить влияние салициловой и жасмоновой кислот, хитоолигосахаридов и метаболитов бактерий *Bacillus subtilis* на активность защитных соединений

в растениях картофеля при инфицировании возбудителем фитофтороза.

Объекты и методы исследования

Объектом исследований были пробирочные растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Ранняя Роза. Растения культивировали *in vitro* в течение 30 сут на агаризованной среде Мурасиге и Скуга (МС), содержащей СК, ЖК или ХОС в конечных концентрациях 10^{-6} М, 10^{-7} М, 10^{-6} М соответственно. Часть растений через 20 сут после посадки инокулировали суспензией бактерий штаммов *Bacillus subtilis* 26Д и 11ВД путём нанесения клеток микробиологической петлёй на основание стебля (конечный титр 10^8 кл./мл). Растения инфицировали нанесением 5 мкл суспензии 10^5 зооспор/мл оомицета *Phytophthora infestans* Mont. de Bary (штамм Башкирский) на лист. Контролем служили неинфицированные и инфицированные растения, растущие на среде МС.

Развитие болезни наблюдали в течение 5 сут и оценивали по четырёхбалльной шкале, где листья без симптомов фитофтороза оценивали как 0 баллов, наличие симптомов болезни и поражение листа от 1 до 25% как 1, от 26 до 50% как 2; от 51 до 75% как 3 и более 75% – 4.

Определение содержания H_2O_2 . Растительный материал гомогенизировали в 0,025 М фосфатном буфере, pH 6,2 (ФБ), в соотношении 1:3, центрифугировали 20 мин при 10000 g. В супернатанте определяли содержание H_2O_2 спектрофотометрически при 560 нм с использованием ксиленолового оранжевого [9].

Оценка транскрипционной активности генов патоген-индуцируемых белков. РНК из растений выделяли с помощью тризола (Molecular Research Center, Inc., США). Для получения кДНК на основе мРНК изучаемых образцов проводили реакцию обратной транскрипции с использованием M-MuLV обратной транскриптазы согласно протоколу фирмы-поставщика. Анализ накопления транскриптов генов ингибитора амилазы (номер в GenBank XM006351484), хитиназы (номер в GenBank U49969.1), ингибитора протеиназы (номер в GenBank JX683427) и пероксидазы (номер в GenBank M21334) проводили методом количественной ПЦР в режиме реального времени на приборе «iCycler iQ5 Real-Time PCR Detection System» («Bio-Rad», США) с использованием интеркалирующего красителя SYBR Green I («Синтол», Россия). Изменения в транскрипционной активности

генов (оценка числа копий мРНК) определяли относительного референсного гена *St_act* («ген домашнего хозяйства», актин, номер из GenBank X55749) с помощью программного обеспечения «iCycler iQ5 Real-Time Detection System software» («Bio-Rad», США). Анализ аминокислотных и нуклеотидных последовательностей проводили с помощью пакета программ Lasergene фирмы «DNASTAR» (США).

Статистическая обработка проводилась в программе Statistica 6.0. Эксперименты включали не менее трёх биологических повторов. На рисунках и в таблицах приведены средние результаты повторов и их стандартные ошибки.

Результаты и обсуждение

Влияние сигнальных молекул на развитие симптомов фитофтороза и содержание пероксида водорода в листьях картофеля при инфицировании *P. infestans*. Исследования показали, что степень поражённости листьев картофеля через 5 сут после инокуляции *P. infestans* в контроле составляла 84,1±7,0% (рис. 1). На растениях, культивируемых на среде с добавлением исследуемых соединений, наблюдалось снижение степени развития симптомов заболевания фитофторозом: в вариантах опыта с СК и ХОС до 68,0±6,7 и 60,3±5,4%, с ЖК – до 40,5±3,5%, а с обработкой штаммами *B. subtilis*

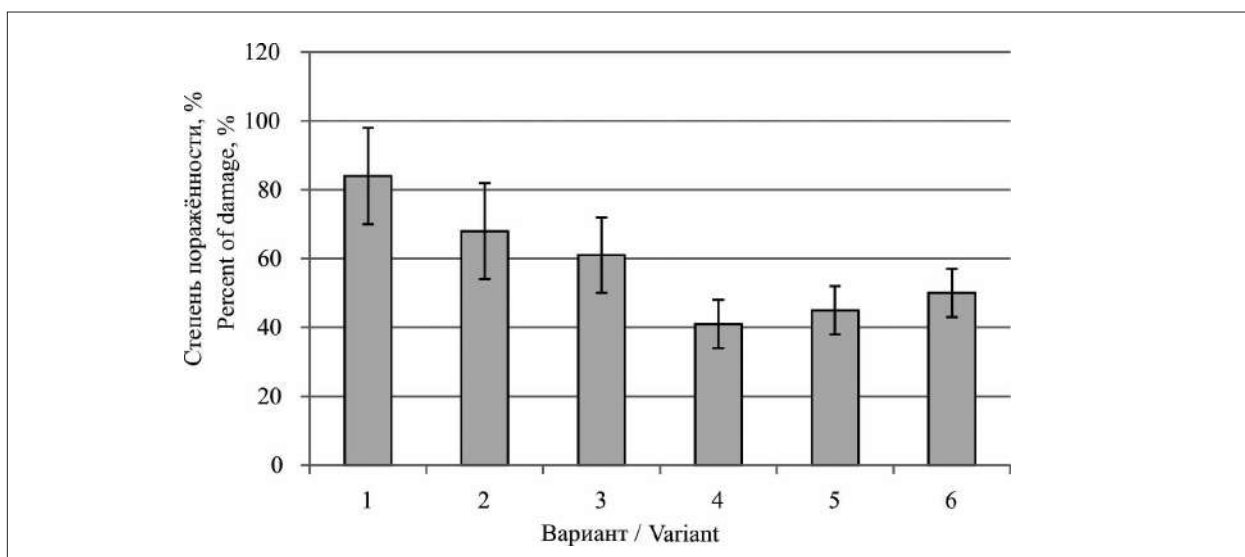


Рис. 1. Степень поражённости листьев картофеля через 5 сут после инокуляции *P. infestans*: 1 – контроль; 2 – СК; 3 – ХОС; 4 – ЖК; 5 – *B. subtilis* 26Д; 6 – *B. subtilis* 11ВД
Fig. 1. The degree of damage of potato leaves at 5 days after inoculation: 1 – control; 2 – SA; 3 – COS; 4 – JA; 5 – *B. subtilis* 26D; 6 – *B. subtilis* 11VD

Таблица 1 / Table 1

Изменение содержания H₂O₂ (мкмоль/г сырого веса) в картофеле при обработке сигнальными молекулами и инфицировании *P. infestans* / Changes in H₂O₂ (μmol/g raw weight) content in potato during treatment with signal molecules and infection of *P. infestans*

| Варианты / Variants | Время после инокуляции, ч / Time after inoculation, h | | |
|---|---|---------|---------|
| | 24 | 48 | 72 |
| Контроль / Control | 2,3±0,1 | 3,3±0,2 | 2,6±0,1 |
| Инфицирование / Infection | 2,8±0,2 | 3,9±0,3 | 2,1±0,2 |
| СК / SA | 3,1±0,1 | 4,2±0,3 | 2,6±0,2 |
| СК + <i>P. infestans</i> / SA + <i>P. infestans</i> | 3,9±0,2 | 6,4±0,5 | 2,8±0,1 |
| ЖК / JA | 3,5±0,2 | 5,7±0,4 | 3,9±0,2 |
| ЖК + <i>P. infestans</i> / JA + <i>P. infestans</i> | 4,3±0,4 | 7,8±0,6 | 6,7±0,5 |
| ХОС / COS | 3,4±0,3 | 5,2±0,5 | 2,7±0,2 |
| ХОС + <i>P. infestans</i> / COS + <i>P. infestans</i> | 6,9±0,5 | 5,9±0,4 | 3,3±0,3 |
| <i>B. subtilis</i> 26Д / <i>B. subtilis</i> 26D | 4,1±0,2 | 5,4±0,4 | 4,9±0,3 |
| <i>B. subtilis</i> 26Д + <i>P. infestans</i> / <i>B. subtilis</i> 26D + <i>P. infestans</i> | 5,2±0,3 | 7,2±0,6 | 5,1±0,4 |
| <i>B. subtilis</i> 11ВД / <i>B. subtilis</i> 11VD | 3,8±0,2 | 4,9±0,3 | 4,2±0,2 |
| <i>B. subtilis</i> 11ВД + <i>P. infestans</i> / <i>B. subtilis</i> 11VD + <i>P. infestans</i> | 5,9±0,5 | 6,1±0,6 | 4,8±0,3 |

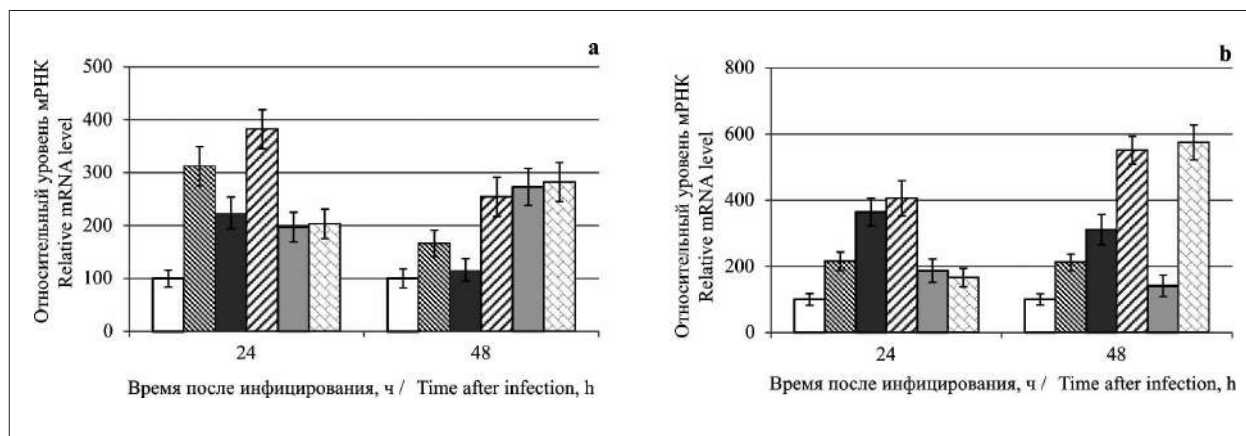


Рис. 2. Транскрипционная активность гена ингибитора амилазы (а) и ингибитора протеиназы (б) в листьях картофеля при обработке СК, ЖК и заражении *P. infestans*, в % к контролю (100%): 1 – контроль; 2 – *P. infestans*; 3 – обработка СК; 4 – СК+ *P. infestans*; 5 – обработка ЖК; 6 – ЖК + *P. infestans*. За единицу экспрессии принимали уровень транскрипционной активности целевых генов в контрольных неинфицированных растениях без обработки

Fig. 2. Changes in the transcriptional activity of the amylase inhibitor (a) and proteinase inhibitor (b) gene in potato leaves under the influence of treatment with SA, JA, and *P. infestans* infection, percent of control (100%): 1 – control; 2 – *P. infestans*; 3 – SA; 4 – SA + *P. infestans*; 5 – JA; 6 – JA + *P. infestans*. The level of transcriptional activity of target genes in control uninfected plants without treatment was taken as a unit of expression

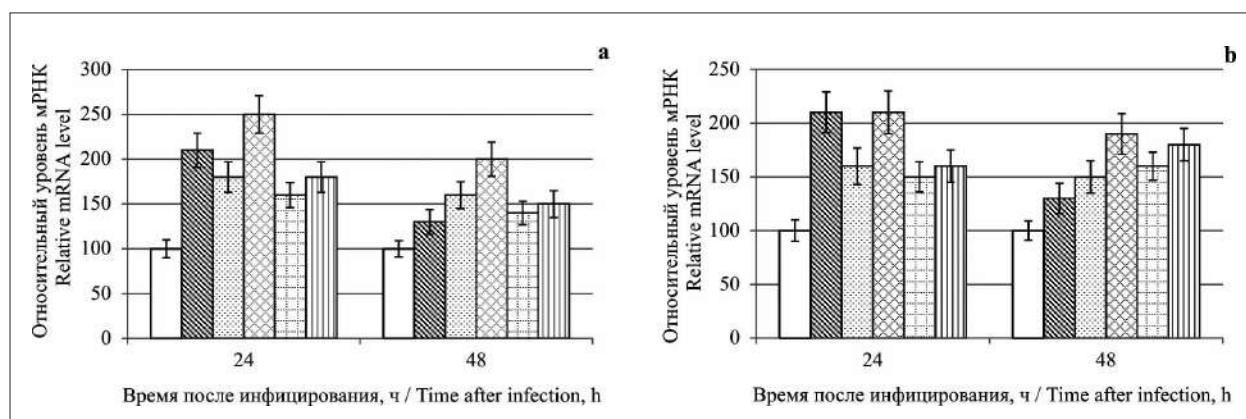


Рис. 3. Изменение транскрипционной активности генов ингибитора амилазы (а) и ингибитора протеиназы (б) в растениях картофеля сорта Ранняя Роза под влиянием обработки *B. subtilis* и инфицирования *Ph. infestans*, % к контролю (100%): 1 – контроль; 2 – *P. infestans*; 3 – обработка *B. subtilis* 26Д; 4 – *B. subtilis* 26Д + *P. infestans*; 5 – обработка *B. subtilis* 11ВД; 6 – *B. subtilis* 11ВД + *P. infestans*. За единицу экспрессии принимали уровень транскрипционной активности генов в контрольных неинфицированных растениях без обработки

Fig. 3. Changes in transcriptional activity of genes of amylase inhibitor (a) and proteinase inhibitor (b) in potato plants of Early Rose variety under the influence of treatment with *B. subtilis* and *P. infestans* infection, % of control (100%). 1 – control; 2 – *P. infestans*; 3 – *B. subtilis* 26D; 4 – *B. subtilis* 26D + *Ph. infestans*; 5 – *B. subtilis* 11VD; 6 – *B. subtilis* 11VD + *P. infestans*. The transcriptional activity level of genes in control uninfected plants without treatment taken as a unit of expression

26Д и 11ВД – до $45,1 \pm 2,8$ и $49,8 \pm 2,8$ % соответственно. Все исследуемые соединения повышали устойчивость к инфицированию, но в различной степени. Наилучший стимулирующий эффект оказывали ЖК и штамм бактерий *B. subtilis* 26Д (рис. 1).

Как показали эксперименты, инфицирование *P. infestans*, обработка СК, ЖК, ХОС и *B. subtilis* повышали уровень H_2O_2 в растениях картофеля (табл. 1). ХОС и *B. subtilis* 11ВД оказывали более раннее стимулирующее дей-

ствие на продукцию пероксида водорода (через 24 ч после инфицирования). Выявлен максимальный стимулирующий эффект на продукцию H_2O_2 в варианте с обработкой ЖК и *B. subtilis* 26Д через 48 ч после инокуляции.

Образование АФК является одним из наиболее ранних ответов на контакт с патогеном, в результате чего индуцируется, в частности, синтез PR-белков [10]. H_2O_2 можно рассматривать как важнейшую молекулу, вовлечённую в передачу внутриклеточных сигналов,

регулирующих экспрессию генов и активность защитных систем.

Изменение транскрипционной активности генов PR-белков в растениях картофеля под воздействием сигнальных молекул и *P. infestans*.

Основным орудием нападения патогенов являются гидролитические ферменты, разрушающие клеточные стенки и обеспечивающие внедрение гриба в ткани [11]. Защитная реакция растений сопровождается синтезом ингибиторов этих ферментов [12]. В наших исследованиях СК и ЖК оказывали стимулирующее действие на транскрипционную активность генов ингибитора амилазы (рис. 2а) и ингибитора протеиназы (рис. 2б) в незараженных растениях картофеля, но особенно – при заражении.

Схожие результаты получены при исследовании генов PR-белков под воздействием *B. subtilis* (рис. 3) и ХОС (рис. 4). Так, обработка *B. subtilis* повышала транскрипционную активность генов ингибиторов амилазы и

протеиназы (рис. 3). Причём под воздействием *B. subtilis* 26Д высокая транскрипционная активность генов ингибиторов сохранялась в течение 48 ч.

В индукцию защитного ответа растений картофеля к *P. infestans* под воздействием ХОС вовлекаются различные PR-белки. Так, при обработке ХОС усиливается транскрипционная активность генов ингибитора амилазы, ингибитора протеиназы, хитиназы и пероксидазы (рис. 4).

Представители рода *Phytophthora* используют для расщепления крахмала ферменты картофеля, активируя их биосинтез в поражённых клубнях [13]. Можно предположить, что усиление транскрипции ингибиторов амилазы препятствует росту *P. infestans*.

Усиление транскрипции гена ингибитора протеиназы повышает устойчивость картофеля (рис. 2). Ключевую роль в инициации образования ингибиторов протеаз играет мембранный рецептор системин. Он вызывает деполя-

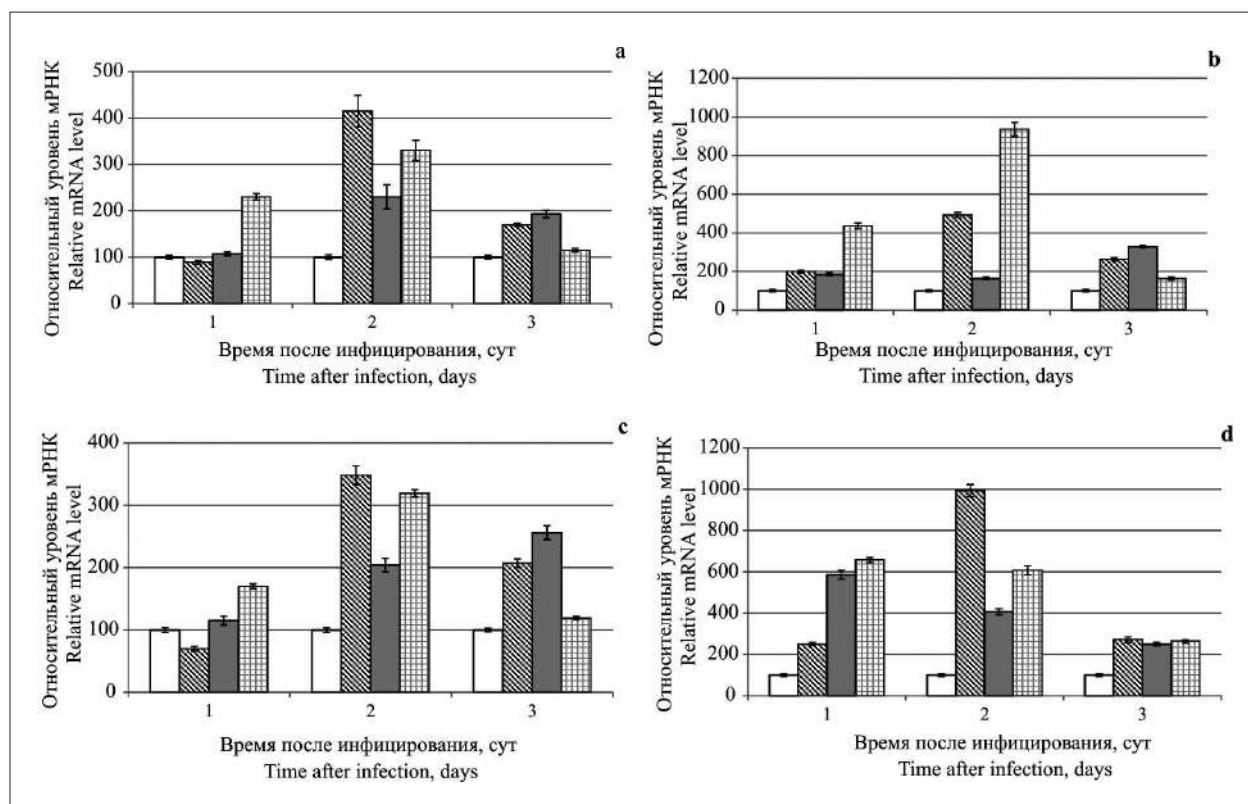


Рис. 4. Изменение транскрипционной активности генов ингибитора амилазы (а), хитиназы (б), протеиназы (с) и пероксидазы (д) в растениях картофеля сорта Ранняя Роза под влиянием обработки ХОС и инфицирования *P. infestans*, % к контролю (100%): 1 – контроль; 2 – *P. infestans*; 3 – обработка ХОС; 4 – ХОС + *P. infestans*. За единицу экспрессии принимали уровень транскрипционной активности генов в контрольных неинфицированных растениях без обработки
Fig. 4. The change in transcriptional activity of inhibitor of amylase (a), chitinase (b), inhibitor of proteases (c), and peroxidase (d) genes in plants of the potato Early Rose variety under the effect of the treatment with COS and *P. infestans* infection, % of control (100%): 1 – control; 2 – *P. infestans*; 3 – COS; 4 – COS + *P. infestans*. The transcriptional activity level of genes in control uninfected plants without treatment taken as a unit of expression

ризации мембраны, что приводит к открытию ионных каналов и резкому повышению уровня ионов кальция в клетке. В результате активируются МАР-киназы и фосфолипазы и образуется жасмоновая кислота, которая, вероятно, и служит активатором транскрипции генов защитных белков [14, 15].

Хитиназы, обладающие антифунгальным действием, относятся к PR-белкам. Хитиназы опосредованно индуцируют синтез фитоалексинов и экспрессию генов других PR-белков [5]. Функции пероксидазы тесно связаны с катализом полимеризации фенольных мономеров в лигнин [7].

Полученные данные указывают, что активация синтеза защитных белков в растениях картофеля под действием исследуемых соединений может способствовать формированию их устойчивости к *P. infestans*. Дальнейшие исследования в этом направлении открывают перспективы повышения устойчивости растений экологически безопасными веществами.

Работа выполнялась частично по теме госзадания, № гос. регистрации АААА-А16-116020350027-7, и при частичной финансовой поддержке Гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук, № 075-15-2019-293.

References

1. Vasyukova N.I., Chalenko G.I., Gerasimova N.G., Valueva T.A., Ozeretskovskaya O.L. Activation of protective properties of elicitors with the help of signal molecules in the interaction of potatoes and the pathogen of late blight // *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2008. V. 44. No. 2. P. 236–240 (in Russian).
2. Tarchevskiy I.A. Plant metabolism under stress. Kazan: Fen, 2001. 448 p. (in Russian).
3. Tyuterev S.L. Scientific basis for the induction of baleneological plants. Sankt-Peterburg: Innovatsionnyy tsentr zashchity rasteniy VIZR, 2002. 328 p. (in Russian).
4. Tarchevskiy I.A. Signaling system of plants. Moskva: Nauka, 2002. 294 p. (in Russian).
5. Van Loon L.C., Bacter P.A.H.M., Pieterse C.M.J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria // *Annu. Rev. Phytopathol.* 1998. V. 36. P. 453–483. doi: 10.1146/annurev.phyto.36.1.453
6. Fira D., Dimkić I., Berić T., Lozo J., Stanković S. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species // *J. of Biotechnology*. 2018. V. 285. No. 1. P. 44–55. doi: 10.1016/j.jbiotec.2018.07.044
7. de Vleeschauwer D., Djavaheri M., Bakker P. A.H.M., Höfte M. *Pseudomonas fluorescens* WCS374r-induced systemic resistance in rice against *Magnaporthe oryzae* is based on pseudobactin-mediated priming for a salicylic acid-repressible multifaceted defense response // *Plant. physiol.* 2008. V. 148. No. 4. P. 1996–2012. doi: 10.1104/pp.108.127878
8. Cawoy H., Mariutto M., Henry G., Fisher C., Vasilyeva N., Thonart P., Dommes J., Ongena M. Plant defense stimulation by natural isolates of bacillus depends on efficient surfactin production // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2014. V. 27. No. 2. P. 87–100. doi: 10.1094/mpmi-09-13-0262-r
9. Bindschedler L.V., Minibayeva F., Gardner S.L., Gerrish G., Davies D.R., Bolwell G.P. Early signaling events in the apoplastic oxidative burst in suspension cultured french bean cells involve cAMP and Ca²⁺ // *New Phytologist*. 2001. V. 151. P. 185–194. doi: 10.1046/j.1469-8137.2001.00170.x
10. Shetty N.P., Jorgensen H.J.L., Jensen J.D., Collinge D.B., Shetty H.S. Roles of reactive oxygen species in interaction between plants and pathogen // *Eur. J. Plant Pathol.* 2008. V. 121. P. 267–280. doi: 10.1007/s10658-008-9302-5
11. Yarullina L.G., Akhatova A.R., Kasimova R.I. Hydrolytic enzymes and their protein inhibitors in the regulation of plant-pathogen relationships // *Fiziologiya rasteniy*. 2016. V. 63. No. 2. P. 205–217 (in Russian). doi: 10.7868/S0015330316020159
12. Kudryavtseva N.N., Sofin A.V., Revina T.A., Gvozdeva E.L., Ievleva E.V., Valueva T.A. Secretion of proteolytic enzymes by three phytopathogenic microorganisms // *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2013. V. 49. P. 513–521 (in Russian). doi: 10.7868/S0555109913050073
13. Gappa-Adachi R., Yano K., Takeuchi S., Morita Y., Uematsu S. Phytophthora blight of southern star (*Oxyptalum caeruleum*) caused by *Phytophthora palmivora* in Japan // *J. Gen Plant Pathol.* 2012. V. 78. No. 1 P. 39–42. doi: 10.1007/s10327-011-0351-9
14. Ryan C.A. The systemin signaling pathway: Differential activation of plant defensive genes // *Biochim. Biophys. Acta*. 2000. V. 1477. P. 112–121. doi: 10.1016/S0167-4838(99)00269-1
15. Vasyukova N.I., Ozeretskovskaya O.L. Jasmine-dependent protective alarm in plant tissues // *Fiziologiya rasteniy*. 2009. V. 56. No. 5. P. 643–653 (in Russian).

**Сравнение токсичности противоопухолевых веществ:
полисахаридов гриба *Hericium erinaceus* ВР 16,
диальдерона и метотрексата**

© 2019. М. А. Азямов¹, к. в. н., в. н. с., А. А. Широких^{1,2}, д. б. н., в. н. с.,
Т. Я. Ашихмина^{2,3}, д. т. н., профессор, г. н. с., зав. лабораторией,

¹Федеральный аграрный научный центр
Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого,
610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, д. 166а,

²Вятский государственный университет,
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,

³Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,
e-mail: lazermikl@yandex.ru

Поиск безвредных и эффективных биологических субстанций, обладающих противоопухолевым действием, актуален в связи с тем, что все синтетические противораковые препараты, наряду с лечебным эффектом, вызывают системные осложнения, ограничивающие их использование. Среди противоопухолевых средств особое внимание привлекают вещества природного происхождения, в частности полисахариды высших базидиальных грибов и композитные препараты из животного и растительного сырья. Проводили сравнение безвредности и противоопухолевого действия диальдерона (декагидроксипролина-2-деценогидроизохинолина диметиламиноэтанола альбуминат) – композитного препарата, синтезированного из природных соединений на альбуминовом носителе в лаборатории иммунологии ФАНЦ Северо-Востока, и полисахаридной фракции *Hericium erinaceus* ВР 16 (ПФНЕ), полученной экстракцией горячей водой из плодовых тел культивированного гриба и содержащей в моносахаридном составе галактозу, глюкозу, арабинозу, маннозу, фукозу, рамнозу, ксилозу в соотношении 27 : 26 : 19 : 14 : 8 : 7 : 1 соответственно. В качестве препарата сравнения использовали инъекционный раствор метотрексата (синтетический противоопухолевый препарат).

Исследование противоопухолевой активности препаратов проводили на белых мышах –опухоленосителях саркомы S-180, определение острой и хронической токсичности – на здоровых белых мышах и крысах. ПФНЕ и диальдерон активировали у мышей выработку альфа-фактора некроза опухолей (α -ФНО) и гамма-интерферона (γ -ИФН), тогда как метотрексат, напротив, снижал уровень этих цитокинов. По сравнению с метотрексатом, диальдерон увеличивал среднюю продолжительность жизни мышей-опухоленосителей на 31,40%, ПФНЕ – на 23,40%. Наибольшее торможение роста опухоли показал ПФНЕ (82,00±0,08%), а диальдерон и метотрексат – 78,50±0,06% и 75,20±0,04% соответственно. Диальдерон и ПФНЕ не оказывали побочного действия на организм животных, а именно: не обладали острой токсичностью в тесте на белых мышах, не вызывали изменений их физиологического состояния и не влияли на гематологические и биохимические показатели крови животных. Тест на хроническую токсичность на крысах показал безвредность ПФНЕ и диальдерона, в то время как метотрексат повышал уровень аминотрансфераз, снижал количество лимфоцитов, моноцитов, тромбоцитов в крови, что проявилось в виде аллергических и токсических симптомов у животных.

Ключевые слова: продолжительность жизни, саркома S-180, торможение роста опухоли, биохимические и гематологические показатели, острая и хроническая токсичность.

**The toxicity comparison of antitumor substances:
the mushroom *Hericium erinaceus* ВР 16 polysaccharides,
dialderon and methotrexate**

© 2019. М. А. Азямов¹ ORCID: 0000-0001-5718-9463^{*}

А. А. Широких^{1,2} ORCID: 0000-0002-7808-0376^{*}

Т. Я. Ашихмина^{2,3} ORCID: 0000-0003-4919-0047^{*}

¹Federal Agricultural Research Center of North-East named N. V. Rudnitskiy,
166a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,

²Vyatka State University,
36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,

³Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch
of the Russian Academy of Sciences,
28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Komi Republic, Russia, 167982,
e-mail: lazermikl@yandex.ru

The harmless and effective antitumor biological substances search is relevant because all synthetic anticancer drugs, as well as the therapeutic effect, are causing systemic complications that limit their use. The polysaccharides of higher basidiomycetes and animal and plant raw materials composite preparations are attracted attention among antitumor natural substances. We are conducted harmless and antitumor action comparison of dialderon (decahydroxyproline-2-decenohydroisoquinoline dimethylaminoethanol albuminate) as a composite from natural compounds on albumin carrier synthesized in the Immunology laboratory of Federal Agricultural Research Center of North-East and the polysaccharide fraction (PFNE) in the monosaccharide composition of which galactose, glucose, arabinose, mannose, fucose, rhamnose, xylose were detected in a ration of 27 : 26 : 19 : 14 : 8 : 7 : 1 respectively from the fruit bodies of the comb grasshopper *Hericium erinaceus* BP 16 was obtained by extraction with hot water. The methotrexate solution (a synthetic anticancer drug) was used as a reference drug.

The study of the antitumor activity of the preparations was carried in white mice – tumor carriers of S-180 sarcoma, the definition of acute and chronic toxicity was measured in healthy white mice and rats. PFNE and dialderon activated the production of alpha tumor necrosis factor (α -TNF) and gamma-interferon (γ -IFN) in mice, while methotrexate, reduced the level of these cytokines, in contrast. Dialderon increased the average lifespan of tumor-bearing mice by 31.40%, PFNE – by 23.40% in comparison with methotrexate. PFNE showed the greatest inhibition of tumor growth ($82.00 \pm 0.08\%$), and dialderon and methotrexate showed $78.50 \pm 0.06\%$ and $75.20 \pm 0.04\%$, respectively. Dialderon and PFNE did not have side effects on the animals, namely: did not have acute toxicity on white mice in the test, did not cause changes in their physiological state and did not affect the hematological and biochemical blood parameters of animals. The test for chronic toxicity in rats showed the safety of PFNE and dialderon, while methotrexate increased the level of aminotransferases, reduced the number of lymphocytes, monocytes, and platelets in the blood, which manifested in the form of allergic and toxic symptoms in animals.

Keywords: life expectancy, sarcoma S-180, tumor growth inhibition, biochemical and hematological indicators, acute and chronic toxicity.

Практически все синтетические противоопухолевые препараты вызывают серьёзные системные осложнения с проявлением острой и кумулятивной токсичности, что значительно ограничивает их использование для химиотерапии [1, 2]. Поэтому актуальной задачей является поиск эффективных, нетоксичных биологически активных субстанций, изучение их безопасности и эффективности на биологических моделях и при клинических исследованиях.

Значительную группу современных противоопухолевых препаратов – полисахаридных иммуномодуляторов – производят на основе полисахаридов (ПС) высших базидиальных грибов и используют как вспомогательные средства в терапии рака в странах Юго-Восточной Азии [3–5]. Механизм противоопухолевого действия грибов до сих пор полностью не изучен [5, 6]. Большинство исследователей рассматривают ПС грибов как мультицитокиновые индукторы, способные влиять на экспрессию генов и ряд цитокиновых рецепторов [7, 8]. Особое внимание в этом контексте привлекает ксилотрофный базидиальный гриб – ежевик гребенчатый (*Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers.) [9]. В результате ряда экспериментальных и клинических исследований выявлено противоопухолевое и иммуномодулирующее действие веществ и препаратов, выделенных из плодовых тел и

культивируемого мицелия этого гриба. Так, сообщалось о способности ПС *H. erinaceus* связывать ядерный фактор каппа В (NF- κ B) с ДНК раковых клеток, увеличивать экспрессию каспазы 3 и каспазы 9, активируя апоптомы и вызывая, тем самым, гибель раковых клеток [10]. В другой работе ПС *H. erinaceus* подавляли рост клеток злокачественной опухоли молочной железы, снижая секрецию урокиназы плазминогена, вызывая апоптоз эндотелиальных клеток рака *in vitro*. При введении водного экстракта полисахаридов *H. erinaceus* белым мышам после перевивки злокачественной Т-лимфомы EL-4 и Т-клеточного лимфолейкоза P388 выживаемость животных, по сравнению с контрольной группой, повышалась на 40%. Водно-спиртовой экстракт ПС *H. erinaceus* может ингибировать рост клеток рака желудка, вызывая экспрессию белков 1433S и MTUS2 и активируя перитонеальные макрофаги [11]. Установлено повышение резистентности белых мышей к перевивке асцитной карциномы Эрлиха в результате применения водных экстрактов ежевика гребенчатого. Показано положительное влияние профилактического приёма водного экстракта гриба в экспериментальных моделях спонтанных и индуцированных аденом лёгких у мышей [12]. Авторы приведённых работ связывают противоопухолевое и иммуномодулиру-

ющее действие с различными по структуре ПС гриба. Всего из плодовых тел, мицелия и культуральной жидкости *H. erinaceus* к настоящему времени выделено 35 различных ПС [9].

Известно, что разные штаммы одного вида могут сильно различаться по своему полисахаридному составу. Кроме того, на этот состав может оказывать влияние характер субстрата, на котором растёт гриб в природе или при искусственном культивировании.

Целью нашей работы являлось изучение на лабораторных животных противоопухолевой активности и определение острой и хронической токсичности ПС из плодовых тел *H. erinaceus* (ПФНЕ) в сравнении с композитным препаратом из природных компонентов – диальдероном и метотрексатом.

Материалы и методы

Для выделения полисахаридов использовали плодовые тела гриба *H. erinaceus* ВР 16, выращенные в описанных ранее условиях [13]. Таксономическое положение штамма ВР 16 установлено на основе секвенирования последовательностей ITS1-5S-ITS2 участка nrDNA. Полученный сиквенс депонирован в международной информационной базе NCBI GenBank ((<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>), учётный номер – MK809367). Плодовые тела измельчали, заливали горячей (70 °С) дистиллированной водой и оставляли на 8 ч для экстракции, после чего полисахариды осаждали добавлением 96% этанола (1:4, V/V). Полученный осадок отделяли центрифугированием, растворяли в дистиллированной воде, раствор лиофилизировали, получали суммарную фракцию растворимых в воде полисахаридов – ПФНЕ. В составе ПФНЕ, после гидролиза полисахаридов, в виде ацетатов полиолов, методом ГЖХ выявлены галактоза, глюкоза, арабиноза, манноза, фукоза, рамноза, ксилоза в соотношении 27 : 26 : 19 : 14 : 8 : 7 : 1 соответственно [14].

Биологическую активность ПФНЕ изучали в сравнении с ранее описанным [15] композитным препаратом природного происхождения – диальдероном и синтетическим противоопухолевым препаратом метотрексатом («Эбеве», Австрия). Эксперименты выполняли на беспородных белых мышах и крысах в соответствии с международными рекомендациями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях от 18 марта 1986 г.

Исследование противоопухолевой активности исследуемых веществ и препаратов проводили на модели перевиваемой саркомы S-180 в соответствии с методикой [16]. Было сформировано 4 группы животных, в каждой группе – 20 мышей-самцов с массой тела $22,0 \pm 1,0$ г. Животных содержали при естественном режиме освещения и свободном доступе к воде и пище. Мышей-опухоленосителей контрольной группы лечению не подвергали. Животным первой подопытной группы вводили цитостатик метотрексат внутривентриально в дозе 20 мкг один раз в сутки с интервалом в 48 ч, т. е. делали 5 инъекций в течение 10 сут. Животным второй и третьей подопытных групп вводили соответственно диальдерон и ПФНЕ внутривентриально по 20 мг (0,2 мл раствора) по аналогичной схеме, начиная инъекции через двое суток после перевивки опухоли. За экспериментальными животными вели наблюдения до естественной смерти в течение 100 сут. У всех мышей, в том числе контрольной группы, определяли концентрацию альфа-фактора некроза опухолей (α -ФНО) и гамма-интерферона (γ -ИФН) в культуре спленоцитов селезёнки методом иммуноферментного анализа (ИФА) диагностикумами «Cusabio Biotech Co» (Китай) на иммуноферментном анализаторе Zenyth 340 (Anthos).

Терапевтический эффект противоопухолевого действия препаратов оценивали по торможению роста опухоли (Т) и увеличению продолжительности жизни (УПЖ) в процентах, которые вычисляли по формулам 1 и 2 соответственно:

$$T = \frac{M_{\text{опыт}} - M_{\text{контроль}}}{M_{\text{опыт}}} \cdot 100\% , \quad (1)$$

где М – масса опухолевой ткани;

$$\text{УПЖ} = \frac{\text{СПЖ}_{\text{опыт}} - \text{СПЖ}_{\text{контроль}}}{\text{СПЖ}_{\text{опыт}}} \cdot 100\% , \quad (2)$$

где СПЖ – средняя продолжительность жизни мышей (в сут) в группе.

Острую токсичность препаратов определяли на здоровых беспородных белых мышах-самцах массой 20–21 г. Из животных были сформированы четыре группы по 20 особей в каждой. В контрольной группе мышей не подвергали манипуляциям (интактные животные). В первой подопытной группе мышам производили внутривентриальные инъекции метотрексата в дозе 20 мкг один раз в сутки в течение семи дней. Животным второй и третьей подопытных групп соответственно

вводили диальдерон и ПФНЕ внутривенно в дозах 20 мг по аналогичной схеме.

В ходе экспериментов оценивали общее состояние и поведение животных, внешний вид кожного покрова, потребление корма и воды. Через день после завершения курса инъекций определяли гематологические и биохимические показатели крови испытуемых животных, согласно методикам [17] с использованием анализатора Hitachi 912 (Германия, Япония).

Хроническую токсичность препаратов изучали на белых крысах-самцах с массой тела 200–250 г, в сформированных по методу аналогов четырёх группах – контрольной и трёх подопытных, по 10 животных в каждой. Животным контрольной группы вводили физиологический раствор в дозе 0,2 мл один раз в сутки подкожно. Животным первой подопытной группы вводили метотрексат внутримышечно в дозе 2 мг/кг массы тела один раз в сутки. Поскольку данный препарат угнетает метаболизм фолиевой кислоты, всем животным этой группы ежедневно давали фолиевую кислоту орально по 0,2 мг. Крысам второй и третьей подопытных групп соответственно вводили диальдерон и ПФНЕ в дозах 20 мг на животное подкожно по аналогичной схеме. В период введения препаратов (60 сут) за животными вели наблюдение, оценивали их физиологическое состояние, активность, потребление корма и воды. По окончании опыта определяли биохимические и гематологические показатели крови исследуемых животных.

Статистическая обработка данных вы-

полнена стандартными методами в программе «Statistica 5,0».

Результаты и обсуждение

Изучение противоопухолевой активности препаратов выявило значительное удлинение средней продолжительности жизни (СПЖ) мышей-опухоленосителей саркомы S-180 во всех подопытных группах по сравнению с контролем, в котором нелеченные мыши выжили не более 14,80±0,08 сут, и масса опухоли за это время уже достигала 2,10±0,03 г (табл. 1).

Наиболее высокий показатель СПЖ (90,20±0,02 дней) наблюдали после курса инъекций диальдерона, существенно более низкий (58,80±0,74 дня) – после терапии метотрексатом. Увеличение продолжительности жизни (УПЖ) мышей после десятидневного применения диальдерона и ПФНЕ было практически идентичным, составив 83,60±0,06% и 82,00±0,04% соответственно. Курс терапии ПФНЕ в третьей подопытной группе наиболее эффективно (82,00±0,08%) вызывал торможение роста опухоли (Т), что согласуется с данными о повышении экспрессии генов каспаз, металлопротеиназ и высоком апоптотическом эффекте полисахаридных фракций ежевика гребенчатого [10].

Десятидневное введение диальдерона тормозило рост опухоли на 78,50±0,06% по сравнению с контролем. Диальдерон активировал ТН-1 клеточный иммунитет, на что указывало значительное повышение уровня α-ФНО и γ-ИФН. Причём, максимально вы-

Таблица 1 / Table 1

Изучение противоопухолевой активности препаратов
The study of the antitumor activity of drugs

| Показатели Markers | Контрольная группа ¹ Control group ¹ | Подопытные группы Experimental groups | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1-я группа ² 1st group ² | 2-я группа ³ 2nd group ³ | 3-я группа ⁴ 3rd group ⁴ |
| Масса опухоли, г / Tumor mass, g | 2,10±0,03 | 0,520±0,020 | 0,45±0,01 | 0,38±0,04 |
| Средняя продолжительность жизни в группе, дни Average life expectancy in the group, days | 14,80±0,08 | 58,80±0,74 | 90,20±0,02 | 82,20±0,03 |
| Увеличение продолжительности жизни, % Increase in life expectancy, % | – | 74,80±0,02 | 83,60±0,06 | 82,00±0,04 |
| Торможение роста опухоли, % Tumor growth inhibition, % | – | 75,20±0,04 | 78,50±0,06 | 82,00±0,07 |
| Уровень α-ФНО, пг/мл The level of α-TNF, pg/mL | 180,40±1,17 | 167,50±0,85 | 840,50±0,76 | 510,40±0,81 |
| Уровень γ-ИФН, пг/мл The level of γ-IFN, pg/mL | 210,20±1,15 | 192,50±0,24 | 1245,70±0,89 | 670,20±0,45 |

Примечание: 1 – нелеченные мыши, 2 – метотрексат, 3 – диальдерон, 4 – ПФНЕ.

Note: 1 – intact mice, 2 – methotrexate, 3 – dialderon, 4 – PSHE.

сокий уровень этих цитокинов сохранялся у животных второй подопытной группы в течение всего срока наблюдения. Аналогичные, но количественно менее выраженные изменения показателей α -ФНО и γ -ИФН наблюдали в культуре спленоцитов мышей после терапии ПФНЕ. По сравнению с контрольной группой, уровень α -ФНО после лечения диальдероном во второй подопытной группе повышался в 4,7 раза, в третьей (ПФНЕ) – в 2,8 раза, что свидетельствует об усилении активации перитонеальных макрофагов и спленоцитов грибным ПС.

Лечение метотрексатом приводило к обратному результату. Уровень α -ФНО и γ -ИФН у животных первой подопытной группы был ниже, чем в контроле. Цитотоксический эффект метотрексата обусловлен угнетением фермента дигидрофолатредуктазы, что приводит к уменьшению внутриклеточного содержания тетрагидрофолата – переносчика атомов углерода при синтезе ДНК и торможению митоза раковых клеток в S-фазе [18]. Но при этом также снижается выработка «противовоспалительных» цитокинов, в том числе α -ФНО и γ -ИФН, в связи со стимуляцией дифференцировки моноцитов и их апоптозом в опухолевом очаге [19].

При тестировании препаратов на острую токсичность гибели животных не отмечено ни в одной из подопытных групп. Мыши второй и третьей подопытных групп вели себя спокойно, оставались активными, охотно поедали

корм, нормально реагировали на внешние раздражители. После инъекций диальдерона и ПФНЕ у животных не отмечали нарушения координации движений, тонуса мышц, изменения реакции зрачка, частоты и глубины дыхания. Мыши первой подопытной группы, после инъекций метотрексата, напротив, проявляли беспокойство, переходящее в угнетение, координация животных изменялась, животные тяжело дышали, иногда сидели неподвижно, пили много воды. Такое состояние продолжалось 45–120 мин, затем организм животных возвращался к физиологической норме. После введения метотрексата у мышей наблюдались также аллергические явления в виде зуда, расчёсов, слезотечения и кашля.

При сравнительном исследовании препаратов на острую токсичность отклонений гематологических и биохимических показателей крови от физиологической нормы у мышей второй и третьей групп не отмечали, что подтверждает безвредность инъекционных форм диальдерона и ПФНЕ. В отличие от препаратов природного происхождения, цитостатик метотрексат, по сравнению с контролем, вызывал снижение лейкоцитов и эозинофилов в крови в пределах физиологической нормы, а также повышение аланинаминотрансферазы (АлАт), что указывает на его побочные аллергические и гепатотоксические свойства (табл. 2).

При тестировании препаратов на хроническую токсичность у крыс второй и третьей подопытных групп не отмечено отклонений от

Таблица 2 / Table 2

Показатели крови мышей при исследовании препаратов на острую токсичность
Blood counts of mice in the study of drugs for acute toxicity

| Показатели Markers | Контрольная группа ¹ Control group ¹ | Подопытные группы Experimental groups | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1-я группа ² 1st group ² | 2-я группа ³ 2nd group ³ | 3-я группа ⁴ 3rd group ⁴ |
| Эритроциты, 10 ¹² /л / Erythrocytes, 10 ¹² /L | 8,81±0,51 | 8,45±0,26 | 8,78±0,28 | 8,82±0,14 |
| Лейкоциты, 10 ⁹ /л / Leukocyte, 10 ⁹ /L | 7,98±0,47 | 5,62±0,12 | 10,25±0,37 | 10,42±0,21 |
| Эозинофилы, % / Eosinophils, % | 3,60±0,57 | 1,24±0,44 | 3,20±0,27 | 2,60±0,16 |
| Моноциты, % / Monocytes, % | 4,50±0,34 | 2,45±0,16 | 2,50±0,61 | 8,40±0,22 |
| Лимфоциты, % / Lymphocytes, % | 65,70±1,42 | 45,85±0,28 | 67,80±0,21 | 68,80±0,48 |
| Мочевина, ммоль/л / Urea, mmol/L | 3,75±0,18 | 3,57±0,24 | 3,81±0,15 | 3,57±0,25 |
| Креатинин, мг/дл / Creatinine, mg/dL | 0,51±0,02 | 0,62±0,04 | 0,49±0,01 | 0,48±0,05 |
| Глюкоза, моль/л / Glucose, mol/L | 6,72±0,45 | 6,44±0,96 | 6,78±0,21 | 6,81±0,14 |
| Гемоглобин, г/дл / Hemoglobin, g/dL | 12,80±1,12 | 12,64±0,18 | 14,10±0,25 | 13,80±0,54 |
| Холестерин, ммоль/л / Cholesterol, mmol/L | 2,57±0,16 | 2,61±0,13 | 2,39±0,24 | 2,44±0,72 |
| АсАт, ед./л / AsAt, unit/L | 78,85±1,68 | 75,22±0,89 | 76,96±1,11 | 72,84±0,82 |
| АлАт, ед./л / AlAt, unit/L | 62,31±2,11 | 82,40±0,16 | 65,81±2,61 | 64,96±1,12 |

Примечание: 1 – нелеченные мыши, 2 – метотрексат, 3 – диальдерон, 4 – ПФНЕ.
Note: 1 – intact mice, 2 – methotrexate, 3 – dialderon, 4 – PSHE.

Таблица 3 / Table 3

Показатели крови крыс при исследовании препаратов на хроническую токсичность
Blood rats in the study of drugs for chronic toxicity

| Показатели Markers | Контрольная группа ¹ Control group ¹ | Подопытные группы Experimental groups | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1-я группа ² 1st group ² | 2-я группа ³ 2nd group ³ | 3-я группа ⁴ 3rd group ⁴ |
| Эритроциты, 10 ¹² /л / Erythrocytes, 10 ¹² /L | 7,54±0,06 | 6,80±0,02 | 7,61±0,04 | 7,58±0,08 |
| Лейкоциты, 10 ⁹ /л / Leukocyte, 10 ⁹ /L | 8,80±0,24 | 7,80±0,34 | 9,68±0,15 | 10,71±0,35 |
| Эозинофилы, % / Eosinophils, % | 1,80±0,42 | 0,20±0,01 | 1,60±0,07 | 1,60±0,65 |
| Моноциты, % / Monocytes, % | 2,50±0,54 | 1,10±0,04 | 6,70±0,25 | 5,80±0,45 |
| Лимфоциты, % / Lymphocytes, % | 71,70±2,02 | 64,80±0,08 | 74,20±1,04 | 84,60±1,04 |
| Тромбоциты, 10 ⁹ /л / Platelets, 10 ⁹ /L | 376,00±2,18 | 238,80±4,25 | 365,20±2,04 | 374,80±2,11 |
| Гемоглобин, г/дл / Hemoglobin, g/dL | 142,70±2,52 | 128,60±3,18 | 147,10±1,16 | 150,80±0,24 |
| Глюкоза, ммоль/л / Glucose, mmol/L | 13,20±0,14 | 10,20±0,81 | 12,80±0,45 | 13,40±0,21 |
| Биллирубин, мкмоль/л / Bilirubin, mol/L | 1,57±0,41 | 2,19±0,38 | 1,62±0,35 | 1,58±0,15 |
| АсАт, ед./л / AsAt, unit/L | 138,20±0,43 | 214,50±0,65 | 126,20±0,85 | 156,80±1,28 |
| АлАт, ед./л / AlAt, unit/L | 78,40±1,64 | 192,60±0,82 | 80,20±2,46 | 76,90±2,61 |

Примечание: 1 – физраствор, 2 – метотрексат, 3 – диальдерон, 4 – ПФНЕ.

Note: 1 – saline, 2 – methotrexate, 3 – dialderon, 4 – PSHE.

физиологической нормы. Крысы обеих групп в течение опыта вели себя естественно, адекватно реагировали на внешние раздражители, у них не наблюдали нарушения аппетита и снижения активности. Не отмечали болевого беспокойства, нарушения тонуса мышц, координации движений, частоты дыхания у животных и после инъекций диальдерона и ПФНЕ. Гематологические и биохимические показатели крови крыс из второй и третьей подопытных групп достоверно не изменялись по сравнению с показателями крови контрольных животных (табл. 3).

Было отмечено незначительное повышение моноцитов в пределах физиологической нормы, что, вероятно, связано с частичной индукцией цитокинов и стимуляцией дифференцировки моноцитов.

У животных первой подопытной группы, при введении метотрексата (с фолиевой кислотой), отмечали частые случаи аллергии (чихание, зуд, расчёсы), частичный отказ от корма, нарушение координации движений, артралгии, судороги, снижение активности и учащение дыхания. В показателях крови имело место увеличение АсАт (аспартатаминотрансферазы) и, особенно, АлАт (аланинтрансферазы), что отражает гепатотоксичность метотрексата. Также наблюдали снижение содержания лимфоцитов, моноцитов, тромбоцитов и эозинофилов, что характерно для картины, складывающейся после курса цитостатиков, к группе которых относят метотрексат.

Заключение

В результате выполненных исследований установлено противоопухолевое действие ПФНЕ, сопоставимое по увеличению СПЖ мышечной-опухоленосителей саркомы S-180 и торможению роста опухоли с комбинированным препаратом из природных компонентов диальдероном, и достоверно превосходящее по этим показателям синтетический цитостатик метотрексат.

Изучение острой и хронической токсичности препаратов на лабораторных животных продемонстрировало безвредность ПФНЕ и диальдерона, что подтвердилось отсутствием побочного действия после их применения и сохранением гематологических и биохимических показателей у животных в пределах физиологической нормы.

Литература

1. Переводчикова Н.И. Клинико-фармакологическая характеристика противоопухолевых средств // Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / Под ред. Н.И. Переводчиковой, В.А. Горбуновой. М.: Практическая медицина, 2015. С. 49–57.
2. Nikolova T., Roos W.P., Krämer O.H. Chloroethylating nitrosoureas in cancer therapy: DNA damage, repair and cell death signaling // Biochim. Biophys. Acta. 2017. V. 1868 (1). P. 29–39.
3. Вассер С.П. Наука о лекарственных шляпочных грибах: современные перспективы, достижения, до-

казательства и вызовы // Биосфера. 2015. Т. 7. № 2. С. 238–248.

4. Liu J.J., Gunn L., Hansen R., Yan J. Combined yeast-derived beta glucan with anti-tumor monoclonal antibody for cancer immunotherapy // *Exper. Mol. Pathol.* 2009. No. 86. P. 208–214.

5. Lindequist U. The merit of medicinal mushrooms from a pharmaceutical point of view // *Int. J. Med. Mushrooms.* 2013. V. 15 (6). P. 17–23.

6. De Silva D.D., Rapior S., Sudarman E., Stadler M., Xu J., Alias S.A., Hyde K.D. Bioactive metabolites from macrofungi: ethnopharmacology, biological activities and chemistry // *Fungal Diversity.* 2013. No. 62. P. 1–40.

7. Zhang M., Cui S.W., Cheung P.K., Wang Q. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation, structural characteristics and antitumor activity // *Trends Food Sci. Technol.* 2007. No. 18. P. 4–19.

8. Zan X., Cui F., Li Y., Yang Y., Wu D., Sun W., Ping L. *Hericium erinaceus* polysaccharide – protein HEG-5 inhibits SGC-7901 cell growth via cell cycle arrest apoptosis // *Int. J. Biol. Macromol.* 2015. No. 76. P. 242–253.

9. He X., Wang X., Fang J., Chang Y., Ning N., Guo H., Zhao Z. Structures, biological activities, and industrial applications of the polysaccharides from *Hericium erinaceus* (Lion's Mane) mushroom: A review // *Int. J. Biol. Macromol.* 2017. V. 97. P. 228–237.

10. Ren S., Qin T., Song Y., Lin D., Li J., Huang Y. Immunomodulatory effects of hydroxyethylated *Hericium erinaceus* polysaccharide on macrophages RAW 264.7 // *Int. J. Biol. Macromol.* 2017. No. 5 (Pt. 1). P. 879–885.

11. Chang H.C., Yang H.L., Pan J.H., Korivi M., Pan J.Y., Hsieh M.C., Chao P.M., Huang P.J., Tsai C.T., Hseu Y.C. *Hericium erinaceus* inhibits TNF- α -induced angiogenesis and ROS generation through suppression of MMP-9/NF- κ B signaling and activation of Nrf2-mediated antioxidant genes in human EA // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016. No. 8. P. 238–257.

12. Тимохина Н.И., Сушко С.Н., Веялкина Н.Н., Гончаров С.В., Трухоновец В.В. Биологически-активные свойства водных экстрактов культивированных грибов *Hericium erinaceus* // Проблемы здоровья и экологии. 2017. № 2 (52). С. 71–74.

13. Широких А.А., Злобина Ю. А., Широких И.Г. Биодegradация растительных отходов и получение плодовых тел при культивировании ежевика гребенчатого (*Hericium erinaceus*) // Теоретическая и прикладная экология. 2018. № 3. С. 86–92.

14. Назарова Я.И., Широких И.Г., Широких А.А., Головченко В.В. Выделение и исследование моносахаридного состава полисахаридных фракций гриба *Hericium erinaceus* // Фундаментальная гликология: Сб. материалов IV Всерос. конф. 23–28 сентября 2018. Киров: Науч. изд-во ФГБОУ ВО «ВятГУ», 2018. С. 71–78.

15. Аязмов М.А. Возможность частичной замены антибиотиков биологически активными веществами при

лечении клинических маститов у коров // Теоретическая и прикладная экология. 2018. № 4. С. 127–134.

16. Киреев Г.В., Ассесорова Ю.Ю., Юсупова А.Ф., Ибрагимов Ф.А., Голубенко З.А. Изучение влияния циклофосфана и соевых белков на рост перевиваемых опухолей мыши // Сибирский онкологический журнал. 2006. № 2 (18). С. 42–46.

17. Березовская И.В., Гуськова Т.А., Дуриев А.Д. Методические рекомендации по изучению безопасности воспроизведенных лекарственных препаратов // Биомедицина. 2011. № 3. С. 78–80.

18. Насонов Е.Л. Метотрексат: перспективы применения в ревматологии. М.: Филоматис, 2005. 200 с.

19. Braun J. Comparison of the clinical efficacy and safety of subcutaneous versus oral administration of methotrexate in patients with active rheumatoid arthritis: results of a six-month, multicenter, randomized, double-blind, controlled, phase IV trial // *Arthr Rheum.* 2008. No. 58 (1). P. 73–81.

References

1. Perevodchikova N.I. Clinical and pharmacological characteristics of antitumor agents // Guidelines for the chemotherapy of tumor diseases / Eds. N.I. Perevodchikova, V.A. Gorbunova. Moskva: Prakticheskaya meditsina, 2015. P. 37–41, 49–57 (in Russian).

2. Nikolova T., Roos W.P., Krämer O.H. Chloroethylating nitrosoureas in cancer therapy: DNA damage, repair and cell death signaling // *Biochim. Biophys. Acta.* 2017. V. 1868 (1). P. 29–39.

3. Vasser C.P. The science of medicinal mushrooms: modern perspectives, achievements, evidence, and challenges // *Biosfera.* 2015. V. 7. No. 2. P. 238–248 (in Ukraine).

4. Liu J.J., Gunn L., Hansen R., Yan J. Combined yeast-derived beta glucan with anti-tumor monoclonal antibody for cancer immunotherapy // *Exper. Mol. Pathol.* 2009. No. 86. P. 208–214.

5. Lindequist U. The merit of medicinal mushrooms from a pharmaceutical point of view // *Int. J. Med. Mushrooms.* 2013. V. 15 (6). P. 17–23.

6. De Silva D.D., Rapior S., Sudarman E., Stadler M., Xu J., Alias S.A., Hyde K.D. Bioactive metabolites from macrofungi: ethnopharmacology, biological activities and chemistry // *Fungal Diversity.* 2013. No. 62. P. 1–40.

7. Zhang M., Cui S.W., Cheung P.K., Wang Q. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation, structural characteristics and antitumor activity // *Trends Food Sci. Technol.* 2007. No. 18. P. 4–19.

8. Zan X., Cui F., Li Y., Yang Y., Wu D., Sun W., Ping L. *Hericium erinaceus* polysaccharide – protein HEG-5 inhibits SGC-7901 cell growth via cell cycle arrest apoptosis // *Int. J. Biol. Macromol.* 2015. No. 76. P. 242–253.

9. He X., Wang X., Fang J., Chang Y., Ning N., Guo H., Zhao Z. Structures, biological activities, and industrial ap-

plications of the polysaccharides from *Hericium erinaceus* (Lion's Mane) mushroom: A review // *Int. J. Biol. Macromol.* 2017. V. 97. P. 228–237.

10. Ren S., Qin T., Song Y., Lin D., Li J., Huang Y. Immunomodulatory effects of hydroxyethylated *Hericium erinaceus* polysaccharide on macrophages RAW 264.7 // *Int. J. Biol. Macromol.* 2017. No. 5 (Pt. 1). P. 879–885.

11. Chang H.C., Yang H.L., Pan J.H., Korivi M., Pan J.Y., Hsieh M.C., Chao P.M., Huang P.J., Tsai C.T., Hseu Y.C. *Hericium erinaceus* inhibits TNF- α -induced angiogenesis and ROS generation through suppression of MMP-9/NF- κ B signaling and activation of Nrf2-mediated antioxidant genes in human EA // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016. No. 8. P. 238–257.

12. Тимохина Н.И., Сушко С.Н., Веялкина Н.Н., Гончаров С.В., Трухоновец В.В. Биологически-активные свойства водных экстрактов культивированных грибов *Hericium erinaceus* // *Проблемы здоровья и экологии.* 2017. № 2 (52). С. 71–74.

13. Shirokikh A.A., Zlobina Yu.A., Shirokikh I.G. Biodegradation of plant waste and the production of fruit bodies during the cultivation of the fungus *Hericium erinaceus* // *Theoretical and Applied Ecology.* 2018. No. 3. P. 86–92 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2018-3-086-092

14. Nazarova Ya.I., Shirokikh I.G., Shirokikh A.A., Golovchenko V.V. Isolation and study of monosaccharide

composition of polysaccharide fractions of the fungus *Hericium erinaceus* // *Fundamental glycobiology.* Kirov: Nauch. izd-vo FGBOU VO VyatGU, 2018. P. 71–78 (in Russian).

15. Azyamov M.A. The partial replacement of antibiotics with biologically active substances at treatment of cows' mastitis // *Theoretical and Applied Ecology.* 2018. No. 4. P. 127–134 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2018-4-127-134

16. Kireyev G.V., Assessorova Yu.Yu., Yusupova A.F., Ibragimov F.A., Golubenko Z.A. Study of the effect of cyclophosphane and soy proteins on the growth of transplantable mouse tumor // *Sibirskiy onkologicheskiy zhurnal.* 2006. No. 2 (18). P. 42–46 (in Russian).

17. Berezovskaya I.V., Gus'kova T.A., Duriyev A.D. Guidelines for the study of the safety of reproduced drugs // *Biomeditsina.* 2011. No. 3. P. 78–80 (in Russian).

18. Nasonov E.L. Methotrexate: prospects for use in heumatology. Moskva: Filomatis, 2005. 200 p. (in Russian).

19. Braun J. Comparison of the clinical efficacy and safety of subcutaneous versus oral administration of methotrexate in patients with active rheumatoid arthritis: results of a six-month, multicenter, randomized, double-blind, controlled, phase IV trial // *Arthr Rheum.* 2008. No. 58 (1) P. 73–81.

I Всероссийский форум «Утилизация и рециклинг отходов производства и потребления»

2–5 декабря 2019 г. в г. Кирове при поддержке ФГУП «РосРАО» состоялся I Всероссийский форум «Утилизация и рециклинг отходов производства и потребления». Организаторами форума выступили лаборатория биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и Вятского государственного университета, а также Союз «Вятская торгово-промышленная палата».

3 декабря 2019 г. в конференц-зале «Алмаз» бизнес-центра «Кристалл» состоялось официальное открытие I Всероссийского форума «Утилизация и рециклинг отходов производства и потребления». На пленарном заседании форума были сделаны доклады, посвящённые государственному мониторингу загрязнения окружающей среды; направлениям применения вторичных ресурсов; оценке возможности и эффективности биодegradации углеводородов нефти; управлению обращением с опасными промышленными отходами.

Одним из важных мероприятий, проведённых в рамках форума, был круглый стол, на котором проведено обсуждение проблем деятельности по утилизации отходов производства, потребления в свете современного природоохранного законодательства, а также предложены научные подходы, пути, методы и технологии по снижению промышленных отходов и их утилизации в регионах РФ. По итогам работы круглого стола была подготовлена резолюция, в которой представлены рекомендации в адрес органов власти, организаторов и руководителей предприятий, бизнеса, вузов региона и СМИ.

В рамках форума состоялось заседание рабочей группы Общественного совета Госкорпорации «Росатом» по экологии с участием экспертной группы Общественной палаты Кировской области.

Кроме того, в рамках программы форума проведены две Всероссийские научно-практические конференции с международным участием. 4 декабря 2019 г. состоялась конференция «Утилизация отходов производства и потребления: инновационные подходы и технологии», на которой были сделаны пленарные доклады, посвящённые утилизации нефтешламов и отходов нефтяного производства методом термодеструкции; переработке шламов и отходов производства в товарную продукцию; математическому комплексному

моделированию различных форм загрязнения; совершенствованию системы биомониторинга опасных промышленных объектов. Далее обсуждения продолжились на заседаниях научных секций: 1. Методы и технологии утилизации неорганических отходов кислотно-щелочного производства, ртутьсодержащих отходов и электрохимии. 2. Технологии утилизации и обезвреживания органических отходов: нефтезагрязнённых шламов, трансформаторных масел и отходов полимерных материалов. 3. Биотехнология утилизации отходов производства и потребления. На конференции было заслушано 18 секционных докладов, кроме того, присутствовало более 40 человек. Опубликовано сборник материалов конференции, в который вошло 79 статей.

На другой день (5 декабря 2019 г.) на XVII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем» работали 4 секции: 1. Биологический мониторинг природных и техногенных систем. 2. Методы биодиагностики в оценке качества окружающей среды. 3. Химия и экология почв и водных объектов. 4. Экология растений и животных и механизмы их адаптации к среде обитания. Было заслушано 42 доклада. В работе секций конференции приняли участие 126 человек, в сборнике материалов конференции опубликовано 105 статей.

Участие в работе форума принимали и студенты и молодые учёные, которые занимаются вопросами утилизации отходов производства и потребления. Всего на конкурс молодёжных проектов «Обращение с отходами: инновационные подходы и решения» поступило 48 проектов, в очном этапе конкурса приняли участие 15 проектов. Всем участникам вручены благодарственные письма, сертификаты, дипломы и призы.

На заключительном заседании форума, которое состоялось 5 декабря 2019 г., был отмечен высокий уровень организации всех мероприятий форума, участники и организаторы подчеркнули необходимость продолжения проведения подобных научных мероприятий.

*Зам. председателя организационного
комитета форума, д. т. н.,
профессор Т. Я. Ашихмина*

ОТКРЫТИЕ И РАБОТА I ВСЕРОССИЙСКОГО ФОРУМА «УТИЛИЗАЦИЯ И РЕЦИКЛИНГ ОТХОДОВ ПРОИЗВОДСТВА И ПОТРЕБЛЕНИЯ»



*С приветственным словом выступает зам. председателя оргкомитета форума
д. т. н., профессор Т. Я. Ашихмина*



*Участники форума – представители
Кировской области и 38 регионов России
в конференц-зале «Алмаз»
бизнес-центра «Кристалл»*



*Выступает М. В. Корольков
первый зам. гендиректора по реализации
экологических проектов ФГУП «РосРАО»*



*Обсуждение докладов на конференции «Ути-
лизация отходов производства и потребле-
ния: инновационные подходы и технологии»*



*Вручение дипломов и призов победителям
Межрегионального конкурса
молодёжных проектов*

Индекс 82027, 48482



ISSN 1995-4301



9 771995 430004