



*Теоретическая
и прикладная*

2020

ЭКОЛОГИЯ

ISSN 1995-4304 (PRINT)
ISSN 2618-8406 (ONLINE)

№ 2

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**

**СОЦИАЛЬНАЯ
ЭКОЛОГИЯ**

**ЭКОЛОГИЗАЦИЯ
ПРОИЗВОДСТВА**

АГРОЭКОЛОГИЯ

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

<http://envjournal.ru>



Тамара Яковлевна Ашихмина

– главный редактор журнала «Теоретическая и прикладная экология», заведующая лабораторией биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и ВятГУ, доктор технических наук, профессор

Коллектив редколлегии журнала «Теоретическая и прикладная экология», его учредители ООО ИД «Камертон» и ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет», Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН поздравляют Тамару Яковлевну Ашихмину с Юбилеем и выражают сердечную благодарность и искреннюю признательность за тот огромный вклад, который она вносит в исследования, направленные на поддержание экологического равновесия в Кировской области, развитие экологических знаний в дело охраны и рационального использования природных ресурсов.

Талантливый учёный и организатор, доктор технических наук, профессор, заведующая лабораторией биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и ВятГУ Тамара Яковлевна является не только основателем журнала «Теоретическая и прикладная экология», но и его бессменным главным редактором. Под её руководством журнал, публикующий результаты актуальных исследований отечественных и зарубежных учёных в различных сферах экологии, вошёл в каталог периодических изданий Ульрих (Ulrich's Periodicals Directory), в библиографические базы Scopus, Web of Science Core Collection, RSCI на платформе WoS, Google Scholar и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ).

С именем Т.Я. Ашихминой, её плодотворной научно-исследовательской деятельностью по праву связывают успешное решение целого ряда самых острых экологических проблем на территории Кировской области. Благодаря выдающемуся личному вкладу Тамары Яковлевны была создана и успешно развивается научная школа по проблемам экологического мониторинга, система непрерывного экологического образования в учреждениях образования Кировской области, разрабатываются и внедряются новые

научные технологии по созданию систем обеспечения экологической безопасности.

Талант учёного-исследователя, активная жизненная позиция, обострённое чувство гражданской ответственности сделали личность Тамары Яковлевны одной из самых значимых в развитии химии и научных подходов к проблемам экологии в Кировской области. Она по праву занимает ведущее место среди известных людей, именами которых гордится Вятская земля и Вятский государственный университет. Это человек, чей дар убеждения позволяет вдохновлять людей на большие дела и свершения. Тамару Яковлевну очень любят студенты, она как никто другой умеет заинтересовать, даже заинтриговать химией, увлечь юные умы исследовательской работой. Под её крылом выросло не одно поколение химиков, при кафедре была открыта и успешно работает аспирантура.

Не менее обширен список общественных заслуг Т.Я. Ашихминой. В настоящее время она является членом Общественной палаты Кировской области, входит в состав и возглавляет множество общественных советов и коллегиальных органов при властных структурах.

За выдающиеся заслуги в педагогической и научной деятельности, огромный вклад в сохранение природных ресурсов и решение экологических проблем города Кирова и Кировской области, активную общественную деятельность в 2014 г. решением Кировской городской думы Тамаре Яковлевне Ашихминой присвоено звание «Почётный гражданин города Кирова». И при всех своих научных регалиях, званиях и должностях Тамара Яковлевна остаётся внимательным, чутким к нуждам коллег человеком. Она – яркий пример цельной личности, сочетающей в себе остроту ума, подлинную интеллигентность, щедрость души, чуткое отношение к людям с принципиальностью, беззаветной преданностью избранному делу, искренним патриотизмом.

*Коллектив редколлегии журнала
«Теоретическая и прикладная экология»
и лаборатории биомониторинга
Института биологии Коми НЦ УрО*



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 (№ 2091 по состоянию 24.03.2020).

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 ИД «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., директор Института 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. доцент, научный сотрудник Института биологии Коми НЦ УрО РАН

Технические секретари:

Т.И. Кутявина, к.б.н., старший научный сотрудник Вятского государственного университета,
В.В. Рутман, инженер Вятского государственного университета

Адрес редакции:

610000, Кировская область, 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>

Издательство: ООО «О-Краткое»
Адрес издательства: 610000, Кировская область,
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»
Дата выхода выпуска в свет: 20.06.2020.
Тираж 250 экз. Заказ № 0376. Цена свободная.

12+

Типография: ООО «Кировская цифровая типография»
Адрес типографии: 610017, Кировская область,
г. Киров, ул. Молодой Гвардии, 57 а

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

- 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)
- Е.В. Дабах** к.б.н., старший научный сотрудник Института биологии Коми НЦ УрО РАН
- М.В. Дородников** к.с.-х. н., научный сотрудник Университета Гёттингена им. Георга Августа (Германия)
- 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. Литвинцев** 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
- Е.И. Тихомирова** д.б.н., профессор, зав. кафедрой Саратовского государственного технического университета
- 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)
- В.Т. Юнблюд** д.и.н., профессор Вятского государственного университета



Theoretical and Applied ECOLOGY

No. 2, 2020

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, Director of the 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. Kut'yavina, PhD in Biology, senior researcher of Vyatka State University,

V.V. Rutman,

engineer of Vyatka State University

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.

Editorial Address: 36 Moskovskaya St., Kirov, Kirov region, Russia, 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>

Publisher: the publishing house of "O-Kratkoe"

Publisher's Address: of. 101, 4 Dynamoskiy proezd

Kirov region, Russia, Kirov, 610000

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

Designer – Tatiana Korshunova. Cover photo – Aleksandr 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"

12+

Typography: "Kirov digital printing house"

Printing Address: 57 a Molodoy Gvardii St., Kirov,

Kirov region, Russia, 610017

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

- 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)
- E.V. Dabakh** PhD in Biology, senior researcher of Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS
- M.V. Dorodnikov** PhD in Agricultural Sciences, Georg August University of Göttingen (Germany)
- 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** Professor, 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 of 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
- E.I. Tikhomirova** Doctor in Biology, Professor, Head of the Department of Saratov State Technical University
- 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 University of Assiut University (Egypt)
- V.T. Yungblud** Doctor in History, Professor of Vyatka State University

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРЫ

- Э. Ш. Шемшединова, Э. Р. Абдураманова, Е. В. Морозкина, А. М. Кацев* Люминесцентные цельноклеточные биосенсоры в детекции экотоксикантов (обзор) 6
- Т. И. Кутявина, Г. Я. Кантор, Т. Я. Ашихмина, В. П. Савиных* Применение методов обработки и анализа космических снимков для изучения эвтрофированных водоёмов (обзор) 14
- А. В. Бакулина, А. В. Харина, А. А. Широких* Септориоз листьев и колоса пшеницы: генетический контроль устойчивости хозяина (обзор) 26

СТАТЬИ

- А. Лонгобарди, А. Н. Елизарьев, Э. С. Насырова, Е. Н. Елизарьева, Л. Ю. Кияшко, К. Ю. Кабанов* Распространение свалочного фильтрата в грунтовые воды 36
- С. Г. Скугорева, Г. Я. Кантор, А. В. Жукова* Использование математических моделей для оценки сорбционных способностей высших грибов и активированного угля по отношению к ионам меди (II) 44
- Т. А. Краснова, А. К. Горелкина, Н. В. Гора, Н. С. Голубева, И. В. Тимощук, И. В. Буянова* Исследование кинетики адсорбции трихлорэтилена из водных растворов 51
- А. И. Фокина, В. Н. Кулаков, Л. В. Даровских, К. Д. Лялина* Новый подход к определению кобальта в виде кобальта (III) методом инверсионной вольтамперометрии 57
- А. И. Иванов, А. Г. Горохова, М. И. Андреева, К. А. Дурыгина* Биологическая аккумуляция химических элементов грибами агарикомицетами (*Agaricomycetes*) в условиях Приволжской возвышенности 64
- Е. В. Яковлева, Д. Н. Габов* Накопление полиаренов в почвах и растениях южной тундры под действием процессов добычи и сжигания угля 70
- И. В. Далькэ, Р. В. Малышев, С. П. Маслова* Экофизиология дыхания растений *Heracleum sosnowskyi* в условиях севера 77
- И. Н. Юранёва, В. Г. Зайнуллин* Эффекты последствия в хронически облучаемых экспериментальных популяциях *Drosophila melanogaster* 83
- Н. И. Рабазанов, Р. М. Бархалов, А. М. Орлов, Г. Н. Маркевич, Д. А. Устарбекова* Изменчивость морфологических признаков и состояние популяции ручьевых форелей (*Salmo trutta morpha fario* Linnaeus, 1758) в верховьях рек Сулак и Самур 89
- И. Ю. Шлёкова, А. И. Кныш* Снижение выбросов в окружающую среду при производстве нефтяного кокса на установках замедленного коксования 96
- И. Г. Широких, Я. И. Назарова, С. Ю. Огородникова, О. Н. Шуплецова, А. Л. Блинова, Г. Н. Ралдугина, С. В. Евсюков, Е. Н. Баранова* Трансформация табака по гену синтеза глицинбетаина не ослабила чувствительность растений к токсичности алюминия в кислой почве 103
- D. V. Petukhov, E. V. Tovstik, A. V. Bakulina, M. L. Sazanova, A. A. Burkov* Soil *Streptomyces* sp. strain 2K1: phylogenetic position, effect on *Fusarium proliferatum* growth 111
- Н. В. Сырчина, Т. Я. Ашихмина, Н. Н. Богатырёва, Г. Я. Кантор* Глаукониты Вятско-Камского фосфоритоносного бассейна 117
- Е. Н. Мелехина, В. А. Канев, М. Ю. Маркарова, С. М. Надежкин, А. Б. Новаковский, А. А. Таскаева, Д. В. Тарабукин, И. О. Вележанинов, Е. Е. Расова* Оценка состояния загрязнённых нефтью экосистем Европейской Субарктики: мультидисциплинарный подход 123

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ
ПРОБЛЕМЫ
ЭКОЛОГИИ

МЕТОДОЛОГИЯ
И МЕТОДЫ
ИССЛЕДОВАНИЙ.
МОДЕЛИ И
ПРОГНОЗЫ

ХИМИЯ ПРИРОДНЫХ
СРЕД И ОБЪЕКТОВ

ПОПУЛЯЦИОННАЯ
ЭКОЛОГИЯ

ЭКОЛОГИЗАЦИЯ
ПРОИЗВОДСТВА

АГРОЭКОЛОГИЯ

РЕМЕДИАЦИЯ
И РЕКУЛЬТИВАЦИЯ

РЕМЕДИАЦИЯ И РЕКУЛЬТИВАЦИЯ

- С. М. Кузнецов, А. А. Аламыкин, Е. О. Лобанова, О. А. Новикова, В. Г. Комоско, С. Г. Литвинцев, Е. А. Мартинсон, А. В. Николаева, М. А. Трошин* Способность некоторых бактерий-нефтедеструкторов продуцировать биосурфактанты 130
- А. А. Чапоргина, М. В. Корнейкова* Оценка эффективности консорциумов микроорганизмов для очистки почв, загрязнённых нефтепродуктами, в условиях Кольского Севера 136

ЭКОТОКСИКОЛОГИЯ

- А. С. Петухов, Н. А. Христовин, Г. А. Петухова, Т. А. Кремлева* Перекисное окисление липидов в клетках растений в условиях загрязнения среды тяжёлыми металлами 143
- Т. А. Трифонова, С. М. Чеснокова, А. Г. Космачева* Оценка влияния антибиотиков ампициллина и тилозина на ферментативную активность дерновоподзолистой почвы и их токсичности для культурных растений 150
- А. Г. Кудяшева, Н. Г. Загорская, Л. Н. Шишкина* Ранние и отдалённые эффекты гамма-излучения и уранилнитрата в липидах печени мышей 157

СОЦИАЛЬНАЯ ЭКОЛОГИЯ

- Т. В. Полежаева, И. Г. Широких, М. И. Сергушкина, Я. И. Назарова, А. А. Широких, А. Н. Худяков, О. О. Зайцева, О. Н. Соломина, И. Г. Патурова* Влияние полисахаридов *Hericium erinaceus* БП 16 на фагоцитарную активность нейтрофилов крови человека 166
- Д. Абдесслемед, В. А. Агольцов, С. Ю. Веселовский, О. М. Попова, Е. С. Красникова, А. М. Семиволос, Д. А. Девришов* Значение клеточных факторов иммунитета при применении экологически безопасной сплитконъюгированной противобруцеллёзной вакцины в сочетании с иммуномодуляторами 172
- О. И. Байкова, Д. Б. Петренко, Н. Д. Свердлова, Н. В. Васильев* Оценка содержания общего и водорастворимого фтора в распространённых марках крупнолистного и пакетированного чая 180
- D. G. Domrachev, A. A. Kirillovykh, V. N. Pugach* Public and municipal environmental control: problems and prospects of development in the Russian Federation 187

THEORETICAL PROBLEMS OF ECOLOGY

- E. Sh. Shemshedinova, E. R. Abduramanova, E. V. Morozkina, A. M. Katsev* Luminescent wholecell biosensors in detection of environmental contaminants (review) 6
- T. I. Kut'yavina, G. Ya. Kantor, T. Ya. Ashikhmina, V. P. Savinykh* Application of methods for processing and analysis of satellite images for the study of eutrophied reservoirs (review) 14
- A. V. Bakulina, A. V. Kharina, A. A. Shirokikh* Septoria tritici and Stagonospora nodorum blotch of wheat: genetic control of host resistance (review) 26

METHODOLOGY AND RESEARCH METHODS. MODELS AND FORECASTS

- A. Longobardi, A. N. Elizaryev, E. S. Nasyrova, E. N. Elizaryeva, L. U. Kiyashko, K. U. Kabanov* Spread of landfill leachate into groundwater 36
- S. G. Skugoreva, G. Ya. Kantor, A. V. Zhukova* The use of mathematical models to assess the sorption abilities of higher mushrooms and activated carbon in relation to copper(II) ions 44
- T. A. Krasnova, A. K. Gorelkina, N. V. Gora, N. S. Golubeva, I. V. Timoschuk, I. V. Buyanova* Study of the adsorption kinetics of trichlorethylene from aqueous solutions 51
- A. I. Fokina, V. N. Kulakov, L. V. Darovskikh, K. D. Lyalina* A new approach to the determination of cobalt in the form of cobalt(III) by inversion voltammetry 57

CONTENTS

REVIEWS

CHEMISTRY
OF NATURAL
ENVIRONMENTS
AND OBJECTS

- A. I. Ivanov, A. G. Gorokhova, M. I. Andreyeva, K. A. Duryagina* Biological accumulation of chemical elements by agaricomycetes mushrooms under conditions of Volga highlands64
E. V. Yakovleva, D. N. Gabov Accumulation of polyarenes in soils and plants of the south tundra zone affected by coal mining and thermal power plant70

POPULATION
ECOLOGY

- I. V. Dalke, R. V. Malyshev, S. P. Maslova* Ecophysiology of *Heracleum sosnowskyi* plant respiration in the north77
I. N. Yuraneva, V. G. Zainullin Aftereffects in chronically irradiated experimental populations of *Drosophila melanogaster*83
N. I. Rabazanov, R. M. Barkhalov, A. M. Orlov, G. N. Markevich, J. A. Ustarbekova Variability of morphological characteristics and the population status of brook trout (*Salmo trutta morpha fario* Linnaeus, 1758) at the headwaters of the rivers Samur and Sulak89

GREENING
OF PRODUCTION
AGROECOLOGY

- I. Yu. Shlekova, A. I. Knyshev* Reducing emissions to the environment in the production of petroleum coke on delayed coking units.....96
I. G. Shirokikh, Ya. I. Nazarova, S. Yu. Ogorodnikova, O. N. Shupletsova, A. L. Blinova, G. N. Raldugina, S. V. Evsukov, E. N. Baranova Transformation with a bacterial gene for choline oxidase doesn't lower tobacco sensitivity to aluminum in acidic soil103
D. V. Petukhov, E. V. Tovstik, A. V. Bakulina, M. L. Sazanova, A. A. Burkov Soil *Streptomyces* sp. strain 2K1: phylogenetic position, effect on *Fusarium proliferatum* growth111
N. V. Syrchina, T. Ya. Ashikhmina, N. N. Bogatyryova, G. Ya. Kantor Glauconites of the Vyatka-Kama phosphoritebearing basin117

REMEDIAION
AND RECULTIVATION

- E. N. Melekhina, V. A. Kaneev, M. Yu. Markarova, S. M. Nadezhkin, A. B. Nowakowski, A. A. Taskaeva, D. V. Tarabukin, I. O. Velezhaninov, E. E. Rasova* Assessment of the state of oil-polluted ecosystems of European Subarctic: a multidisciplinary approach123
S. M. Kuznetsov, A. A. Alalykin, E. O. Lobanova, O. A. Novikova, V. G. Komosko, S. G. Litvinets, E. A. Martinson, A. V. Nikolaeva, M. A. Troshin The ability of certain oil destructive bacteria to produce biosurfactants130
A. A. Chaporgina, M. V. Korneykova Evaluation of the microorganisms consortium efficiency to cleaning soils polluted by oil products in the Kola North conditions.....136

ECOTOXICOLOGY

- A. S. Petukhov, N. A. Kritokhin, G. A. Petukhova, T. A. Kremleva* Lipid peroxidation in plants cells under conditions of environmental heavy metal contamination143
T. A. Trifonova, S. M. Chesnokova, A. G. Kosmacheva Evaluation of the effect of ampicillin and tylosin antibiotics on the enzymatic activity of sodpodzolic soil and their toxicity to cultivated plants150
A. G. Kudyasheva, N. G. Zagorskaya, L. N. Shishkina Early and remote effects of gamma irradiation and uranyl nitrate in the liver lipids of mice157

SOCIAL ECOLOGY

- T. V. Polezhaeva, I. G. Shirokikh, M. I. Sergushkina, Y. I. Nazarova, A. A. Shirokikh, A. N. Khudyakov, O. O. Zaytseva, O. N. Solomina, I. G. Paturova* Influence of polysaccharides from *Hericium erinaceus* BP 16 on phagocytic activity of human blood neutrophils 166
D. Abdessemed, V. A. Agoltsov, S. Yu. Veselovsky, O. M. Popova, E. S. Krasnikova, A. M. Semyvolos, D. A. Devrshov Importance of cellular immunity factors in application of the environmentally safe splitconjugated antibrucellosis vaccine in combination with immunomodulators172
O. I. Baykova, D. B. Petrenko, N. D. Sverdlova, N. V. Vasiliev The estimation of total and a watersoluble fluorine content in common brands of largeleaf and packaged tea180
D. G. Domrachev, A. A. Kirillovych, V. N. Pugach Public and municipal environmental control: problems and prospects of development in the Russian Federation187

Люминесцентные цельноклеточные биосенсоры в детекции экотоксикантов (обзор)

© 2020. Э. Ш. Шемшединова, ассистент, Э. Р. Абдураманова, ассистент,
Е. В. Морозкина, к. х. н., старший преподаватель,
А. М. Кацев, д. б. н., профессор, зав. кафедрой,
Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского,
Медицинская академия имени С. И. Георгиевского,
295051, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина, д. 5/7,
e-mail: katsev@mail.ru, elvisa.shemshedinova@mail.ru

Анализ современных литературных источников показывает перспективность использования оптических биосенсоров в биомониторинге экотоксикантов. В работе рассмотрены современные разработки люминесцентных цельноклеточных биосенсорных устройств на основе природных и генномодифицированных штаммов. Их применяют для детекции широкого ряда веществ: тяжёлые металлы, гербициды и пестициды, поверхностно-активные вещества в природных и сточных водах, в почвах. Показана актуальность использования биосенсоров на основе иммобилизованных фотобактерий за счёт ряда преимуществ, таких как портативность, высокая чувствительность, быстрое действие и экономичность по сравнению с другими биосенсорами. Проанализированы технологии конструирования бактериальных биосенсоров, принципы их действия, перспективность в экспресс-оценке содержания поллютантов в экосистеме. В настоящее время продолжается поиск оптимального носителя, подбираются условия иммобилизации бактерий с целью увеличения интенсивности и стабильности люминесценции; проводятся работы по повышению чувствительности и селективности тест-культур.

Ключевые слова: бактериальная люминесценция, люминесцентные бактерии, билюминесцентный анализ, биосенсоры, биорепортёры, экотоксичность.

Luminescent whole-cell biosensors in detection of environmental contaminants (review)

© 2020. E. Sh. Shemshedinova ORCID: 0000-0003-3420-117X,
E. R. Abduramanova ORCID: 0000-0002-6432-7382,
E. V. Morozkina ORCID: 0000-0002-5415-182X,
A. M. Katsev ORCID: 0000-0002-7762-3818,
V. I. Vernadsky Crimean Federal University,
S. I. Georgievsky Medical Academy,
5/7, Lenina Bulvar, Simferopol, Republic of Crimea, Russia, 295051,
e-mail: katsev@mail.ru, elvisa.shemshedinova@mail.ru

The advantages of various optical biosensors application in environmental pollution monitoring have been reviewed and evaluated. These biosensors allow testing only the components bioavailable for living cell, assessing their toxic or mutagenic hazard. Examples of the use of a broad spectrum of modern whole-cell luminescent biosensors based on natural marine luminescent bacteria and genetically engineered strains have been presented. The luminescent bioassays quantify the physiological changes demonstrated by luminescent bacteria due to metabolic disruption induced by toxic components. They are found to be applicable to all types of pollutants (heavy metals, herbicides, pesticides, surfactants) in water streams, wastewater, and contaminated sediments. The whole-cell luminescent biosensors can be used to study some processes in cells that were not previously available for analysis. They allow determining not only different toxicants influence on the luminescence level intensity of luminescent bacteria, but also understanding their physiological effect on the bacteria cell. This review pays a special attention to some luminescent biosensors containing immobilized luminescent bacteria on different organic and inorganic carriers and the whole-cell organism's immobilization methods. The advantages offered by immobilized luminescent bacteria whole-cell toxicity testing include portability, high sensitivity, low cost, and rapid responses. This fact stimulates a development and improvement of the biosensor devices based on luminescent bacteria. A great potential of the whole-cell luminescent biosensors application in on-line environmental toxicity monitoring has been demonstrated. It has been summarized the relevance of immobilized luminescent bacteria whole-cell biosensors design problems such as luminescence stability, sensitivity and selectivity of the test-culture.

Keywords: bacterial bioluminescence, luminescent bacteria, bioluminescence assay, biosensor, bioreporter, ecotoxicity.

Глобальной проблемой экологии на данный момент является загрязнение окружающей среды в связи с интенсивной индустриализацией общества. Особую опасность представляют соли тяжёлых металлов (ТМ), поверхностно-активные вещества (ПАВ), пестициды, нефтепродукты. Поэтому актуальным становится разработка надёжных методов экспресс-оценки содержания экотоксикантов. Использование традиционных аналитических методов анализа таких, как спектроскопические, электрохимические методы, газовая хроматография, масс-спектрометрия и др., несмотря на избирательность и высокую точность, не всегда даёт желаемый результат, так как не учитывает общее токсикологическое действие соединений загрязнителей на биологические объекты [1]. Основным критерием токсичности в этих методах является превышение предельно допустимых концентраций (ПДК) токсикантов, однако не для всех соединений, производимых человеком, разработаны методики определения и обоснованные значения ПДК. Кроме того, химические и физико-химические методы требуют дорогостоящего оборудования, высококвалифицированного персонала, длительной пробоподготовки и не пригодны для полевого анализа [2]. Поэтому в настоящее время разрабатываются простые, надёжные и экспрессные методы анализа токсического воздействия поллютантов [3]. На сегодняшний день в интегральной оценке качества окружающей среды широко применяются различные аналитические системы, включающие в себя биологический чувствительный элемент (ферменты, клетки и отдельные организмы), связанный с преобразователем, действие которого заключается в распознавании информации и её передаче. Такие аналитические системы называются биосенсорами [4]. В качестве организмов-сенсоров широко используют простейшие (*Tetrahymena thermophila*), микроводоросли (*Selenastrum capricornutum*) и беспозвоночные (*Daphnia magna*) [5]. Установлено, что с повышением уровня биологической организации тест-объектов усложняется и становится неоднозначной взаимосвязь регистрируемого сигнала с токсическими факторами. Наиболее перспективными являются устройства на основе морских фотобактерий [6–9], за счёт ряда преимуществ, таких как, простота в использовании, высокая скорость анализа, низкая стоимость и чувствительность к широкому спектру токсикантов [10–13].

Практическое применение таких биосенсоров основано на анализе активности их люминесцентной системы, связанной с метаболизмом и клеточным дыханием бактериальной клетки. Оценка изменения люминесценции фотобактерий в ответ на действие внешних факторов является эффективным методом определения общей токсичности *in vitro* широкого спектра веществ. Это даёт возможность использовать биолюминесцентный метод для первичного отбора синтезируемых веществ на определённые виды биологической активности, а также для получения первичной информации об их токсичности [14, 15].

Целью настоящего обзора является анализ современных данных о биосенсорных устройствах на основе морских люминесцентных бактерий.

Морские люминесцентные фотобактерии и механизм их биолюминесценции

Люминесцирующие бактерии представлены четырьмя родами морских микроорганизмов: *Photobacterium*, *Aliivibrio*, *Vibrio* и *Shewanella*, а также наземным родом *Photorhabdus*. Люминесцирующие бактерии находятся в морских экосистемах как во взвешенном состоянии (в виде свободно живущих форм), так и в виде колоний, которые прикрепляются к поверхности других организмов [3].

Уникальной особенностью данных микроорганизмов является их способность к биолюминесценции [16]. Это явление представляет собой ферментативный процесс, сопровождающийся потреблением кислорода и высвобождением квантов света в сине-зелёной части спектра. Ферменты биолюминесцентных реакций называются люциферазами, а участвующие в этих реакциях субстраты в большинстве случаев определяются как «люциферины». Одним из таких субстратов является восстановленный флавиномононуклеотид (FMN), способный принимать и отдавать два атома водорода, вторым – длинноцепочечный алифатический альдегид с 8–16 атомами углерода. В общем виде реакция свечения сводится к окислению восстановленного флавиномононуклеотида (FMNH₂) до FMN с одновременным окислением длинноцепочечного алифатического альдегида (RCHO) до соответствующей жирной кислоты (RCOOH):



Представленные схемы реакций свидетельствуют о сложности процесса бактериального свечения, обеспечиваемого не только люциферазой, но и многокомпонентными ферментными системами, ответственными за субстраты [17]. Следует отметить, что кроме бактериальной люциферазы некоторые люминесцентные бактерии несут дополнительные флуоресцентные белки, способные модулировать цвет световой эмиссии в сторону более низких или высоких длин волн. За биосинтез белков и других веществ, которые необходимы для бактериальной биолюминесценции, ответственны «lux-гены». Их количество превышает два десятка, а перечень названий варьирует от luxA до luxZ. Среди них выделяют структурные или кодирующие белки, которые участвуют в светоизлучении, и регуляторные – ответственные за позитивный и негативный контроль этого процесса. Как правило, они собраны в относительно протяжённые генные последовательности, называемые lux-операми. Экспрессия lux-опера обеспечивается механизмом, действующим по принципу положительной обратной связи и опосредованным накоплением в среде низкомолекулярных веществ – аутоиндукторов (АИ). Последние образуются и выделяются клетками на всех фазах роста, и поэтому их концентрация в среде пропорциональна плотности бактериальной культуры. Достигая некоторого порогового значения, АИ ведут к активизации свечения образующих их бактерий, что оказывается возможным только при высокой плотности бактериальной популяции, вследствие этого описанное явление получило название «quorum sensing» (QS) [18]. Этот эффект связан с процессом коллективной координации экспрессии генов в популяции бактерий, опосредующий специфическое поведение клеток, в частности, их способность к биолюминесценции.

К настоящему времени описано клонирование и экспрессия десяти генов люминесцентной системы светящихся бактерий *Vibrio harveyi*, *Aliivibrio fischeri* и *Photobacterium leiognathi* в плазмидном векторе клеток различных микроорганизмов [19]. При разработке биосенсорных устройств используют как нативные, так и генномодифицированные (с клонированными в них lux-генами). Введение lux-гена позволяет создавать ультрачувствительные, избирательные биосенсоры, иммуносенсоры, сенсоры на основе гибридных нуклеиновых кислот. Например, были сконструированы бактерии, которые под действием

определённых токсикантов начинают светиться ярче [20].

Основные типы биотестов на основе люминесцентных бактерий

Реализован коммерческий выпуск тест-систем: «Microtox» («Azur Environmental», США), «Toxalert» («Merck», США) на основе бактерий *P. phosphoreum*. Наибольшее применение за рубежом нашли биотесты на основе природных морских светящихся бактерий *A. fischeri* «Mutatox» [11] и «Microtox» (США), «LUMIStox» (Великобритания) [21]. В России широко используются технологии экологического контроля с использованием высокочувствительных специализированных микробных сенсоров «Эколюм», разработанные на кафедре микробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, а также в ряде экспериментов применяется ферментативный препарат «Комплект реактивов для биолюминесцентного анализа» (КРАБ), выпускаемый ИБСО РАН [22].

Впервые биосенсор с биологическим чувствительным элементом – клетками бактерий *A. fischeri* и *V. harveyi* был использован для определения токсичности воды, оценка которой производилась по величине ингибирования биолюминесценции – ЭК₅₀ (эффективная концентрация вещества, вызывающая 50%-ное снижение бактериальной биолюминесценции) [3]. В дальнейшем был произведён целый ряд клеточных биосенсоров с целью мониторинга качества питьевых, поверхностных, грунтовых и сточных вод [12, 13, 17–19]. В частности, проведена работа по изучению возможностей биолюминесцентного анализа при тестировании минеральных вод и его адаптации к особенностям исследуемых объектов [20].

Однако биолюминесцентное биотестирование не ограничивается использованием уже разработанных тест-систем. Ведётся постоянная работа по выделению новых культур, использование которых повышало бы уровень тестирования. В работе [23] был выделен из Каспийского моря и идентифицирован штамм *Vibrio* sp. MM1, который обладал высокой чувствительностью к катионам ТМ, включая Cd, Pb(II), Cu(II), Ni(II), Co(II) и Zn. Цитотоксичное влияние было определено для каждого ТМ с помощью ЭК₅₀. Для Zn²⁺ значение ЭК₅₀ составило 0,97 мг/л, для Ni²⁺ 3,00 мг/л, 3,62 мг/л для Cu²⁺, 5,75 мг/л для Pb²⁺, 6,16 мг/л для Co²⁺ и 14,54 мг/л для Cd²⁺, соответственно. Результаты показали, что

данный штамм обладал наибольшей чувствительностью к соединениям цинка и низкой – к соединениям кадмия. Для того, чтобы отнести данный штамм к перспективным для биолюминесцентного анализа, необходимо провести дополнительные исследования для определения чувствительности выделенной бактерии к пестицидам и другим опасным соединениям.

Оптические биосенсоры на основе иммобилизованных живых клеток люминесцентных бактерий

Для создания более удобных, экспрессных и экономичных методов биотестирования создаются биосенсоры путём иммобилизации биологических объектов на различных подложках [24–32]. Этап «узнавания» заключается во взаимодействии чувствительного биологического элемента биосенсора (биодатчика), иммобилизованного на некотором носителе, с анализируемыми веществами в водной или газообразной средах. Передача сигнала осуществляется в результате непосредственного контакта биологического объекта с датчиком, преобразующим его ответную реакцию на то или иное воздействие в количественный сигнал, причём преобразователь должен быть надёжным, избирательным, высокочувствительным в определённом диапазоне концентраций, экспрессным [25]. Иммобилизация биологического чувствительного элемента осуществляется за счёт физической сорбции (специфическая и неспецифическая), ковалентной пришивки, встраивания в мембрану. Обычно иммобилизация за счёт сорбции осуществляется простым погружением подложки как органической (различные полимерные материалы), так и неорганической природы в раствор с биологическим объектом [26, 28]. Десорбцию можно предотвратить за счёт сшивки слоя сорбированных частиц друг с другом. Ковалентные пришивки особенно актуальны при иммобилизации белков, при необходимости их прочной фиксации, однако условия, при которых осуществляется ковалентная пришивка, часто приводят к нарушению структуры белков и потере их активности. Для создания мембран используют полиакриламидный гель, желатин, латекс натурального каучука, поливиниловый спирт, крахмал, целлюлозу, агарозный, сефарозный и альгинатный гели, поливинилхлорид, поливинилацетат, поликарбамоилсульфонат, микропористые фильтры, полимеры из сульфонатстирена, дивинилбензена и других

материалов. Традиционным материалом для изготовления мембран считается поливиниловый спирт [26, 27]. Большую популярность при иммобилизации ферментов и клеток получили альгинаты, способные образовывать гели в присутствии двухвалентных катионов металлов.

Создан оптоволоконный биосенсор для детекции ТМ в воде на основе морских бактерий *A. fischeri*, инкапсулированных в альгинатных микросферах. Cu(II), Cd, Pb(II), Zn, Cr(VI), Co(II), Ni(II), Ag(I) и Fe(II) были выбраны в качестве модельных токсикантов для оценки эффективности микробиосенсора [33]. Биосенсор, на основе иммобилизованных бактерий в микросферах альгината, показал нижний предел обнаружения для Cu(II) (6,40 мкг/л), Cd (1,56 мкг/л), Pb(II) (47 мкг/л), Ag(I) (18 мкг/л), Zn (320 мкг/л), Cr(VI) (1000 мкг/л), Co(II) (1700 мкг/л), Ni(II), (2800 мкг/л) и Fe(III) (3100 мкг/л). Полученные результаты продемонстрировали высокую чувствительность данного биосенсора, в сравнении с ранее созданными бактериальными цельноклеточными сенсорами, полученными иммобилизацией бактерий в гель агара, гель агарозы и биоматрицу мембраны целлюлозы. Бактерии, микрокапсулированные в альгинатном биополимере, сохраняли свою метаболическую активность в течение продолжительного периода, до шести недель без каких-либо заметных изменений в реакции биолюминесценции. Разработанный оптический биосенсор можно использовать для количественной микродетекции ТМ в экологических образцах воды.

Основной целью работы [34] являлось создание простого в использовании биосенсора, предназначенного для мониторинга токсичности *in situ*. Основа биосенсора – бактериальная карта, содержащая биолюминесцентные клетки *A. fischeri* ATCC®49387™, иммобилизованные в матрице агарозы. Сменная карта была конструирована так, чтобы обеспечить максимальный контакт между клетками и образцами поллютантов. После использования бактериальная карта легко заменяется, что значительно упрощает техническое обслуживание. Была проведена предварительная работа по подбору оптимальных параметров (состав питательной среды и концентрация агарозы), обеспечивающих стабильный и высокий сигнал биолюминесценции. Далее было проведено сравнение полученного биосенсорного устройства с традиционным методом, основанным на определении ингибиторного

воздействия проб воды на свечение лиофилизированных бактерий *A. fischeri* (стандарт ISO 11348) в оценке общей токсичности. В качестве модельного токсиканта был использован нафталин. Однако, биосенсор показал более низкую чувствительность к нафталину (эффективная концентрация ЭК₅₀ = 95 мг/л) по сравнению с результатами, полученными с помощью эталонного метода (ЭК₅₀ = 43 мг/л).

Несмотря на существующее разнообразие носителей для фиксирования бактерий, многие из них не могут быть использованы из-за снижения функциональных показателей микроорганизмов. Лишь гели, сформированные на основе сефарозы и поливинилового спирта, позволяли в какой-то мере регистрировать биолюминесценцию клеток [11, 26]. Поэтому ведётся активная работа по увеличению чувствительности биосенсорных устройств, подбираются оптимальные условия иммобилизации с целью усиления сигнала и повышения его стабильности [27], так как трудности регистрации оптического сигнала связаны с его низкой интенсивностью.

Разработан и оптимизирован портативный цельноклеточный биосенсор, состоящий из оптоэлектронного приёмника и сменных гранул, представляющих собой иммобилизованные биолюминесцентные бактерии в матрице альгината кальция [35]. Устройство было протестировано на воздействие различных химических веществ: органических растворителей, ТМ и эндокринных нарушающих соединений. Отмечена высокая чувствительность к цинку и мышьяку. Затем датчик был подвергнут воздействию трёх различных источников воды в окружающей среде (озера Галилеи, Амазонки и реки Лачиш), и он подтвердил свою способность обнаруживать присутствие токсикантов в воде. Простота в использовании прибора, быстрый отклик и высокая чувствительность делают этот прибор перспективным в экомониторинге.

Создан портативный биосенсор для мониторинга токсичности воды, состоящий из иммобилизованных генномодифицированного штамма *E. coli* TV1061, в кальций-альгинатной грануле и фотодетектор CMOS (complementary metal-oxide-semiconductors) [36]. После этапов оптимизации (например, определение влияния концентрации альгината, вязкости и плотности бактерий на реакции датчиков), как CMOS, так и устройства на основе люминометра подвергались воздействию модельных растворов генотоксикантов: гидроксида аммония, формаль-

дегида, солей ртути. Была показана сходная чувствительность к соединениям ртути (до 2,5 мг/л). А по отношению к гидроксиду аммония и формальдегиду CMOS сенсор показал более высокую чувствительность ($1 \cdot 10^{-10}$ и $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л соответственно), чем при измерении с помощью коммерческого люминометра. К недостаткам данного устройства следует отнести длительный и трудоёмкий процесс измерений.

Получены новые знания касательно применимости в аналитических целях иммобилизованных на неорганических носителях (высокодисперсный кремнезём, оксид алюминия, фосфат кальция) фотобактерий Чёрного и Азовского морей, в частности, для количественного определения солей ТМ [37, 38]. Установлено, что полученные формы иммобилизованных светящихся бактерий могут храниться в три раза дольше, чем бактериальная суспензия в жидкой среде, сохраняя при этом высокий уровень биолюминесценции, в пределах 80% от первоначальных значений. Отмечено сходство результатов анализов на основе свободных и связанных бактерий *P. leiognathi* Sh1.

В работе [39] представлена новая модель проточного клеточного биосенсора, сконструированного на основе биолюминесцентного анализа с участием бактерий *A. fischeri*, проводимого в проточной жидкой системе. Использован трубчатый люминесцентный детектор, с модифицированным приёмником с «крышкой» для клеточной бактериальной массы, конструкция которого позволяет в светоизоляционном режиме соединить клеточный поток, поступающий для анализа, с отработанной биомассой посредством инкубационного капилляра. Воздухоразделительный способ поступления бактериальной суспензии обеспечивал раздельное введение различных образцов для анализа. Хотя результаты эксперимента с производными фенола показали двукратное снижение скорости ингибирования свечения в сравнении с данными DINENISO 11348-2 микропланшетного анализа, следует отметить возможность обеспечения высокой скорости детекции данного биосенсора.

Сконструирован проточный биосенсор для контроля качества воды на основе матрицы из пористого Al₂O₃ (ПАО) с иммобилизованными в нём рекомбинантными бактериями [40]. В основе проточной ячейки лежит одноразовый электронный чип из пористого оксида алюминия, который удерживает сенсорные микроорганизмы на своей жёсткой плоской

поверхности. Высокая пористость носителя позволяет обеспечить беспрепятственный доступ к бактериям как необходимых питательных веществ, так и анализируемых токсикантов. Показано, что сенсорные характеристики иммобилизованных бактерий сохранялись в таком биосенсоре в течение 12 недель.

Наряду с твёрдофазными методами иммобилизации бактерий в биочипах на твёрдых подложках, в которых микроконтактное формирование ячеек возможно на плоскости, ведутся работы по разработке и внедрению микрожидкостных (microfluidic) систем, которые не имеют ограничений в отношении количества иммобилизованных клеток. В работе [41] представлен микрожидкостной биочип на основе водорастворимого светочувствительного полимера поливинилового спирта – стирилпиридиума, способного образовать трёхмерную матрицу под действием УФ-излучения. Данное устройство сконструировано с использованием Bio-MEMS (bio micro-electromechanical system) технологий, в котором биодатчиком служили рекомбинантные штаммы бактерий *E. coli*, используемые в качестве индикаторов токсичности.

Использование биосенсора в течение длительного времени приводит к увеличению биомассы иммобилизованных бактерий и, следовательно, влияет на функционирование биосенсора. В работе [42] было смоделировано функционирование биосенсора для пролонгированного обнаружения кадмия и изучена динамика биолюминесцентной реакции генномодифицированных бактерий (*E. coli* DH1, содержащих luxCDABE гены) – биорепортёров внутри агарозной матрицы. Было проведено математическое моделирование профиля биомассы путём соединения уравнения диффузии и потребления питательных веществ бактериями. Теоретические расчёты были подтверждены экспериментально, где было доказано, что рост бактерий, обусловленный как диффузией, так и потреблением питательных веществ, коррелирует с экспериментальными данными. Таким образом, наблюдается высокая бактериальная плотность в первом миллиметре матрицы. Математические расчёты прироста биомассы необходимы для понимания стабильности свечения бактерий внутри геля и показывают, что для поддержания значительного уровня биолюминесценции требуется концентрация кислорода, превышающая или равная 22%. Непрерывное поступление питательных веществ в процессе обнаружения кадмия приводит к образованию

биоплёнки, которая уменьшает диффузию питательных веществ и ограничивает поступление кислорода из первого слоя агарозы (1 мм) и влияет на интенсивность биолюминесцентной реакции. Предложенная численная модель роста и биолюминесценции может быть экстраполирована на другие металлические индукторы, биолюминесцентные бактерии и матрицы иммобилизации.

Биосенсоры на основе люминесцирующих бактерий становятся чрезвычайно важными биоаналитическими приборами в различных областях экологии, медицины и фармации и являются потенциальными кандидатами для мониторинга состояния окружающей среды в режиме on-line [43–46].

Перспективы развития биосенсоров на основе бактериальной биолюминесценции позволяют прогнозировать их успешное внедрение в практику экологических, производственных, санитарно-гигиенических и научно-исследовательских лабораторий для определения токсичности различного рода веществ.

Заключение

Анализ литературных данных позволяет заключить, что биотесты на основе бактериальной люминесценции имеют ряд преимуществ по параметрам экономичности, скорости, простоте процедуры анализа и диапазону анализируемых веществ. Эти преимущества стимулируют дальнейшие разработки и совершенствования биосенсорных устройств. Ведётся поиск оптимального носителя, подбираются условия иммобилизации бактерий с целью увеличения интенсивности и стабильности люминесценции; проводятся работы по повышению чувствительности и селективности тест-культур. Экспериментируют в направлении дизайна светочувствительных элементов, миниатюризации метода тестирования. Данные факты свидетельствуют о перспективности работ по созданию биосенсоров на основе бактериальной биолюминесценции для биомониторинга широкого спектра веществ.

Работа выполнена при поддержке Программы развития Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» на 2015–2024 годы в рамках реализации проекта И/2018/16 «Лаборатория биолюминолюминесцентных аналитических технологий (Л-БАТ)» и гранта № ВГ19/2018.

References

1. Boehler S., Strecker R., Heinrich P., Prochazka E., Northcott G.L., Ataria J.M. Assessment of urban stream sediment pollutants entering estuaries using chemical analysis and multiple bioassays to characterise biological activities // *Sci. Total Environ.* 2017. V. 593. P. 498–507. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.03.209
2. De Castro-Català N., Kuzmanovic M., Roig N., Sierra J., Ginebreda A., Barceló D. Ecotoxicity of sediments in rivers: invertebrate community, toxicity bioassays and the toxic unit approach as complementary assessment tools // *Sci. Total Environ.* 2016. V. 540. P. 297–306. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.06.071
3. Deryabin D.G. Bacterial bioluminescence: fundamental and applied aspects. Moskva: Nauka, 2009. 248 p. (in Russian).
4. Wan N.A., Wan J., Ling S.W. Exploring the potential of whole cell biosensor: a review in environmental applications // *International Journal of Chemical, Environmental & Biological Sciences (IJCEBS)*. 2014. V. 2. P. 52–56. [Internet resource] <http://www.isaet.org/images/extraimages/K314057.pdf> (Accessed: 20.04.20).
5. Hassan S.H.A., Van Ginkel S.W., Hussein M.A.M., Abskharon R., Sang-Eun O. Toxicity assessment using different bioassays and microbial biosensors // *Environment International*. 2016. V. 201. No. 2. P. 106–118. doi: 10.1016/j.envint.2016.03.003
6. Bolelli L., Ferri E.N., Girotti S. The management and exploitation of naturally light-emitting bacteria as a flexible analytical tool: A tutorial // *Analytica Chimica Acta*. 2016. V. 934. P. 22–35. doi: 10.1016/j.aca.2016.05.038
7. Sharifian S., Homaei A., Hemmati R., Khajeh Kh. Light emission miracle in the sea and preminent applications of bioluminescence in recent new biotechnology // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2017. V. 172. P. 115–128. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.05.021
8. Girotti S., Ferri E.N., Fumo M.G., Maiolini E. Monitoring of environmental pollutants by bioluminescent bacteria // *Ibid.* 2008. V. 608. P. 2–29. doi: 10.1016/j.aca.2007.12.008
9. Tsybulskii I.E., Sazykina M.A. New biosensors for assessment of environmental toxicity based on marine luminescent bacteria // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2010. V. 46. No. 5. P. 505–510. doi: 10.1134/S0003683810050078
10. Ron E.Z. Biosensing environmental pollution // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2007. V. 18. No. 3. P. 252–256. doi: 10.1016/j.copbio.2007.05.005
11. Ismailov A D., Aleskerova L.E. Photobiosensors containing luminescent bacteria review // *Biochemistry (Moscow)*. 2015. V. 80. No. 6. P. 733–744. doi: 10.1134/S0006297915060085
12. Eltzov E., Marks R.S. Whole-cell aquatic biosensors // *Anal Bioanal Chem.* 2011. V. 400. No. 4. P. 895–913. doi: 10.1007/s00216-010-4084-y
13. Woutersen M., Van der Gaag B., Boakye A.A., Marks R.S., Wagenvoort A.J., Ketelaars H.A.M., Brouwer B., Heringa M.B. Development and validation of an on-line water toxicity sensor with immobilized luminescent bacteria for on-line surface water monitoring // *Sensors*. 2017. V. 17. No. 11. P. 2682. doi: 10.3390/s17112682
14. Parvez S., Venkataraman C., Mukherji S. Toxicity assessment of organic pollutants: reliability of bioluminescence inhibition assay and univariate QSAR models using freshly prepared *Vibrio fischeri* // *Toxicol. in vitro*. 2008. V. 22. No. 7. P. 1806–1813. doi: 10.1016/j.tiv.2008.07.011
15. Ma X.Y., Wang X.C., Ngo H.H., Guo W., Wu M.N., Wang N. Bioassay based luminescent bacteria: Interferences, improvements, and applications. Review // *Science of the Total Environment*. 2014. V. 468–469. P. 1–11. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.08.028
16. Kahlke T., Umbers K.D.L. Bioluminescence // *Current Biology*. 2016. V. 26. No. 8. P. 313–314. doi: 10.1016/j.cub.2016.01.007
17. Abbas M., Adil M., Ehtisham-Ul-Haque S., Munir B., Yameen M., Ghaffar A., Shar G.A., Tahir M. A., Iqbal M. *Vibrio fischeri* bioluminescence inhibition assay for ecotoxicity assessment: A review // *Science of the Total Environment*. 2018. V. 626. P. 1295–1309. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.066
18. Mangwani N., Dash H.R., Chauhan A., Das S. Bacterial quorum sensing: functional features and potential applications in biotechnology // *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2012. No. 22. P. 215–227. doi: 10.1159/000341847
19. Deryabin D.G., Aleshina E.S. Effect of salts on luminescence of natural and recombinant luminescent bacterial biosensors // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2008. V. 44. No. 3. P. 324–329. doi: 10.1134/S0003683808030113
20. Deryabin D.G., Aleshina E.S. Natural and recombinant luminescent microorganisms in biotoxicity testing of mineral waters // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2008. V. 44. No. 4. P. 378–381. doi: 10.1134/S0003683808040078
21. Kokkali V., Delft W. Overview of commercially available bioassays for assessing chemical toxicity in aqueous samples // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2014. V. 61. P. 133–155. doi: 10.1016/j.trac.2014.08.001
22. Danilov V.S., Zarubina A.P., Iroshnikov G.E. Sensor bioluminescent system based on lux-operons of different types of luminescent bacteria // *Vestnik MGU seriya Biologiya*. 2002. No. 3. P. 20–24 (in Russian).
23. Mohseni M., Abbaszadeh J., Maghool Sh., Chaichi M. Heavy metals detection using biosensor cells of a novel marine luminescent bacterium *Vibrio* sp. MM1 isolated from the Caspian Sea // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2018. V. 149. P. 555–560. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.11.002
24. Mitchell R.J., Gu M.B. Characterization and optimization of two methods in the immobilization of 12 bioluminescent strains // *Biosens. Bioelectr.* 2006. V. 22. P. 192–199. doi: 10.1016/j.bios.2005.12.019

25. Esimbekova E.N., Kratasyuk V.A., Torgashina I.G. Disk-shaped immobilized multicomponent reagent for bioluminescent analyses: Correlation between activity and composition // *Enzyme and Microbial Technology*. 2007. V. 40. P. 343–346. doi: 10.1016/j.enzmictec.2006.05.003
26. Efremenko E.N., Senko O.V., Aleskerova L.E., Alenina K.A., Mazhul M.M., Ismailov A.D. Biosensors based on the luminous bacteria *Photobacterium phosphoreum* immobilized in polyvinyl alcohol cryogel for the monitoring of ecotoxicants // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2014. V. 50. No. 5. P. 477–482. doi: 10.1134/S0003683814050032
27. Aleskerova L.E., Alenina K.A., Efremenko E.N., Ismailov A.D. The factor stabilizing the bioluminescence of PVA-immobilized photobacteria // *Microbiology*. 2017. V. 86. No. 2. P. 218–224. doi: 10.1134/S0026261717020047
28. Michelini E., Roda A. Staying alive: new perspectives on cell immobilization for biosensing purposes // *Anal. Bioanal. Chem.* 2012. V. 402. P. 1785–1789. doi: 10.1007/s00216-011-5364-x
29. Ivask A. Fiber-optic bacterial biosensors and their application for the analysis of bioavailable Hg and As in soils and sediments from Aznalcollar mining area in Spain // *Biosensors and Bioelectronics*. 2007. V. 22. P. 1396–1402. doi: 10.1016/j.bios.2006.06.019
30. Ben-Yoav H., Elad T., Shlomovits O., Belkin S., Shacham-Diamand Y. Optical modeling of bioluminescence in whole cell biosensors // *Biosensors and Bioelectronics*. 2009. V. 24. No. 7. P. 1969–1973. doi: 10.1016/j.bios.2008.10.035
31. Sakaguchi T., Morioka Y., Yamasaki M., Iwanaga J., Beppu K., Maeda H., Morita Y., Tamiya E. Rapid and onsite BOD sensing system using luminous bacterial cells-immobilized chip // *Biosensors and Bioelectronics*. 2007. V. 22. No. 7. P. 1345–1350. doi: 10.1016/j.bios.2006.06.008
32. Hirmann D., Loibner A.P., Braun R., Szolar O.H. Applicability of the bioluminescence inhibition test in the 96-well microplate format for PAH-solutions and elutriates of PAH-contaminated soils // *Chemosphere*. 2007. V. 67. P. 1236–1242. doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.10.047
33. Futra D., Heng L.Y., Surif S., Ahmad A., Ling T.L. Microencapsulated *Aliivibrio fischeri* in alginate microspheres for monitoring heavy metal toxicity in environmental waters // *Sensors*. 2014. V. 14. No. 12. P. 23248–23268. doi: 10.3390/s141223248
34. Jouanneau S., Durand-Thouand M.J., Thouand G. Design of a toxicity biosensor based on *Aliivibrio fischeri* entrapped in a disposable card // *Environ Sci Pollut Res Int*. 2016. V. 23. No. 5. P. 4340–4345. doi: 10.1007/s11356-015-4942-4
35. Eltzov E., Yehuda A., Marks R.S. Creation of a new portable biosensor for water toxicity determination // *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2015. V. 221. P. 1044–1054. doi: 10.1016/j.snb.2015.06.153
36. Axelroda T., Eltzov E., Marks R.S. Bioluminescent bioreporter pad biosensor for monitoring water toxicity // *Talanta*. 2016. V. 149. P. 290–297. doi: 10.1016/j.talanta.2015.11.067
37. Morozkina E.V., Shemshedinova E.Sh., Abduramanova E.R., Katsev A.M. High dispersed silica applicability as a carrier of the biosensor sensitive element // *Uchenyye zapiski Krymskogo federalnogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo, seriya “Biologiya, khimiya”*. 2018. V. 4. No. 3. P. 208–218. [Internet resource] <http://sn-biolchem.cfuv.ru/wp-content/uploads/2018/10/020morozkina.pdf> (Accessed: 15.04.20) (in Russian).
38. Abduramanova E.R., Naumova N.V., Derzyan L.M., Katsev A.M. Functional characteristics of free and immobilized photobacterial of Black and Azov seas // *Uchenyye zapiski Krymskogo federalnogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo, seriya “Biologiya, khimiya”*. 2018. V. 4. No. 1. P. 179–187. [Internet resource] <http://sn-biolchem.cfuv.ru/wp-content/uploads/2018/04/019abduramanova.pdf> (Accessed: 15.04.20) (in Russian).
39. Stolper P., Fabel S., Weller M.G., Knopp D., Niessner R. Whole-cell luminescence-based flow-through biodetector for toxicity testing // *Anal Bioanal Chem.* 2008. V. 390. P. 1181–1187. doi: 10.1007/s00216-007-1770-5
40. Yagur-Krolla Sh., Schreuderb E., Inghamc C.J., Heidemanb R., Rosena R., Belkina Sh. A miniature porous aluminum oxide-based flow-cell for online water quality monitoring using bacterial sensor cells // *Biosensors and Bioelectronics*. 2015. V. 64. P. 625–632. doi: 10.1016/j.bios.2014.09.076
41. Yoo S.K., Lee J.H., Yun S.-S. Fabrication of a bio-MEMS based cell-chip for toxicity monitoring // *Biosensors and Bioelectronics*. 2007. V. 22. P. 1586–1592. doi: 10.1016/j.bios.2006.07.014
42. Affi M., Sollicc C., Legentilhomme P., Comiti J., Legrand J., Jouanneau S., Thouand G. Numerical modeling of the dynamic response of a bioluminescent bacterial biosensor // *Anal Bioanal Chem.* 2016. V. 408. No. 30. P. 8761–8770. doi: 10.1007/s00216-016-9490-3
43. Erzinger G.S., Schmoeller F., Pinto L.H., Américo L., Hemmersbach R., Hauslage J., Häder D-P. 12-Bioluminescence systems in environmental biosensors // *Bioassays Advanced Methods and Applications*. 2018. P. 241–262. doi: 10.1016/B978-0-12-811861-0.00012-7
44. Polakovič M., Švitel J., Bučko M., Filip J., Neděla V., Ansorge-Schumacher M.B., Gemeine P. Progress in biocatalysis with immobilized viable whole cells: systems development, reaction engineering and applications // *Biotechnology Letters*. 2017. V. 39. No. 5. P. 667–683. doi: 10.1007/s10529-017-2300-y
45. Jouanneau S., Durand M.J., Thouand G. Online detection of metals in environmental samples: Comparing two concepts of bioluminescent bacterial biosensors // *Environ. Sci. Technol.* 2012. V. 46. P. 11979–11987. doi: 10.1021/es3024918
46. Leitgib L., Kalman J., Gruiz K. Comparison of bioassays by testing whole soil and their water extract from contaminated sites // *Chemosphere*. 2007. V. 66. P. 428–434. doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.06.024

Применение методов обработки и анализа космических снимков для изучения эвтрофированных водоёмов (обзор)

© 2020. Т. И. Кутявина¹, к. б. н., с. н. с., Г. Я. Кантор^{1,2}, к. т. н., н. с.,
Т. Я. Ашихмина^{1,2}, д. т. н., профессор, г. н. с., зав. лабораторией,
В. П. Савиных^{1,3}, д. т. н., профессор, академик РАН,

¹Вятский государственный университет,

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

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

ул. Коммунистическая, д. 28,

³Московский государственный университет геодезии и картографии,
105064, Россия, г. Москва, Гороховский переулок, д. 4,

e-mail: kutyavinati@gmail.com

В обзоре рассмотрены существующие подходы и алгоритмы, применяемые для оценки качества воды внутренних водоёмов в различных климатических зонах, приведены формулы для расчёта наиболее часто используемых спектральных индексов. Показано, что оптические свойства вод различаются в зависимости от трофического статуса водоёма, от сезона года, физико-химического состава воды, видового состава фитопланктона и других факторов.

В настоящее время для мониторинга состояния водных объектов со сложными оптическими условиями применяются как традиционные методы, так и новые, усовершенствованные алгоритмы. Используются различные методы атмосферных коррекций и откалиброванные спектральные индексы, разрабатываются классификации водоёмов по наличию в них частиц фитопланктона, взвешенных частиц органического и неорганического происхождения, окрашенных растворённых органических веществ.

Ключевые слова: внутренние воды, эвтрофирование, трофический статус водоёма, фитопланктон, мутность, прозрачность, дистанционное зондирование Земли.

Application of methods for processing and analysis of satellite images for the study of eutrophied reservoirs (review)

© 2020. T. I. Kutyavina¹ ORCID: 0000-0001-7957-0636, G. Ya. Kantor^{1,2} ORCID: 0000-0002-6462-6702,
T. Ya. Ashikhmina^{1,2} ORCID: 0000-0003-4919-0047, V. P. Savinykh^{1,3} ORCID: 0000-0002-3259-6721

¹Vyatka State University,

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

²Institute of Biology of Komi Scientific Centre
of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,
28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,

³Moscow State University of Geodesy and Cartography,
4, Gorokhovskiy Pereulok, Moscow, Russia, 105064,

e-mail: kutyavinati@gmail.com

The review discusses the existing approaches and algorithms used to assess the water quality of inland water bodies in various climatic zones, provides formulas for calculating the most commonly used spectral indices (Chl-*a*, MCI, NDVI, Turb). The possibilities of using data of remote sensing of the Earth from various sensors (Modis-Terra, Modis-Aqua, Landsat 5, Landsat 7, Landsat 8, Sentinel-2, Sentinel-3) to study the quality of water in inland waters are described. Many researchers note the great potential of the Sentinel-3 satellite for studying inland waters with complex optical conditions (high turbidity, color, colored dissolved organic matter (CDOM) and total suspended matter). It is shown that the optical properties of inland waters differ depending on the trophic status of the reservoir, on the season of the year, the physicochemical composition of water, the species composition of phytoplankton and other factors. Currently, both traditional methods and new improved algorithms are used to monitor the state of water bodies with complex opti-

cal conditions. Various methods of atmospheric corrections and calibrated spectral indices are used, classifications of reservoirs by the presence of phytoplankton particles, suspended particles of organic and inorganic matter, and CDOM are developed. It was noted that the concentration of chlorophyll *a* and the turbidity of the water are the most important biophysical parameters used to assess the quality of water and determine the ecological status of inland waters.

Keywords: inland waters, eutrophication, trophic status of a reservoir, phytoplankton, turbidity, transparency, remote sensing of the Earth.

Проблема эвтрофирования является актуальной для многих пресноводных и морских экосистем [1–3]. С 1970-х гг. и по настоящее время разрабатываются различные модели развития процессов эвтрофикации в водных объектах [4]. Основные переменные в этих моделях, требующие получения фактических данных – обилие фитопланктона, или его отдельных составляющих, концентрации биогенных элементов (азота и фосфора) и растворённого кислорода. В относительно новых моделях большое значение уделено макрофитам и их возможной конкуренции с фитопланктоном. Важнейшую роль при изучении химического состава воды, видового состава фитопланктона и высшей водной растительности играют полевые исследования. В настоящее время они всё чаще дополняются методами дистанционного зондирования Земли (ДЗЗ) [5]. Первые подобные работы за рубежом начали проводить в 1990-х [6], а в России – в 2000-х гг., при этом исследования чаще проводились для морских акваторий [7, 8], реже – для крупных внутренних водоёмов [9]. В последнее десятилетие увеличилось количество работ с применением комплексного подхода к изучению эвтрофикации, включающего полевые исследования в сочетании с анализом спутниковых изображений водных объектов и численным моделированием развития процессов эвтрофирования [4, 10]. Появились работы по изучению процессов эвтрофикации методами ДЗЗ в малых по площади зеркалах озёрах, водоёмах гидроэлектростанций, водохранилищах.

Цель настоящей работы – проанализировать современные методы оценки качества воды в эвтрофированных внутренних водоёмах с использованием данных дистанционного зондирования Земли, оценить их достоинства и недостатки.

Дистанционное обнаружение пигментов фитопланктона

При эвтрофикации в водных объектах часто наблюдается массовое развитие фитопланктона, или «цветение» воды. Это приводит к снижению рыбохозяйственного и рекреа-

ционного потенциалов водоёмов, оказывает негативное влияние на системы очистки воды из водных объектов для питьевого водоснабжения, может приводить к аллергическим реакциям у животных и человека. В связи с этим, дистанционное обнаружение «цветения» водоёмов имеет важное практическое значение. Идентификация водной растительности с бортов аэрокосмических аппаратов возможна на основе анализа спектров отражения, характеризующихся существенными отличиями при отражении волн излучения различной длины. К наиболее разработанным техникам работы со спектральной информацией относятся так называемые «индексные» изображения. На основе комбинации значений яркости в определённых каналах, информативных для выделения исследуемого объекта, и расчёта по этим значениям «спектрального индекса» объекта строится изображение, соответствующее значению индекса в каждом пикселе, что и позволяет выделить исследуемый объект или оценить его состояние [11]. Для обнаружения и оценки развития фитопланктона наиболее часто применяются различные варианты индекса хлорофилла *a* (Chl-*a*) [9, 12–14], цианобактериальный индекс CI [15] и др. (табл.).

В работе [58] для обнаружения «цветения» цианобактерий (ЦБ) в оз. Севан были использованы космические снимки со спутника Sentinel-2. Авторы использовали комбинацию каналов В7-В5-В3 после атмосферной коррекции снимков при помощи модуля SCP программы Quantum GIS. Предложенная комбинация каналов позволяет получить изображение, близкое к естественным цветам, отделять на нём мелководья от прибрежной полосы и выделять участки «цветения».

Результаты исследования динамики пространственно-временного распределения пятен «цветения» на Рыбинском водохранилище на основе спутниковых данных, полученных 5 сенсорами (TM Landsat 5, ETM+ Landsat 7, OLI Landsat 8, MERIS Envisat и ASAR Envisat) представлены в работе [5]. По мнению авторов, для качественной оценки интенсивности «цветения» ЦБ Рыбинского водохранилища наиболее подходят данные сенсора OLI Landsat 8 (4-3-2 каналы).

Таблица / Table

Спектральные индексы, применяемые для изучения внутренних водоёмов / Spectral indices used to study inland waters

Обозначение индекса Index designation	Назначение Function	Формула для расчёта Formula for calculation	Использован в работе Quoting at work	Сенсор, космический аппарат Sensor, spacecraft	Первоисточник Original references
chl_ <i>a</i> (<i>MERIS</i>)	определение хлорофилла <i>a</i> (Chl- <i>a</i>) при наличии взвешенных веществ, окрашенного растворённого органического вещества	$\frac{R_{490}^{-1}}{R_{560}^{-1}}$, здесь и далее <i>R</i> – отражательная способность	[12]	MERIS	[16]
		$R_{665}^{-1} / R_{708}^{-1}$	[17]		
	определение Chl- <i>a</i> в мутных водах	$R_{753} \cdot (R_{665}^{-1} - R_{708}^{-1})$	[12]		[12]
	определение Chl- <i>a</i> , учитываются эффекты обратного рассеяния и эффекты поглощения из-за пигмента фикоцианина	$\left\{ \frac{R_{708}}{R_{665}} \cdot [a_{w708} + b_b] \right\} - b_b - a_{w665} \cdot \delta^{-1}$, где <i>a_w</i> – эффекты поглощения от чистой воды, <i>b_b</i> – обратное рассеяние от взвешенных веществ, δ^{-1} – коэффициент, учитывающий мешающее влияние фикоцианина	[18]		[18]
	определение Chl- <i>a</i> , не учитываются поглощение вспомогательными пигментами	$\left\{ \frac{R_{708} + b_b}{R_{665} + b_b} \cdot [a_{w708} + b_b] \right\} - b_b - a_{w665}$	[19]		[19]
Chl- <i>a</i>	определение Chl- <i>a</i>	$(R_{\lambda_3} - R_{\lambda_1}) \frac{\lambda_2 - \lambda_1}{\lambda_3 - \lambda_1}$, где λ_1 и λ_3 – значения излучения или отражения, используемые для создания базовой линии λ_2	[13, 20, 21]	MERIS, Sentinel-3 OLCI	[22–25]
		$0,0023 \cdot B03 - 0,0084 \cdot B04 + 0,010 \cdot B05 - - - 0,0036 \cdot B06 + 0,903$, где B03–B06 – номера каналов	[26]		Sentinel-2A
TBDO (triband model of Dall’Olimo et al.)	определение Chl- <i>a</i> в мутных продуктивных водах	$R_{740} \cdot \left(\frac{1}{R_{665}} - \frac{1}{R_{705}} \right)$	[27]	Sentinel-2 (A, B)	[28–30]

C_a	определение Chl- <i>a</i>	$10,0^{(0,368-2,814R_{4E}+1,456R_{4E}^2+0,768R_{4E}^3-1,292R_{4E}^4)}$ где $R_{4E} = \log_{10}(R_{560}^{443} / R_{560}^{490} > R_{560}^{510} > R_{560}^{443})$	[34]	MERIS	[31]
Chl- <i>a</i>		$(35,75 \cdot \frac{R_{709}}{R_{665}} - 19,3)^{1,124}$ $R_{709} / R_{665} \approx [a_{ph}(665) + a_w(665)] / a_w(709)$ где a_{ph} – коэффициент поглощения фитопланктона, a_w – коэффициент поглощения чистой воды	[32]		[32]
[Chl- <i>a</i>]		$223,86 \cdot [R_{b,10} / R_{b,7} - R_{b,10} / R_{b,9}] + 23,95$ где b_7, b_9 и b_{10} обозначают спектральные каналы 7 (660–670 нм), 9 (703,75–713,75 нм) и 10 (750–757,5 нм)	[33]		[33]
Maximum chlorophyll index (MCI)	для последующего выбора алгоритма оценки Chl- <i>a</i>	$R_{709} - [R_{665} + (R_{754} - R_{665}) \cdot \frac{709 - 665}{754 - 665}]$	[20]		[20]
–	определение Chl- <i>a</i> $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ и λ_4 соответствуют каналам B3 (560 нм), B4 (665 нм), B5 (705 нм) и B6 (740 нм), соответственно. λ_x и λ_y относятся к комбинациям полос «B4 и B3», «B5 и B3», «B5 и B4», «B6 и B3» и «B6 и B4»	$\frac{R_{\lambda_2}}{R_{\lambda_1}}, \frac{R_{\lambda_3}}{R_{\lambda_1}}, \frac{R_{\lambda_4}}{R_{\lambda_1}}, \frac{R_{\lambda_4}}{R_{\lambda_2}}$ $\left(\left(35,75 \cdot \frac{R_{\lambda_3}}{R_{\lambda_2}} - 19,3 \right)^{1,124} \right)$ $\left(\left(\frac{1}{R_{\lambda_2}} - \frac{1}{R_{\lambda_3}} \right) \cdot R_{\lambda_4} \right)$	[35]	MSI/ Sentinel-2	[35]
Normalized difference chlorophyll index (NDCI)		$\frac{R_{\lambda_x} - R_{\lambda_y}}{R_{\lambda_x} + R_{\lambda_y}}$	[36]		[36]
OC2_490	определение Chl- <i>a</i>	R_{490} / R_{555}	[37]		[37]
–	определение фикоцианина	R_{740} / R_{665}	[38]		[38]
NDVI	определение водной растительности	$\frac{NIR - RED}{NIR + RED}$	[39]	Sentinel-2 Sentinel-2 Sentinel-2, Landsat 5	[39]
			[40, 41]		[42]

Окончание таблицы

Обозначение индекса Index designation	Назначение Function	Формула для расчёта Formula for calculation	Использован в работе Quoting at work	Сенсор, космический аппарат Sensor, spacecraft	Первоисточник Original references
Modified Chlorophyll Absorption Ratio Index (MCARI ₇₀₅)	определение площади листьев макрофитов	$[(\text{Re}f_{740\text{nm}} - \text{Re}f_{705\text{nm}}) - 0,2(\text{Re}f_{740\text{nm}} - \text{Re}f_{560\text{nm}})] \frac{\text{Re}f_{740\text{nm}}}{\text{Re}f_{705\text{nm}}}$ <p>где $\text{Re}f_{560\text{nm}}$, $\text{Re}f_{705\text{nm}}$ и $\text{Re}f_{740\text{nm}}$ – атмосферно скорректированные коэффициенты отражения в полосах 3, 5 и 6 соответственно</p>	[43]	Sentinel-2A	[44]
Leaf Area Index (LAI)		$0,640(\pm 0,062) \cdot \text{MCARI}_{705} + 0,512(\pm 0,052)$ range (0,5 – 2,0 m ² m ⁻²)			[48]
Turb	определение мутности воды	$\frac{R_{865}}{R_{850} / R_{550}}$ $R_{810} - [R_{770} + R_{840}] / 2$	[46]	Sentinel-2 (A, B)	[47, 48] [49, 50]
Turbidez (NTU)		$2,0846 (R_{490} / R_{560})^{-3,2626}$	[52]		[51]
–		R_{705}	[53]		[52]
–	определение прозрачности воды	R_{560} / R_{704}	[54]		[53]
–	соотношение между Chl- <i>a</i> и неорганическими взвешенными веществами в воде (ISM) в воде	R_{700} / R_{675}	[57]		[55, 56] [57]

Максимальный индекс концентрации хлорофилла (MCI), впервые использованный для анализа данных с MERIS [20], и созданный на его основе набор количественных индексов для определения интенсивности и продолжительности «цветения» водорослей были применены к датчику OLCI на спутнике Sentinel-3 (табл.). В настоящее время они регулярно используются Министерством окружающей среды Канады для полностью автоматизированного мониторинга «цветения» нескольких мутных эвтрофных озёр, в частности для оз. Виннипег [21]. Расчёт MCI для оз. Виннипег в работе [21] выполнен по данным, полученным с MERIS, с использованием алгоритма red/near-infrared (red-NIR), который успешно применяется для мутных эвтрофных вод и считается достаточно независимым от влияния большого количества растворённых органических веществ. Этот же алгоритм применяется для обработки данных со спутника Sentinel-2, например, в работе [59]. Для обработки снимков с MERIS авторы использовали свободно доступный набор инструментов BEAM 4.6. Расчёт MCI проводили с применением расширения модуля FLH/MCI Processor 1.6.100, используя комбинации каналов B08-B09-B10. В то же время, на оз. Куммеров в Германии результаты оценки содержания Chl-*a* по данным с MERIS, полученным с применением свободно доступного алгоритма FUB/WeW, оказались в среднем на 20% выше, чем измерения *in situ* [60]. В работе [13] отмечается, что данные MERIS позволяют получать адекватные оценки концентрации Chl-*a*, но в большинстве случаев необходима атмосферная коррекция исходных снимков. Авторами этой работы показаны результаты применения четырёх моделей атмосферной коррекции (6SV1, iCOR, C2RCC и POLYMER) для четырёх внутренних малых водоёмов в Африке. Наиболее перспективной моделью оказалась 6SV1, а для оценки содержания Chl-*a* в олиготрофных и слабо мезотрофных водах подходит модель C2RCC.

Содержание Chl-*a* в водохранилище Биль-Эль-Уидан (Марокко), рассчитанное по данным спутника Sentinel-2 с использованием комбинации каналов B03-B04-B05-B06 (табл.) в 2017 г., тесно коррелировало с данными *in situ* ($R^2 = 0,78$) [26].

Возможности использования снимков со спутников Sentinel-2 и Sentinel-3 для определения концентрации Chl-*a* в олиготрофном и эвтрофном озёрах в Италии представлены в работе [61]. Атмосферную коррекцию снимков авторы работы осуществ-

ляли с использованием кода 6SV через интерфейс REMOTE SENSING LETTERS 979, для построения карт концентраций Chl-*a* использовали инструмент BOMBER, описанный в работе [62]. Авторы отмечают, что, несмотря на сопоставимость результатов, полученных с разных спутников, наиболее близкие значения к *in situ* были получены с помощью прибора MultiSpectral Instrument (MSI), установленного на Sentinel-2.

Согласно работе [27], полосы датчика OLCI Sentinel-3 с длинами волн 665, 674 и 681 нм имеют большой потенциал для точной оценки содержания Chl-*a* в эвтрофных водах. В работе [63] отмечено, что индекс концентрации Chl-*a*, рассчитанный по данным Sentinel-3 для оз. Балатон (Венгрия), показал завышенные результаты по сравнению с полевыми данными. Авторы пишут, что при сильных ветрах для озера характерна высокая мутность воды, и повышенные значения индекса связывают с высокой чувствительностью аппаратуры Sentinel-3A OLCI Full Resolution Level-2 к общему взвешенному веществу в воде.

О влиянии окрашенных взвешенных и растворённых в воде органических веществ на определение Chl-*a* во внутренних водоёмах говорится в работе [64]. Авторы предложили новый квазианалитический алгоритм (QA_{OMW}) для определения специфических оптических свойств вод малопродуктивных внутренних водоёмов, в которых преобладает не фитопланктон, а окрашенные растворённые органические вещества (CDOM) и неорганические частицы (non-algal particles (NAP)). Он заключается в определении коэффициента поглощения фитопланктона по разнице оптических плотностей всех взвешенных в воде частиц, частиц CDOM и детрита. Предложенный QA_{OMW} также отличается от использованных ранее для изучения оптических свойств внутренних водоёмов выбором эталонной длины волны ($\lambda = 709$ нм).

В работе [34], выполненной на примере нескольких азиатских озёр, для уменьшения влияния взвешенных веществ, рекомендуется применять гибридный метод оценки концентраций Chl-*a*. Метод включает в себя 3 алгоритма (табл.), предложенных ранее для оценки концентрации Chl-*a* во внутренних водоёмах с разной мутностью и трофическим статусом (от олиго- до гипертрофных): сине-зелёный алгоритм OC4Ev4 [31], показавший хорошие результаты в водоёмах с низкими значениями мутности и содержанием Chl-*a* до 10 мг/м³; двухполосный алгоритм

red-NIR RN2Gi10 [32], наиболее подходящий для водоёмов с умеренным содержанием Chl-*a* (10–25 мг/м³) и алгоритм красного диапазона NIR на основе трёхполосных индексов SAMO-LUT [33] (при содержании Chl-*a* более 25 мг/м³). Выбор одного из перечисленных алгоритмов основан на предварительном расчёте МСІ для объекта изучения (табл.). Авторы утверждают, что предложенный гибридный алгоритм имеет потенциал для использования в качестве оперативного инструмента для мониторинга Chl-*a* в водах с широко варьирующимися трофическими условиями без необходимости репараметризации.

Ещё один алгоритм оценки биомассы фитопланктона, подходящий для анализа разных по трофности типов вод, описан в работе [35]. Предложенный оптический гибридный алгоритм определения Chl-*a* (optical hybrid Chl-*a* algorithm (ОНА)) по данным спутника Sentinel-2 включает в себя комбинацию алгоритмов для трёх оптических классов водоёмов, отличающихся по уровню трофности. На примере различных водоёмов в регионе Валенсии (Испания) показано, что в эвтрофных и гипертрофных водах концентрацию Chl-*a* более достоверно позволяет определить скорректированный трёхполосный алгоритм ТВДО [27], а в олиго- и мезотрофных – двухполосный алгоритм ОС2_490 [33] (табл.).

В работе [65] для определения содержания Chl-*a* в воде авторы предлагают использовать мультисенсорный подход. По мнению авторов, временное и пространственное разрешение при использовании только одного спутникового датчика может ограничивать его информационную ценность, а объединение данных от различных спутниковых датчиков с высоким пространственным/низким временным и низким пространственным/высоким временным разрешением теоретически обеспечивает ежедневный мониторинг состояния водоёма. Содержание Chl-*a* в работе [65] оценивали по данным, полученным с 5 различных датчиков MODIS-Terra, MODIS-Aqua, Landsat 8, Landsat 7 и Sentinel-2A. Наиболее близкими к *in situ* данным оказались результаты, полученные при помощи Landsat 8 и Sentinel-2A, однако авторы отмечают, что они требуют дополнительных количественных оценок.

В некоторых случаях индексы оценки концентрации Chl-*a* в воде не позволяют получить достоверные данные о наличии или биомассе фитопланктона в водоёме. Это может быть связано как с мешающим влиянием мутности и/или цветности воды, так и с отличием опти-

ческих свойств разных отделов водорослей. В оз. Эри в 2017 г. во время наземных исследований были обнаружены массовые скопления ЦБ родов *Aphanothece* и *Synechococcus*, богатых красным пигментом фикоэритрином, однако использование алгоритмов определения «цветения» фитопланктона на основе отношения синего к зелёному и расчёт индексов МСІ и СІ по спутниковым данным не позволил в полной мере оценить биомассу этих ЦБ [14]. В работе [39] по изучению эвтрофированных водоёмов был применён алгоритм для оценки концентрации пигмента фикоцианина (табл.), имеющего синюю окраску, по изображениям со спутника Sentinel-2 (А и В), обработанным с помощью программного обеспечения SNAP (Brockmann Consult), корреляция с концентрацией фикоцианина, измеренной *in situ*, составила $R^2 = 0,775$. Авторы отмечают, что предложенный ими индекс подходит для обнаружения ЦБ по данным Sentinel-2, в том числе ЦБ рода *Microcystis*. В работе [66] для обнаружения фикоцианина использована полоса OLCI Sentinel-3 с длиной волны 620 нм. Авторы работы отмечают более широкие возможности продукта OLCI Sentinel-3 для обнаружения различных пигментов фитопланктона помимо Chl-*a*.

Дистанционное обнаружение высших водных растений

Существуют спектральные индексы, позволяющие обнаружить не только фитопланктон, но и высшие растения на акватории водоёмов. Например, индекс NDVI, который обычно применяется для определения состояния наземной растительности, главным образом в сельскохозяйственной отрасли, также применим для оценки водной растительности (табл.). В работе [40] NDVI применяли для сравнения развития водной растительности в системе, состоящей из двух водохранилищ. В этой работе отмечено, что спутниковые данные Sentinel-2 позволяют оценивать заросли растений, только если их ширина составляет не менее 10 м. Индекс NDVI, рассчитанный по данным со спутника Landsat 5, был применён нами для определения границ водохранилищ в Кировской области [41]. В ходе работы было отмечено, что данный индекс также может быть использован для оценки развития водной растительности в водоёмах региона. В работе [43] по данным Sentinel-2A был рассчитан индекс площади листьев макрофитов (LAI) в мелководной системе озёр в Италии. Авто-

ры использовали для расчёта LAI модифицированный индекс коэффициента поглощения хлорофилла (MCARI705) [45] (табл.). В работе отмечено, что величина LAI аллохтонных и инвазивных видов макрофитов (таких, как *Nelumbo nucifera* и *Ludwigia hexapetala*) в исследованных озёрах была выше по сравнению с LAI автохтонных видов растений (*Trapa natans* и *Nuphar lutea*).

Дистанционное определение прозрачности и мутности внутренних вод

Прозрачность и мутность являются одними из основных показателей при исследовании качества воды внутренних водоёмов [52], а также косвенным признаком развития фитопланктона.

В работе [46] для оценки мутности по данным Sentinel-2 в ультра-мутных водах озёр Синдзи и Накауми (Япония), водохранилища Вааль-Дам (Южная Африка) были применены двухполосная (2-ВМ) и трёхполосная модели (3-ВМ) (табл.), корреляция с данными *in situ* составила 0,7. Авторы работ [52, 53] отмечают, что для определения мутности по данным спутника Sentinel-2 в мелководных лагунах, таких как Альбуфера (Испания), подходит отношение отражательной способности при длинах волн 490 и 705 нм (табл.). Авторы другой работы [54], выполненной на примере этой же лагуны, использовали для определения прозрачности три различных алгоритма, первоначально разработанных для аппаратуры MSI на борту Sentinel-2 и для MERIS. Они провели калибровку индексов по данным *in situ*. Для оценки прозрачности воды в лагуне Альбуфера наиболее подходящим оказалось отношение R_{560}/R_{704} (табл.), однако авторы отмечают, что при использовании предложенного алгоритма могут быть недооценены высокие значения мутности. Авторы работы [67] для определения прозрачности воды оз. Манингау (Индонезия) использовали данные Landsat TM/ETM+. В отличие от других работ, в этой для оценки прозрачности предложено использовать соотношения полос синий/зелёный и красный/зелёный. Всего авторами было проанализировано 17 различных моделей оценки прозрачности воды, проведена их валидация (R^2 для разных моделей составила от 0,25 до 0,60).

Для оценки прозрачности воды в водоёмах с различным трофическим статусом в бассейне р. Жукар использовали индексы, основанные

на отношении отражательной способности в синей и зелёной областях спектра, а также в синей и красной. Минимальная погрешность определения (13%) была при использовании индекса R_{490}/R_{560} [52] (табл.). В указанной работе апробированы три метода атмосферной коррекции: Polymer, C2RCC и C2X [52] для изображений, полученных со спутника Sentinel-2. Авторы отметили, что наиболее близкие к *in situ* значения удаётся получить при коррекции с помощью Polymer.

Аппаратура спутника Sentinel-3А позволяет дистанционно определять не только прозрачность воды, но и CDOM и общее количество взвешенных веществ (TSM) [59]. Авторы работы [68] доказали, что спутниковые данные Sentinel-3А могут быть использованы для отдельного определения концентраций неорганических и органических взвешенных веществ, которые по-разному влияют на оптические свойства и качество воды. В данной работе на примере озёр в бассейне р. Янцзы выявлена тесная корреляция между концентрацией органических твёрдых взвешенных веществ (SPOM) и коэффициентом поглощения фитопланктона ($R = 0,76$) и неорганических твёрдых взвешенных веществ (SPIM) и коэффициентом поглощения частиц не из водорослей ($R = 0,73$).

Заключение

Свободный доступ к космическим снимкам с различных спутников в последние 5–10 лет существенно расширил возможности применения ДЗЗ для изучения процессов эвтрофикации во внутренних водоёмах. В настоящее время разработано множество методов для обнаружения и изучения динамики фитопланктона и высших водных растений, оценки прозрачности и мутности воды, наличия в ней органических и неорганических взвешенных веществ, биогенных элементов. Анализ литературных данных показал, что применение одних и тех же алгоритмов на разных водоёмах не всегда позволяет получать достоверные результаты, поэтому актуальным направлением деятельности остаётся разработка региональных алгоритмов. Большинство авторов рекомендуют проводить калибровку применяемых спектральных индексов на конкретных водоёмах, учитывая их трофический статус, так как оптические свойства олиго-, мезо- и эвтрофных вод сильно отличаются. Для водоёмов со сложными оптическими условиями рекомендуется применять комбинирование

различных алгоритмов определения фитопланктона, мутности воды. Также для получения более точных данных, особенно для изучения сильно эвтрофных и мутных вод, рекомендуется проводить атмосферную коррекцию исходных комических снимков. Использование указанных приёмов позволяет существенно повысить точность применяемых алгоритмов при ДЗЗ внутренних водоёмов.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых учёных – кандидатов наук (МК-86.2019.5).

References

1. Rast W., Thornton J.A. Trends in eutrophication research and control // *Hydrological processes*. 1996. V. 10. P. 295–313.
2. Sirenko L.A., Gavrilenko M.Ya. “Blooming” of water and eutrophication. Kiev: Naukova dumka, 1978. 230 p. (in Russian).
3. Paerl H.W. Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine and inland waters // *Limnol. Oceanogr.* 1988. V. 33. No. 4. Part 2. P. 823–847.
4. Vin on-Leite B., Casenave C. Modelling eutrophication in lake ecosystems: A review // *Science of the Total Environment*. 2019. V. 651. P. 2985–3001. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.09.320
5. Lavrova O.Yu., Solovov D.M., Strochkov A.Ya., Shendrik V.D. Satellite monitoring of color algae in the Rybinsk Reservoir // *Sovremennye problemy dstantsionnogo zondirovaniya Zemli iz kosmosa*. 2014. V. 11. No. 3. P. 54–72 (in Russian).
6. Yang M.-D., Merry C.J., Sykes R.M. Integration of water quality modeling, remote sensing, and GIS // *Journal of the American Water Resources Association*. 1999. V. 35 (2). P. 253–263. doi: 10.1111/j.1752-1688.1999.tb03587.x
7. Kopelevich O.V., Sheberstov S.V., Saling I.V., Vazyulya S.V., Burenkov V.I. Seasonal and interannual variability of the bio-optical characteristics of the waters of the surface layer of the Barents, White, Black and Caspian seas according to satellite data // *Fundamentalnaya i prikladnaya gidrofizika*. 2015. V. 8. No. 1. P. 7–16 (in Russian).
8. Cokacar T., Oguz T., Kubilay N. Satellite detected early summer coccolithophore blooms and their interannual variability in the Black Sea // *Deep-Sea Research*. 2004. Part I. V. 51. P. 1017–1031.
9. Tikhomirov O.A., Bocharov A.V., Komissarov A.B., Khizhnyak S.D., Pakhomov P.M. Using Landsat 8 (OLI) sensor data to measure turbidity, color, and chlorophyll content in the water of the Ivankovo reservoir // *Vestnik TvGU. Seriya Khimiya*. 2016. No. 2. P. 230–244 (in Russian).
10. Bhagowati B., Ahamad K.U. A review on lake eutrophication dynamics and recent developments in lake modeling // *Ecohydrology & Hydrobiology*. 2019. V. 19. P. 155–166. doi: 10.1016/j.ecohyd.2018.03.002
11. Cherepanov A.S., Druzhinina E.G. Spectral properties of vegetation and vegetation indices // *Geomatika*. 2009. No. 3. P. 28–32 (in Russian).
12. Ali K., Witter D., Ortiz J. Application of empirical and semi-analytical algorithms to MERIS data for estimating chlorophyll *a* in Case 2 waters of Lake Erie // *Environ Earth Sci*. 2014. V. 71. P. 4209–4220. doi: 10.1007/s12665-013-2814-0
13. Kravitz J., Matthews M., Bernard S., Griffith D. Application of Sentinel 3 OLCI for chl-*a* retrieval over small inland water targets: Successes and challenges // *Remote Sensing of Environment*. 2020. V. 237. Article No. 111562. doi: 10.1016/j.rse.2019.111562
14. Hansen C.H., Burian S.J., Dennison P.E., William G.P. Evaluating historical trends and influences of meteorological and seasonal climate conditions on lake chlorophyll *a* using remote sensing // *Lake and Reservoir Management*. 2020. V. 36. No. 1. P. 45–63. doi: 10.1080/10402381.2019.1632397
15. Binding C.E., Zastepa A., Zeng C. The impact of phytoplankton community composition on optical properties and satellite observations of the 2017 western Lake Erie algal bloom // *Journal of Great Lakes Research*. 2019. V. 45. No. 3. P. 573–586. doi: 10.1016/j.jglr.2018.11.015
16. Witter D.L., Ortiz J.D., Palm S., Heath R.T., Budd J.W. Assessing the application of SeaWiFS Ocean color algorithms to Lake Erie // *J. Great Lakes Res.* 2009. V. 35 (3). P. 361–370. doi: 10.1016/j.jglr.2009.03.002
17. Moses W.J., Gitelson A.A., Berdnikov S., Povazhny V. Estimation of chlorophyll-*a* concentration in case II waters using MODIS and MERIS data—successes and challenges // *Environ Res Lett*. 2009. V. 4. No. 4. Article No. 045005. doi: 10.1088/1748-9326/4/4/045005
18. Simis S.G.H., Peters S.W.M., Gons H.J. Remote sensing of the cyanobacterial pigment phycocyanin in turbid inland water // *Limnol Oceanogr*. 2005. V. 50 (1). P. 237–245. doi: 10.4319/lo.2005.50.1.0237
19. Gons H.J. Optical teledetection of chlorophyll *a* in turbid inland waters // *Environ Sci Technol*. 1999. V. 33 (7). P. 1127–1132. doi: 10.1021/es9809657
20. Gower J., King S., Borstad G., Brown L. Detection of intense plankton blooms using the 709 nm band of the MERIS imaging spectrometer // *Int. J. Remote Sens*. 2005. V. 26. No. 9. P. 2005–2012. doi: 10.1080/01431160500075857
21. Binding C.E., Greenberg T.A., McCullough G., Watson S.B., Page E. An analysis of satellite-derived chlorophyll and algal bloom indices on Lake Winnipeg // *Journal of Great Lakes Research*. 2018. V. 44. P. 436–446. doi: 10.1016/j.jglr.2018.04.001
22. Gower J.F.R., Doerffer R., Borstad G.A. Interpretation of the 685 nm peak in water-leaving radiance spectra in terms of fluorescence, absorption and scattering, and

- its observation by MERIS // *Int. J. Remote Sens.* 1999. V. 20. No. 9. P. 1771–1786. doi: 10.1080/014311699212470
23. Schalles J.F., Gitelson A.A., Yacobi Y.Z., Kroenke A.E. Estimation of chlorophyll *a* from time series measurements of high spectral resolution reflectance in an eutrophic lake // *J. Phycol.* 1998. V. 34 (2). P. 383–390. doi: 10.1046/j.1529-8817.1998.340383.x
24. Alikas K., Kangro K., Reinart A. Detecting cyanobacterial blooms in large North European lakes using the Maximum Chlorophyll Index // *Oceanologia.* 2010. V. 52 (2). P. 237–257.
25. Gower J., King S., Goncalves P. Global monitoring of plankton blooms using MERIS MCI // *Int. J. Remote Sens.* 2008. V. 29 (24). P. 6209–6216. doi: 10.1080/01431160802178110
26. Karaoui I., Arioua A., Boudhar A., Hssaisoune M., El Moutassime S., Ait Ouhamchich K., Elhamdouni D. Evaluating the potential of Sentinel-2 satellite images for water quality characterization of artificial reservoirs: The Bin El Ouidane Reservoir case study (Morocco) // *Meteorology Hydrology and Water Management.* 2019. V. 7. No. 1. P. 31–39. doi: 10.26491/mhwm/95087
27. Sòria-Perpinyà X., Urrego P., Pereira-Sandoval M., Ruiz-Verdú A., Peña R., Soria J.M., Delegido J., Vicente E., Moreno J. Monitoring the ecological state of a hypertrophic lake (Albufera de València, Spain) using multitemporal Sentinel-2 images // *Limnetica.* 2019. V. 38 (1). P. 457–469. doi: 10.23818/limn.38.26
28. Dall'olmo G., Gitelson A., Rundquist D. Towards a unified approach for remote estimation of chlorophyll-*a* in both terrestrial vegetation and turbid productive waters // *Geophysical Research Letters.* 2003. V. 30 (18). doi: 10.1029/2003GL018065
29. Soria-Perpiyá X., Delegido J., Urrego E.P., Pereira-Sandoval M., Vicente E., Ruiz-Verdú A., Soria J.M., Peña R., Tenjo C., Moreno J. Validación de algoritmos para la estimación de la clorofila-*a* con Sentinel-2 en la Albufera de València // *Proceedings of the XVII Congreso de la Asociación Española de Teledetección.* Octubre 3–7, 2017. Murcia, Spain. P. 289–292 (in Spanish).
30. Pereira-Sandoval M., Ruiz-Verdú A., Tenjo C., Delegido J., Urrego E.P., Peña R., Vicente E., Soria J.M., Soria-Perpiyá X., Moreno J. Calibration and validation of algorithms for the estimation of chlorophyll-*a* and Secchi disc depth in inland waters with Sentinel-2 // *Limnetica.* 2019. V. 38 (1). P. 471–487. doi: 10.23818/limn.38.27
31. O'Reilly J.E., Hooker S., Firestone E., O'Brien M., Siegel D., Toole D., Menzies D., Smith R., Mueller J., Kahru M., Chavez F., Stratton P., Cota G., McClain C., Carder K., Harding L., Magnuson A., Phinney D., Culver M. Volume 11, SeaWiFS postlaunch calibration and validation analyses, Part 3. In: NASA/TM–2000–206892. V. 11 / Eds. S.B. Hooker, E.R. Firestone. NASA Goddard Space Flight Center, 2000. 49 p.
32. Gitelson A.A., Gurlin D., Moses W.J., Yacobi Y.Z. Remote estimation of chlorophyll-*a* concentration in inland, estuarine and coastal waters. In: *Advances in Environmental Remote Sensing: Sensors, Algorithms and Applications* / Ed. Q. Weng. CRC Press, 2011. P. 449–478.
33. Yang W., Matsushita B., Chen J., Fukushima T. Estimating constituent concentrations in case II waters from MERIS satellite data by semi-analytical model optimizing and look-up tables // *Remote Sens. Environ.* 2011. V. 115. No. 5. P. 1247–1259. doi: 10.1016/j.rse.2011.01.007
34. Matsushita B., Yang W., Yu G., Oyama Y., Yoshimura K., Fukushima T. A hybrid algorithm for estimating the chlorophyll-*a* concentration across different trophic states in Asian inland waters // *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing.* 2015. V. 102. P. 28–37. doi: 10.1016/j.isprsjprs.2014.12.022
35. Cairo C., Barbosa C., Lobo F., Novo E., Carlos F., Maciel D., Flores Júnior R., Silva E., Curtarelli V. Hybrid chlorophyll-*a* algorithm for assessing trophic states of a tropical Brazilian reservoir based on MSI/Sentinel-2 Data // *Remote Sens.* 2020. V. 12. Article No. 40. doi: 10.3390/rs12010040
36. Gilerson A., Gitelson A., Zhou J., Gulrin D., Moses W., Ioannou I., Ahmed S. Algorithms for remote sensing of chlorophyll-*a* in coastal and inland waters using red and near infrared bands // *Opt. Express.* 2010. V. 18. No. 23. P. 24109–24125. doi: 10.1364/OE.18.024109
37. Gitelson A., Gao B.C., Li R.R., Berdnikov S., Saprygin V. Estimation of chlorophyll-*a* concentration in productive turbid waters using a hyperspectral imager for the coastal ocean: The Azov Sea case study // *Environ. Res. Lett.* 2011. V. 6. No. 2. P. 1–6. doi: 10.1088/1748-9326/6/2/024023
38. Mishra S., Mishra D.R. Normalized Difference Chlorophyll Index: A novel model for remote estimation of chlorophyll-*a* concentration in turbid productive waters // *Remote Sens. Environ.* 2012. V. 117. P. 394–406. doi: 10.1016/j.rse.2011.10.016
39. Sòria-Perpinyà X., Vicente E., Urrego P., Pereira-Sandoval M., Ruiz-Verdú A., Delegido J., Soria J.M., Moreno J. Remote sensing of cyanobacterial blooms in a hypertrophic lagoon (Albufera of València, Eastern Iberian Peninsula) using multitemporal Sentinel-2 images // *Science of the Total Environment.* 2020. V. 698. Article No. 134305. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134305
40. Jaskuła J., Sojka M., Wicher-Dysarz J. Analysis of selected physicochemical parameters and degradation process assessment in a two-stage reservoir Jezioro Kowalskie using field and remote sensing data // *Rocznik Ochrona Srodowiska.* 2019. V. 21. No. 1. P. 439–455.
41. Kutuyavina T.I., Rutman V.V., Ashikhmina T.Ya., Savinykh V.P. The use of satellite images to determine the boundaries of water bodies and study the processes of eutrophication // *Theoretical and Applied Ecology.* 2019. No. 3. P. 28–33 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-3-028-033
42. Rouse Jr.J., Haas R.H., Schell J.A., Deering D.W. Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS. NASA Technical Reports Server, 1974. P. 309–317.

43. Pinardi M., Bresciani M., Villa P., Cazzaniga I., Laini A., Tóth V., Fadel A., Austoni M., Lami A., Giardino C. Spatial and temporal dynamics of primary producers in shallow lakes as seen from space: Intra-annual observations from Sentinel-2A // *Limnologia*. 2018. V. 72. P. 32–43. doi: 10.1016/j.limno.2018.08.002
44. Villa P., Pinardi M., Tóth V.R., Hunter P.D., Bolpagni R., Bresciani M. Remote sensing of macrophyte morphological traits: implications for the management of shallow lakes // *J. Limnol.* 2017. V. 76. No. 1S. P. 109–126. doi: 10.4081/jlimnol.2017.1629
45. Wu C., Niu Z., Tang Q., Huang W., Rivard B., Feng J. Remote estimation of gross primary production in wheat using chlorophyll-related vegetation indices // *Agric. For. Meteorol.* 2009. V. 149 (6). P. 1015–1021. doi: 10.1016/j.agrformet.2008.12.007
46. Sakuno Y., Yajima H., Yoshioka Y., Sugahara S., Abd Elbasit M.A.M., Adam E., Chirima J.G. Evaluation of unified algorithms for remote sensing of chlorophyll-*a* and turbidity in lake Shinji and lake Nakaumi of Japan and the Vaal Dam reservoir of South Africa under eutrophic and ultra-turbid conditions // *Water*. 2018. V. 10. Article No. 618. doi: 10.3390/w10050618
47. Chen Z., Hu C., Muller-Karger F. Monitoring turbidity in Tampa Bay using MODIS/Aqua 250-m imagery // *Remote Sens. Environ.* 2007. V. 109. P. 207–220. doi: 10.1016/j.rse.2006.12.019
48. Nechad B., Ruddick K.G., Park Y. Calibration and validation of a generic multisensor algorithm for mapping of total suspended matter in turbid waters // *Remote Sens. Environ.* 2010. V. 114. P. 854–866. doi: 10.1016/j.rse.2009.11.022
49. Kallio K., Kutser T., Hannonen T., Koponen S., Pulliainen J., Vepsäläinen J., Pyhälähti T. Retrieval of water quality from airborne imaging spectrometry of various lake types in different seasons // *Sci. Total Environ.* 2001. V. 268. No. 1–3. P. 59–77. doi: 10.1016/s0048-9697(00)00685-9
50. Doxaran D., Froidefond J.M., Castaing P., Babin M. Dynamics of the turbidity maximum zone in a macrotidal estuary (the Gironde, France): Observations from field and MODIS satellite data // *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 2009. V. 81. No. 3. P. 321–332. doi: 10.1016/j.ecss.2008.11.013
51. Kutser T., Paavel B., Verpoorter C., Ligi M., Soomets T., Toming K., Casal G. Remote sensing of black lakes and using 810 nm reflectance peak for retrieving water quality parameters of optically complex waters // *Remote Sens.* 2016. V. 8. Article No. 497. doi: 10.3390/rs8060497
52. Delegido J., Urrego P., Vicente E., Sòria-Perpinyà X., Soria J.M., Pereira-Sandoval M., Ruiz-Verdú A., Peña R., Moreno J. Turbidez y profundidad de disco de Secchi con Sentinel-2 en embalses con diferente estado trófico en la Comunidad Valenciana // *Revista de Teledetección*. 2019. V. 54. P. 15–24 (in Spanish). doi: 10.4995/raet.2019.12603
53. Sebastiá-Frasquet M.-T., Aguilar-Maldonado J.A., Santamaría-Del-Ángel E., Estornell J. Sentinel 2 Analysis of Turbidity Patterns in a Coastal Lagoon // *Remote Sens.* 2019. V. 11. Article No. 2926. doi: 10.3390/rs11242926
54. Sòria-Perpinyà X., Urrego E.P., Pereira-Sandoval M., Ruiz-Verdú A., Soria J.M., Delegido J., Vicente E., Moreno J. Monitoring water transparency of a hypertrophic lake (the Albufera of València) using multitemporal Sentinel-2 satellite images // *Limnética*. 2020. V. 39. No. 1. P. 373–386. doi: 10.23818/limn.39.24
55. Koponen S., Pulliainen J., Kallio K., Hallikainen M. Lake water quality classification with airborne hyperspectral spectrometer and simulated MERIS data. *Remote Sensing of Environment*. 2002. V. 79. No. 1. P. 51–59. doi: 10.1016/S0034-4257(01)00238-3
56. Matthews M.W., Bernard S., Winter K. Remote sensing of cyanobacteria-dominant algal blooms and water quality parameters in Zeekoevlei, a small hypertrophic lake, using MERIS. *Remote Sensing of Environment*. 2010. V. 114. No. 9. P. 2070–2087. doi: 10.1016/j.rse.2010.04.013
57. Du C., Wang Q., Li Y., Lyu H., Zhu L., Zheng Z., Wen S., Liu G., Guo Y. Estimation of total phosphorus concentration using a water classification method in inland water // *Int J Appl Earth Obs Geoinformation*. 2018. V. 71. P. 29–42. doi: 10.1016/j.jag.2018.05.007
58. Sakharova E.G., Krylov A.V., Sabitova R.Z., Tsvetkov A.I., Gambaryan L.R., Mamyán A.S., Gabrielyan B.K., Ayrapetyan A.O., Khachikyan T.G. Horizontal and vertical distribution of phytoplankton of high-altitude Lake Sevan (Armenia) during the summer flowering of water by cyanoprokaryotes // *Contemporary Problems of Ecology*. 2020. No. 1. P. 76–88 (in Russian). doi: 10.15372/SEJ20200106
59. Watanabe F., Alcântara E., Imai N., Rodrigues T., Bernardo N. Estimation of chlorophyll-*a* concentration from optimizing a semi-analytical algorithm in productive inland waters // *Remote Sens.* 2018. V. 10. Article No. 227. doi: 10.3390/rs10020227
60. Dörnhöfer K., Scholze J., Stelzer K., Oppelt N. Water colour analysis of lake Kummerow using time series of remote sensing and in situ data // *Journal of Photogrammetry, Remote Sensing and Geoinformation Science*. 2018. V. 86. P. 103–120. doi: 10.1007/s41064-018-0046-3
61. Cazzaniga I., Bresciani M., Colombo R., Della Bella V., Padula R., Giardino C. A comparison of Sentinel-3-OLCI and Sentinel-2-MSI-derived chlorophyll-*a* maps for two large Italian lakes // *Remote Sensing Letters*. 2019. V. 10. No. 10. P. 978–987. doi: 10.1080/2150704X.2019.1634298
62. Giardino C., Candiani G., Bresciani M., Lee Z., Gagliano S., Pepe M. BOMBER: A tool for estimating water quality and bottom properties from remote sens-

ing images // *Computers & Geosciences*. 2012. V. 45. P. 313–318. doi: 10.1016/j.cageo.2011.11.022

63. Blix K., Pálffy K., Tóth V.R., Eltoft T. Remote sensing of water quality parameters over lake Balaton by using Sentinel-3 OLCI // *Water*. 2018. V. 10. Article No. 1428. doi: 10.3390/w10101428

64. Rodrigues T., Mishra, D., Alcántara E., Astuti I., Watanabe F., Imai N. Estimating the optical properties of inorganic matter-dominated oligo-to-mesotrophic inland waters // *WATER*. 2018. V. 10. No. 4. UNSP 449. doi: 10.3390/w10040449

65. Dörnhöfer K., Klinger P., Heege T., Oppelt N. Multi-sensor satellite and in situ monitoring of phytoplankton development in a eutrophic-mesotrophic lake // *Science of the Total Environment*. 2018. V. 612. P. 1200–1214. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.219

66. Watanabe F., Alcântara E., Imai N., Rodrigues T., Bernardo N. Estimation of chlorophyll-*a* concentration from optimizing a semi-analytical algorithm in productive inland waters // *Remote Sens*. 2018. V. 10. Article No. 227. doi: 10.3390/rs10020227

67. Setiawan F., Matsushita B., Hamzah R., Jiang D.L., Fukushima T. Long-Term Change of the Secchi Disk Depth in Lake Maninjau, Indonesia Shown by Landsat TM and ETM plus Data // *Remote Sensing*. 2019. V. 11. No. 23. Article No. 2875. doi: 10.3390/rs11232875

68. Liu D., Duan H., Yu S., Shen M., Xue K. Human-induced eutrophication dominates the bio-optical compositions of suspended particles in shallow lakes: Implications for remote sensing // *Science of the Total Environment*. 2019. V. 667. P. 112–123. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.02.36

Септориоз листьев и колоса пшеницы: генетический контроль устойчивости хозяина (обзор)

© 2020. А. В. Бакулина, к. б. н., зав. лабораторией,
А. В. Харина, к. с-х. н., н. с., А. А. Широких, д. б. н., в. н. с.,
Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого,
610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина д. 166а,
e-mail: drugaeann1@rambler, khavchas@yandex.ru

В обзоре представлена актуальная информация относительно особенностей биологии грибов-возбудителей септориоза листьев (*Zymoseptoria tritici*) и колоса (*Parastagonospora nodorum*) пшеницы, таксономического положения данных видов, симптомах вызываемых ими заболеваний, распространении и вредоносности указанных патогенов в нашей стране. Основное внимание уделено генетическому контролю устойчивости пшеницы к септориозу с точки зрения количественного и качественного характера устойчивости и её эффективности. Суммированы достигнутые к настоящему времени успехи в идентификации генов и локусов количественных признаков (quantitative trait loci – QTLs) пшеницы, связанных с устойчивостью к *Z. tritici* и *P. nodorum*, указана их локализация в геноме пшеницы и тесно сцепленные молекулярные маркеры, а также приведены генотипы пшеницы, несущие гены и локусы устойчивости. В заключении сформулированы перспективы, которые открывают внедрение накопленных данных для современной селекции, направленной на получение устойчивых к септориозу сортов пшеницы.

Ключевые слова: пшеница, септориоз, *Zymoseptoria tritici*, *Parastagonospora nodorum*, гены устойчивости, локусы количественных признаков, молекулярные маркеры.

Septoria tritici and Stagonospora nodorum blotch of wheat: genetic control of host resistance (review)

© 2020. A. V. Bakulina ORCID: 0000-0002-5171-2476
A. V. Kharina ORCID: 0000-0002-0554-5814
A. A. Shirokikh ORCID: 0000-0002-7808-0376
Federal Agricultural Research Center of North-East named N. V. Rudnitsky,
166a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,
e-mail: drugaeann1@rambler, khavchas@yandex.ru

The review presents actual information about the biology of fungi that cause Septoria tritici blotch (STB, pathogen *Zymoseptoria tritici*) and Stagonospora nodorum blotch (SNB, pathogen *Parastagonospora nodorum*) of wheat, the taxonomic status of these species, the symptoms of diseases caused by them, the spread and harmfulness of these pathogens in Russia. The main attention is paid to the genetic control of wheat resistance to STB and SNB in terms of the quantitative and qualitative character of resistance and its effectiveness. The article summarizes the success achieved in identifying genes and quantitative trait loci (QTLs) of wheat associated with resistance to *Z. tritici* and *P. nodorum*, indicates their localization in the wheat genome and closely linked molecular markers, and also provides genotypes of wheat carrying genes and loci of resistance. In conclusion, the prospects that the introduction of accumulated data opens for modern plant breeding aimed at obtaining resistant to STB and SNB wheat cultivars are announced. To date, a significant amount of data has already been accumulated about molecular basis of wheat resistance to STB and SNB. At the same time, in comparison with other wheat pathogens, the genetics of resistance to *Z. tritici* and *P. nodorum* have not been studied enough. The study of these pathosystems involves the use of the most modern methods and includes omix techniques, geno- and phenotyping, as well as integration of the data obtained. The introduction of this knowledge in the process of creating resistant wheat genotypes is still small, but will undoubtedly increase with further study.

Keywords: wheat, *Zymoseptoria tritici*, *Parastagonospora nodorum*, resistance genes, quantitative trait loci, molecular markers.

Септориоз пшеницы – одно из широко распространённых и опасных по экологическим и экономическим последствиям заболеваний. Более 70% фунгицидов в Европе применяется для защиты пшеницы только от септориоза листьев [1]. Наибольший вред заболевание наносит странам Западной, Восточной Европы и Скандинавии; также – отмечено в Северной (США, Канада) и Южной Америке (Мексика, Аргентина), Северной Африке (Тунис, Алжир, Марокко, Эфиопия), Австралии, на Северном Кавказе (Грузия) [2]. В России септориоз начал прогрессировать с 1970-х годов и сейчас распространился почти на все регионы возделывания *Triticum aestivum* L., доминируя среди грибных заболеваний пшеницы [2, 3]. При септориозе уменьшается ассимиляционная поверхность листьев, снижается их фотосинтетическая активность, наблюдаются усыхание, излом стеблей и недоразвитость колосов. Сильное поражение приводит к отсутствию семян в колосе и даже полной гибели растений. Хотя при позднем появлении симптомов заболевания снижение урожая зерна не превышает 5–7% [4], в годы эпифитотий потери могут достигать 40% [2, 3, 5].

Приоритетным направлением в защите растений от данных, как и других патогенов, является создание устойчивых сортов, что позволит снизить применение химических фунгицидов и служит задачам экологизации сельского хозяйства. В значительной степени этому могут способствовать данные по изучению генетики устойчивости пшеницы к грибам-возбудителям септориоза, полученные с использованием молекулярно-генетических методов. В обзоре обсуждаются особенности биологии возбудителей септориоза листьев и колоса, их распространённость в России, а также достигнутые к настоящему времени успехи в идентификации генов и локусов количественных признаков (quantitative trait loci – QTLs) пшеницы, связанных с устойчивостью, с целью дальнейшего использования этих знаний в создании устойчивых к септориозу сортов.

Таксономическое положение грибов-возбудителей септориоза пшеницы

Септориоз одно из самых распространённых заболеваний на посевах зерновых в большинстве стран мира с умеренным климатом. Заболевание вызывают грибы, принадлежащие к отделу Ascomycota, классу Ascomycetes, подклассу Dothideomycetidae. Наиболее вре-

доносными для пшеницы являются два вида: 1) *Septoria tritici* Desm., современное название – *Zymoseptoria tritici* (Desm.) Quaedvlieg & Crous (телеоморфа: *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schroet)); и 2) *Stagonospora nodorum* (Berk.) синонимы: *Septoria nodorum* (Berk.) и *Parastagonospora nodorum* (Berk.) (телеоморфа: *Leptosphaeria nodorum* E. Müll., синоним: *Phaeosphaeria nodorum* (E. Müll) Hedjar.) [6]. Так же в нашей стране на поражённых растениях пшеницы отмечается *Stagonospora* (*Parastagonospora*) *avenae* Bissett f. sp. *triticea* T. Johnson [7, 8].

Род *Septoria* чрезвычайно велик, и в течение последних 150 лет к нему было отнесено более двух тысяч видов [9]. Таксономия септориальных грибов была пересмотрена в работах [10, 11] на основании дополнения культурально-морфологических характеристик данными секвенирования. Согласно филогенетическому анализу возбудитель септориоза листьев (*septoria tritici* blotch – STB) выделен в отдельный род *Zymoseptoria* семейства *Mycosphaerellaceae* [10], а возбудитель септориоза колоса (*septoria nodorum* blotch – SNB) отнесён к роду *Parastagonospora* семейства *Phaeosphaeriaceae* [11]. Поэтому далее в тексте статьи для обозначения этих патогенов будут использованы видовые названия: *Z. tritici* и *P. nodorum*. Сообщается, что *P. avenae* f. sp. *triticea* отличен от *P. avenae* f. sp. *avenaria*, поражающего овёс (*Avena* spp.), но его таксономическое положение требует дальнейших исследований [11].

Симптомы заболевания и распространённость возбудителей септориоза в России

На территории России особенно широко распространён вид *Z. tritici*, который преобладает в более южных регионах (Северный Кавказ, Центрально-Чернозёмный район), а также доминирует в Поволжье (рис. 1).

Z. tritici поражает преимущественно листья растений. На обеих сторонах листа между жилками образуются желтовато-коричневые или ржаво-бурые пятна, в центре которых формируются мелкие, чёрные плодовые тела (пикниды) (рис. 2). Конидии *Z. tritici* нитевидные, прямые или изогнутые (35–98 x 1–3 мкм) с 3–7 перегородками. Помимо конидиальной гриб формирует сумчатую стадию (телеоморфу), известную как *M. graminicola*. На перезимовавших листьях образуются псевдотеции. Аски содержат по восемь двуклеточных аско-

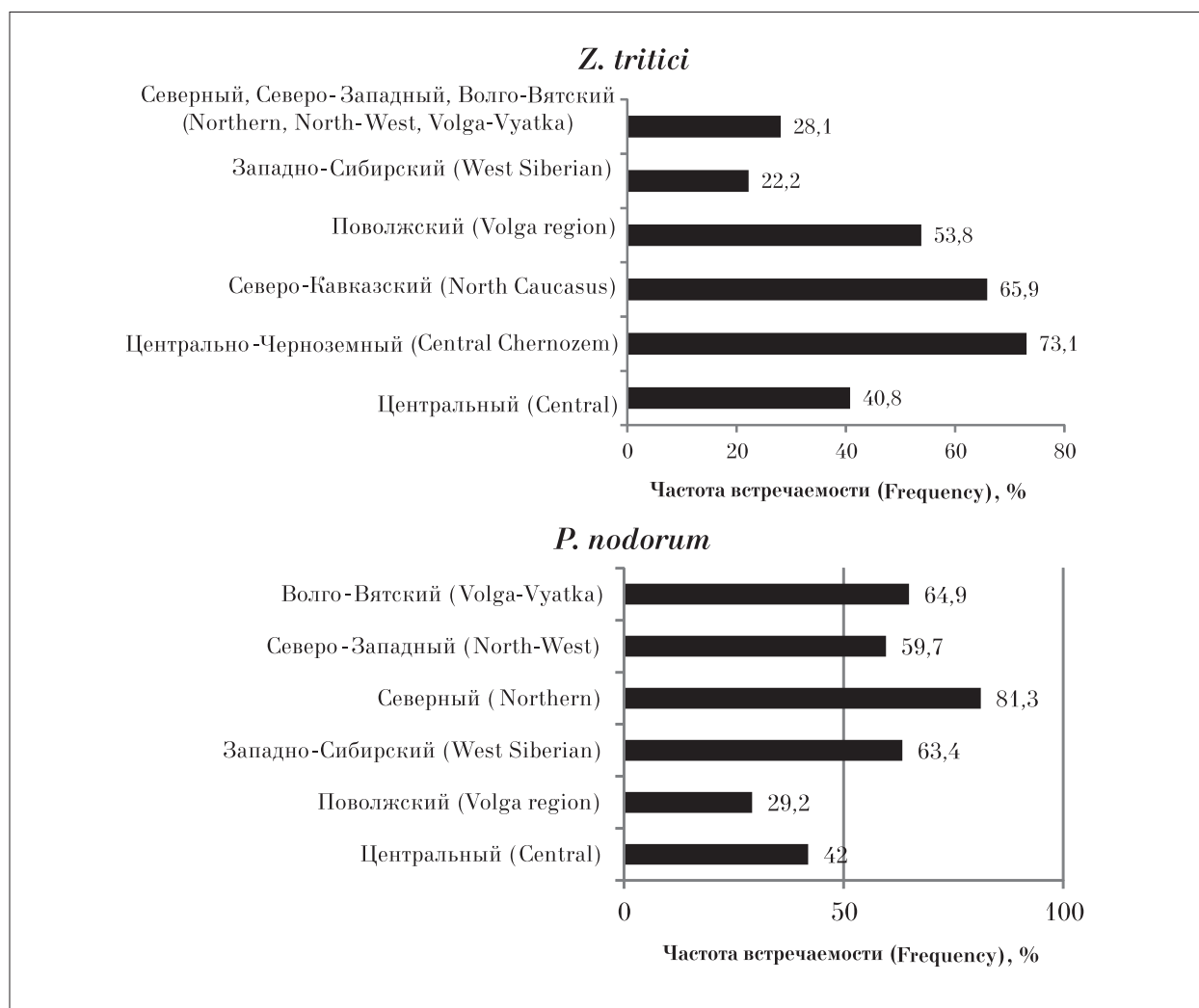


Рис. 1. Частота встречаемости (%) возбудителей септориоза в разных зерносеющих районах Российской Федерации [12]
Fig. 1. Frequency (%) of STB and SNB pathogens in different grain-growing regions of the Russian Federation [12]

спор [13–15]. Пикниды и мицелий возбудителя сохраняются на растительных остатках. Источником первичного заражения всходов являются конидии и аскоспоры, хотя основное значение при эпифитотиях имеет конидиальная стадия [16].

Часто на поражённых растениях пшеницы одновременно развивается несколько патогенных видов, вызывающих симптомы заболевания на разных частях растения [14]. Примерно в равных соотношениях *Z. tritici* и *P. nodorum* встречаются в Центральном районе Нечернозёмной зоны, а на севере и востоке европейской части России основным возбудителем септориоза является *P. nodorum* (рис. 1). Так, в Кировской области частота его встречаемости, по данным 2003 г, достигала 91,2% [17]. *P. nodorum* поражает листья, стебли, колосковые чешуйки и семена. На ко-

лосковых чешуйках появляются тёмно-бурые пятна, на которых образуются пикниды с удлиненно-цилиндрическими (15–32 x 2–4 мкм) конидиями с 1–3 перегородками (рис. 3) [14, 15, 18].

Третий вид – *P. avenae* f. sp. *triticea*, хотя и отмечен во всех высеваяющих пшеницу регионах страны, по сравнению с двумя предыдущими видами встречается гораздо реже (6,9–19,2%) [12]. В частности, в Кировской области *P. avenae* был выявлен лишь у 8,4% поражённых растений [17].

Таким образом, наибольшую опасность для пшеницы в России, как и в мире в целом, представляют *Z. tritici* и *P. nodorum*. Контроль заболевания сложен из-за высокого уровня генетического разнообразия внутри популяций патогенов, который обусловлен регулярным половым процессом в жизненном

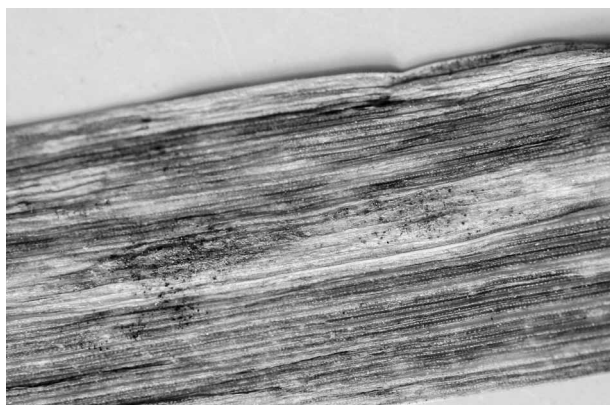


Рис. 2. Лист пшеницы, поражённой септориозом
Fig. 2. Leaf of wheat infected by STB

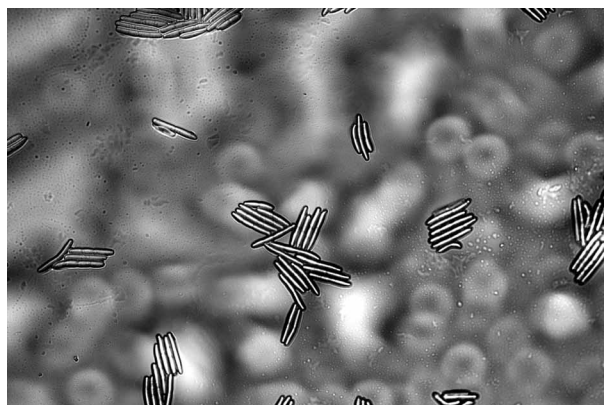


Рис. 3. Конидии *P. nodorum* на поражённых листьях пшеницы (увеличение 400)
Fig. 3. *P. nodorum* conidia are on the infected wheat leaves (magnification 400)

цикле обоих видов [19], вследствие чего они преодолевают резистентность растений и развивают устойчивость к фунгицидам. Поэтому именно грамотная селекция на устойчивость рассматривается эффективным, экономичным и экологически безопасным подходом к борьбе с STB и SNB.

Генетический контроль устойчивости

Многие исследователи ведут поиск источников и доноров устойчивости, используя традиционные методы селекции в сочетании с современными методами молекулярной биологии. За последние 20 лет в изучении генетики устойчивости пшеницы к септориозу был достигнут существенный прогресс [20].

Устойчивость к STB. Устойчивость растений к *Z. tritici* проявляется в ограничении или задержке распространения патогена в тканях и формирования пикнид [21]. Как и в случае других заболеваний растений, в устойчивости пшеницы к STB различают качественный и количественный характер [22]. Качественная резистентность сильна и обычно контролируется главными генами (major genes) устойчивости, эффективными против конкретных изолятов патогена, но не эффективными против других вирулентных изолятов (изолят-специфическая устойчивость). В этом случае взаимодействие растения с *Z. tritici* согласуется с концепцией «ген-наген». Количественная резистентность, напротив, характеризуется частичной устойчивостью и является полигенной (т.е. обусловлена QTLs с умеренными или малыми эффектами). Во многих случаях такой характер устойчивости эффективен против любых генотипов *Z. tritici* (изолят-неспецифическая устойчивость) [20].

К настоящему времени при изучении взаимодействия между сортами *T. aestivum* и изолятами *Z. tritici* идентифицирован 21 ген качественной устойчивости (*Stb*-гены), также один *Stb*-ген выявлен в *T. monococcum* (табл.). В обзоре [20] представлена исчерпывающая информация о генетике устойчивости к *Z. tritici*: приведены известные гены устойчивости (кроме *Stb19*, выявленного в 2018 г.) и соответствующие изоляты патогена, показана локализация *Stb*-генов, QTLs и сцепленные с ними маркеры.

Выявление первых генов устойчивости к STB (*Stb1–Stb3*) в 1985 г. [45] открыло возможность улучшения резистентности пшеницы путём пирамидирования нескольких *Stb*-генов. Озимые сорта Oasis и Sullivan, содержащие ген *Stb1*, сохраняют устойчивость в Индиане и соседних штатах (США) более 25 лет [33]. Сорт яровой пшеницы Tadinia с одним доминантным геном устойчивости *Stb4* в течение 30 лет использовался для контроля *Z. tritici* в Калифорнии [27]. Рядом с *Stb4* на плече хромосомы 7DS картирован ген *Stb5*, однако, нет данных о том, являются ли они аллелями одного гена [20].

Наиболее распространённый источник устойчивости к септориозу – ген *Stb6* встречается в большинстве изученных сортов [30] и придаёт устойчивость к голландскому изоляту IPO323. Изучение 226 линий *T. aestivum* из Великобритании и континентальной Европы показало, что присутствие *Stb6* связано со снижением симптомов заболевания в полевых условиях [22].

Богатым источником устойчивости служат линии синтетической гексаплоидной пшеницы, в которых идентифицированы гены: *Stb5*, *Stb8*, *Stb16q*, *Stb17*. Стоит отметить ген *Stb16q*,

Гены устойчивости пшеницы к STB, их хромосомная локализация, сцепленные маркеры и несущие *Stb*-гены сорта [20 с модификациями]
Wheat STB resistance genes, their chromosomal localization, linked markers and cultivars carrying *Stb*-genes [20 with modifications]

Ген Gene	Устойчивые сорта Resistant cultivars	Локализация Chromosome	Маркер Markers	Ссылка Reference
<i>Stb1</i>	Bulgaria88 (<i>Stb6</i>), Oasis, Sullivan	5BL	Xbarc74, Xgwm335	[23, 24]
<i>Stb2</i>	Veranopolis (<i>Stb6</i>)	1BS	Xwmc406, Xbarc008, Xwmc230	[25]
<i>Stb3</i>	Israel 493 (<i>Stb6</i>)	7AS	Xwmc83	[26]
<i>Stb4</i>	Tadinia (<i>Stb6</i>)	7DS	Xgwm111	[27]
<i>Stb5</i>	Synthetic6X	7DS	Xgwm44, Rc3	[28]
<i>Stb6</i>	Flame, Hereward, Shafir, Vivant, NSL92-5719, Bulgaria88 (<i>Stb1</i>), Senat, Amigo, Arina (<i>Stb15</i>), Armada, Atlas66, Ble Seigle, BonFermier, ChineseSpring, Gene, Kolben, Poros, Tadinia (<i>Stb4</i>), Veranopolis (<i>Stb2</i>), Israel 493 (<i>Stb3</i>), Kavkaz-K4500 (<i>Stb7</i> , <i>Stb10</i> , <i>Stb12</i>)	3AS	Xgwm369	[29-31]
<i>Stb7</i>	Estanzuela Federal	4AL	Xwmc313, Xwmc219	[32]
<i>Stb8</i>	Sinthetic W7984	7BL	Xgwm146, Xgwm577	[33]
<i>Stb9</i>	Courtot, Tonic	2BL	Xfbb226, XksuF1b	[34]
<i>Stb10</i>	Kavkaz-K4500 (<i>Stb6</i> , <i>Stb7</i> , <i>Stb12</i>)	1Dc	Xgwm848	[35]
<i>Stb11</i>	TE9111 (<i>Stb6</i> , <i>Stb7</i>)	1BS	Xbarc008	[36]
<i>Stb12</i>	Kavkaz-K4500 (<i>Stb6</i> , <i>Stb7</i> , <i>Stb10</i>)	4AL	Xwmc219	[35]
<i>Stb13</i>	DHline98S05B*01, DHline98S08C*03, Salamouni (<i>Stb14</i>)	7BL	Xwmc396	[37]
<i>Stb14</i>	DHline98S08A*09, Salamouni (<i>Stb13</i>)	3BS	Xwmc500, Xwmc632	[37]
<i>Stb15</i>	Riband, Arina (<i>Stb6</i>)	6AS	Xpsr904	[38]
<i>Stb16q</i>	Synthetic W-7976	3DL	Xgwm494	[39]
<i>Stb17</i>		5AL	Xhbg247	[39]
<i>Stb18</i>	Balance	6DS	Xgpm5176, Xgpm3087	[40]
<i>Stb19</i>	Lorikeet	1D	snp_4909967, snp_1218021	[41]
<i>StbWW</i>	WW2449, WW1842, WW2451	1BS	Xbarc119b, Xwmc230, Xksum045	[42]
<i>StbSm3</i>	Salamouni (<i>Stb13</i> , <i>Stb14</i>)	3AS	barc321, barc12	[43]
<i>TmStb1</i>	MDR043 (<i>T. monococtum</i>)	7A ^m	Xbarc174	[44]

Таблица / Table

обозначенный как QTL, обеспечивал устойчивость проростков к 20 исследуемым изолятам *Z. tritici* [39].

Важным источником STB-устойчивости является линия **Кавказ-K4500, в которой выявлены гены *Stb6*, *Stb7*, *Stb10*, *Stb12* и неизвестный ген устойчивости к изоляту IPO32 на хромосоме 3A. Кавказ-K4500 характеризуется высоким уровнем полевой устойчивости к не менее чем пяти генотипам *Z. tritici* благодаря изолят-специфичным генам устойчивости, но высоко восприимчив к изолятам, которые вирулентны для всех его *Stb*-генов [35]. Эти данные свидетельствуют о том, что *Stb*-гены могут быть кластеризованы, а их пирамидирование в одном генотипе является полезным для селекции.**

Ген *Stb11*, идентифицированный в линии TE9111 на хромосоме 1BS, обеспечивает устойчивость к мексиканскому изоляту IPO90012 [36]. При этом близко к данному локусу расположены гены *Stb2* [25] и *StbWW* [42], но не установлено являются ли они одним геном, аллелями одного гена или же разными, но тесно связанными генами. Аналогично неизвестно, является ли ген *StbSm3* канадского сорта Salamouni, расположенный на хромосоме 3AS близко к локусу гена *Stb6*, аллелью этого широко распространённого гена. Помимо *StbSm3* у Salamouni выявлено ещё два гена устойчивости (*Stb13* и *Stb14*).

Достаточно распространённым *Stb*-геном в европейских сортах озимой пшеницы является ген *Stb15*, который обуславливает устойчивость к эфиопскому изоляту IPO88004. Однако, в отличие от *Stb6*, он связан с устойчивостью растений на стадии проростков [38]. Установлено, что ген *Stb18*, выявленный у сорта Balance, также стабильно экспрессируется только у проростков, хотя при взаимодействии *Stb18* с 30 изолятами *Z. tritici* разного географического происхождения, установлена его эффективность против пяти изолятов: IPO323, IPO89011 (Нидерланды), IPO98022, IPO98046 (Франция), IPO87016 (Уругвай) [40]. Не связан с устойчивостью взрослых растений и новый доминантный ген *Stb19*, обнаруженный на коротком плече хромосомы 1D у популяций F_{2,3} сортов Lorikeet и Summit, который был эффективен в отношении трёх изолятов патогена (WAI332, WAI251, WAI161) [41].

Высоким уровнем устойчивости к *Z. tritici* характеризуется диплоидная пшеница *T. monocosmum*. На основании взаимодействия устойчивой линии MDR043 и изолята IPO323 было выявлено, что устойчивость контролиру-

ется одним локусом (*TmStb1*), который сопоставлен с хромосомой 7A^m [44].

Необходимо заметить, что описанные данные получены на основании изучения взаимодействия как зарубежных изолятов патогена, так и зарубежных генотипов пшеницы. Эффективность генов устойчивости к септориозу по отношению к российским популяциям патогена изучена в меньшей степени. По данным ВНИИ фитопатологии, при использовании 240 изолятов патогена из различных регионов России, выявлена высокая частота вирулентности в отношении сортов с генами *Stb1*, *Stb5* и *Stb7* во всех популяциях *Z. tritici*. Гены *Stb2*, *Stb3*, *Stb4* показали высокую эффективность против изолятов из Центрального, Центрально-Черноземного и Северо-Западного районов. В отношении изолятов из Северо-Кавказского района и Поволжья эффективность этих генов существенно снижалась. Высокую степень эффективности против всех региональных популяций *Z. tritici* показали гены *Stb6* и *Stb8*. Сорта с этими генами рекомендованы для селекции на устойчивость к септориозу [46]. Согласно исследованиям [7], против изолятов *Z. tritici* из Центрально-Черноземного района эффективностью обладали гены *Stb1*, *Stb4*, *Stb5*, *Stb7*, гены *Stb2*, *Stb3* были менее эффективны.

Итак, гены специфической резистентности пшеницы к изолятам *Z. tritici* из разных регионов идентифицированы и картированы в различных сортах и селекционных линиях. Качественная устойчивость, обусловленная *Stb*-генами, представляет селекционный интерес из-за существенного фенотипического проявления, что обеспечивает быстрый отбор устойчивых форм [41]. Однако, в полевых условиях резистентность к STB обычно проявляется как количественный признак, контролируемый олиго- или полигенной системой. В работе [20] сообщается об идентификации 167 связанных с STB-устойчивостью QTLs, которые распределены по всему геному. Фенотипирование этих QTLs продемонстрировало их участие на разных стадиях развития заболевания [47].

Устойчивость к SNB. Селекция пшеницы на устойчивость к SNB является трудной задачей из-за сложного генетического контроля признака. В нескольких работах сообщается о выявлении единичных доминантных генов устойчивости, которые обнаружены в геноме родственных для *T. aestivum* видов. В линиях твёрдой пшеницы S3-6, S9-10, S12-1, полученных от *T. timopheevii*, идентифицирован ген

SnbTM, локализованный на хромосоме 3A [48], также несколько генов SNB-устойчивости выявлено в геноме *Aegilops tauschii* [49]. В то же время рядом исследований показано, что резистентность пшеницы к *P. nodorum* является количественной и обеспечивается множеством генов с аддитивным эффектом. В работе [50] суммированы данные о QTLs устойчивости пшеницы к *P. nodorum*, выявленных у проростков и взрослых растений с указанием исследованных генотипов хозяина и патогена, локализации локусов в геноме и сцепленных маркеров, а также ткани растения, где проявляется устойчивость.

Генетический анализ устойчивости взрослых растений яровой и озимой пшеницы выявил несколько минорных QTLs, взаимодействующих аддитивным образом, где экспрессия генов устойчивости во флаговом листе не зависит от таковой в колосковых чешуйках. Сообщается о пяти QTLs устойчивости флагового листа, которые обнаружены на хромосомах 1B, 2A, 2D, 5A, и 5B, и о четырёх QTLs устойчивости колосовых чешуек, локализованных на хромосомах 2D, 3B, 4B и 5A [50, 51].

С применением новых высокопроизводительных методов генетического анализа данные относительно устойчивости к SNB значительно пополняются. Так, в Австралии улучшены генетические карты трёх популяций пшеницы благодаря картированию однонуклеотидных полиморфизмов с помощью iSelect 90K wheat SNP array, для уточнения локусов, связанных с устойчивостью к SNB [51]. Также группой австралийских учёных методом полногеномного анализа ассоциаций (genome wide association studies – GWAS) изучено 295 генотипов пшеницы из коллекции ВИР. При инокуляции их штаммом *P. nodorum* тоxa 13 выявлено два новых QTLs, расположенных на 2DL и 7DL [52].

Говоря о контроле заболевания SNB, важно отметить не только механизмы устойчивости, но и чувствительности хозяина к патогену. Установлено, что *P. nodorum* продуцирует различные некротрофные эффекторы, вызывающие гибель тканей хозяина во время колонизации его грибом. Эффекторы *P. nodorum* взаимодействуют с продуктами соответствующих генов чувствительности пшеницы. Распознавание ими специфического эффектора приводит к возникновению заболевания. К настоящему времени идентифицировано девять генов некротрофных эффекторов *P. nodorum* и их взаимодействий

с генами восприимчивости хозяина. Эти данные также потенциально могут быть использованы в маркерной селекции для получения устойчивых сортов пшеницы [53].

Перспективы в селекции устойчивых сортов

Экспериментальные работы учёных разных стран позволили определить гены и локусы, связанные с устойчивостью пшеницы к STB и SNB. Эти близкие по симптомам и негативным последствиям заболевания, часто встречающиеся в поле на одном растении, имеют свои особенности в контроле устойчивости, обусловленные взаимодействием патогена и хозяина. Генетика устойчивости пшеницы к *Z. tritici* изучена детальнее, чем к *P. nodorum*. Стоит отметить, что большинство фунгицидов успешно справляются с SNB, и, несмотря на интенсивное использование, устойчивость к ним у *P. nodorum* обнаруживается редко [50]. В то время как для *Z. tritici* известно развитие устойчивости к фунгицидам разных классов [41], что требует первоочередных усилий в изучении устойчивости и внедрении этих данных в практическую селекцию пшеницы.

Устойчивость к обоим патогенам связана со сложным генетическим контролем и включает качественную и количественную составляющие. Необходимо заметить, что включение в селекционные программы качественных генов имеет свой значимый недостаток, так как сопротивление одного гена легко преодолевается быстро эволюционирующими популяциями патогена, как, например, для генов *Stb1* и *Stb4*. Однако для конструирования более длительной устойчивости можно использовать пирамидирование в одном сорте нескольких качественных и количественных генов резистентности [41].

Динамичность популяций, присущая обоим видам этих фитопатогенных грибов, требует постоянного выявления новых генов и QTLs устойчивости и изучения, лежащего в основе устойчивости механизма [47]. Чтобы помочь селекционерам создать эффективные к STB и SNB пирамиды генов, требуются детальные исследования для выявления тесно сцепленных генетических маркеров, которые позволят быстро и точно интегрировать устойчивость в новые сорта. SSR-маркеры, сцепленные с 12 *Stb*-генами [20], были реализованы в селекционных программах в Австралии, хотя немногие из этих генов до сих пор обеспечивают защиту от местной популяции *Z. tritici* [47]. Быстрое

развитие молекулярных технологий привело к внедрению маркерной селекции. Одним из последних достижений является переход от микросателлитных (SSR) к конкурентным аллель-специфичным ПЦР-маркерам (KASP), что повышает эффективность отбора с помощью маркеров. Такие маркеры разработаны для выявления гена *Stb19* [41].

Заключение

Итак, к настоящему времени уже накоплен существенный объём данных относительно молекулярно-генетической основы устойчивости *T. aestivum* к патогенным грибам *Z. tritici* и *P. nodorum*. В то же время в сравнении с другими заболеваниями пшеницы, генетика устойчивости к STB и SNB изучена недостаточно. Например, известно, что с устойчивостью только к бурой ржавчине связано более 100 генов пшеницы [54]. В настоящее время в мире активно продолжается изучение сложного взаимодействия патогена и хозяина при септориозе пшеницы на молекулярном уровне с применением самых современных методов и включает омиксные технологии, гено- и фенотипирование, а также биоинформационный подход к интерпритации полученных данных. Внедрение генно-молекулярных знаний в создание новых устойчивых сортов пшеницы носит пока ограниченный характер, но, несомненно, будет возрастать по мере дальнейшего расширения наших представлений о взаимодействии партнёров в данной патосистеме. Это будет способствовать не только повышению эффективности селекции пшеницы на иммунитет, но и снижению объёмов применения химических средств защиты растений, неконтролируемое использование которых оказывает значительное негативное воздействие на агроценозы [55].

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Разработка подходов к внедрению в процесс селекции зерновых культур и картофеля постгеномных методов в целях повышения их адаптивности и создания устойчивых микробно-растительных ассоциаций» № 0528-2019-0008.

References

1. Fones H., Gurr S. The impact of *Septoria tritici* blotch disease on wheat: An EU perspective // *Fungal Genetics and Biology*. 2015. V. 79. P. 3–7. doi: 10.1016/j.fgb.2015.04.004

2. Kolomiets T.M., Pancratova L.F., Pakholkova E.V. Varieties of wheat (*Triticum* L.) from collection of Grin (USA) for use in breeding for long-term resistance to *Septoria tritici* blotch // *Sel'skokhozyanstvennaya biologiya*. 2017. No. 3. P. 561–569 (in Russian). doi: 10.15389/agrobiology.2017.3.561rus

3. Kolomiets T.M., Pancratova L.F., Skatenok O.O., Pakholkova E.V. Creating a genbank of sources of wheat varieties resistance to *Septoria tritici* blotch // *Zashchita i karantin rasteniy*. 2015. No. 7. P. 44–46 (in Russian).

4. Giligan C.A. Sustainable agriculture and plant diseases: An epidemiological perspective // *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2008. No. 1492. P. 741–759. doi: 10.1098/rstb.2007.2481

5. Sanin S.S., Nazarova L.N., Strizhekozin Yu.A., Korneva L.G., Zhokhova T.P., Polyakova T.M., Koporova T.I. Phytosanitary situation on wheat crops in the Russian Federation (1991–2008) // *Zashchita i karantin rasteniy*. 2010. No. 2. P. 69–80 (in Russian).

6. Mycobank [Internet resource] <http://www.mycobank.org> (Accessed: 21.01.20).

7. Zeleneva Yu.V., Sudnikova V.P. The impact of variety on pathogenic properties of agent *Septoria tritici* Rob. et. Desm. in conditions of Central black earth area // *Voprosy sovremennoy nauki i praktiki*. Universitet im. V.I. Vernadskogo. 2014. No. 2 (51). P. 15–20 (in Russian).

8. Zeleneva Y.V., Afanasenko O.S., Studnikova V.P. The impact of the cultivated wheat varieties on frequency of septorioses pathogen occurrence // *Grain Economy of Russia*. 2019. No. 5. P. 71–76 (in Russian). doi: 10.31367/2079-8725-2019-65-5-71-76

9. Verkley G.J.M., Crous P.W., Groenewald J.Z., Braun U., Aptroot A. *Mycosphaerella punctiformis* revisited: morphology, phylogeny, and epitypification of the type species of the genus *Mycosphaerella* (Dothideales, Ascomycota) // *Mycological Research*. 2004. No. 108. P. 1271–1282. doi: 10.1017/S0953756204001054

10. Quaedvlieg W., Kema G.H.J., Groenewald J.Z., Verkley G.J.M., Seifbarghi S., Razavi M., Crous P.W. *Zymoseptoria* gen. nov.: a new genus to accommodate *Septoria*-like species occurring on graminicolous hosts // *Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*. 2014. No. 26. P. 57–69. doi: 10.3767/003158511X571841

11. Quaedvlieg W., Verkley G.J.M., Shin H.D., Barreto R.W., Alfenas A.C., Swart W.J., Crous P.W. Sizing up *Septoria* // *Studies in mycology*. 2013. No. 75. P. 307–390. doi: 10.3114/sim0017

12. Pakholkova E.V., Sal'nikova N.N., Akimova E.A., Sanina A.A. Features of the spread of pathogens of *Septoria tritici* blotch on wheat crops in the Russian Federation // *Current mycology in Russia*. V. 5. Fungal problems in agriculture. Part I. Moskva: Natsionalnaya akademiya mikologii, 2015. P. 107–108 (in Russian). doi: 10.14427/cmr.2015.v.10

13. Shamray S.N. *Mycosphaerella graminicola*: features of pathogen and pathogenesis // *Vestnik*

Khar'kovskogo natsional'nogo agrarnogo universiteta. Seriya: Biologiya. 2011. No. 2. P. 25–45 (in Russian).

14. Stancheva Y. Atlas of diseases of agricultural crops. Diseases of field crops. Pensoft: Sofia–Moskva, 2003. 175 p. (in Russian).

15. Scharen A.L. Biology of the *Septoria/Stagonospora* pathogens: an overview // Proceedings of the International Septoria Workshop. Mexico, 1999. P. 19–22.

16. Dyerova T.G., Shishkin N.V., Zhukova E.V. Distribution of Septoria spots in the Rostov region // Zashchita i karantin rasteniy. 2015. No. 4. P. 29–30 (in Russian).

17. Kovalenko E.D., Sanina A.A., Pakholkova E.V. Immunological methods of creating disease-resistant varieties of grain crops. 2. Species and internal-species structure of populations of septoria leaf spot on wheat crops // Agro XXI. 2000. No. 5. P. 10–11 (in Russian).

18. Tyryshkin L.G., Kolesova M.A. The Septoria leaf blotch. The sustainability of genetic resources of cereal crops to harmful organisms. Moskva: RASKHN, 2008. P. 112–120 (in Russian).

19. McDonald B.A., Mundt C.C., Zhan J. Population genetics of *Mycosphaerella graminicola* and *Phaeosphaeria nodorum* // Proceedings of the Fifth International Septoria Workshop. Septoria and Staganospora Diseases of Cereals: A compilation of Global Research. Mexico, 1999. P. 77–82.

20. Brown J.K., Chartrain L., Lasserre-Zuber P., Sain-tenac C. Genetics of resistance to *Zymoseptoria tritici* and applications to wheat breeding // Fungal Genetics and Biology. 2015. No. 79. P. 33–41. doi: 10.1016/j.fgb.2015.04.017

21. Palmer C.L., Skinner W. *Mycosphaerella graminicola*: latent infection, crop devastation and genomics // Molecular Plant Pathology. 2002. No. 2. P. 63–70. doi: 10.1046/j.1464-6722.2002.00100.x

22. Arraiano L.S., Balaam N., Fenwick P.M., Chapman C., Feuerhelm D., Howell P., Smith S.J., Widdowson J.P., Brown J.K.M. Contributions of disease resistance and escape to the control of Septoria tritici blotch of wheat // Plant Pathology. 2009. No. 58. P. 910–922. doi: 10.1111/j.1365-3059.2009.02118.x

23. Adhikari T.B., Yang X., Cavaletto J.R. Molecular mapping of *Stb1*, a potentially durable gene for resistance to Septoria tritici blotch in wheat // Theoretical and Applied Genetics. 2004. No. 109. P. 944–953. doi: 10.1007/s00122-004-1709-6

24. Abrinbana M., Mozafari J., Shams-bakhsh M., Mehrabi R. Resistance spectra of wheat genotypes and virulence patterns of *Mycosphaerella graminicola* isolates in Iran // Euphytica. 2012. No. 186. P. 75–90. doi: 10.1007/s10681-011-0493-z

25. Liu Y., Zhang L., Thompson I.A., Goodwin S.B., Ohm H. Molecular mapping re-locates the *Stb2* gene for resistance to Septoria tritici blotch derived from cultivar Veranopolis on wheat chromosome 1BS // Euphytica. 2012. No. 190. P. 145–156. doi: 10.1007/s10681-012-0796-8

26. Goodwin S.B., Cavaletto J.R., Hale I.L., Thompson I.A., Xu S.S., Adhikari T.B., Dubcovsky J. A new map

location of gene *Stb3* for resistance to Septoria tritici blotch in wheat // Crop Science. 2015. No. 55. P. 35–43. doi: 10.2135/cropsci2013.11.0766

27. Adhikari T.B., Cavaletto R., Dubcovsky J., Giego J., Schlatter A., Goodwin S.B. Molecular mapping of the *Stb4* gene for resistance to Septoria tritici blotch in wheat // Phytopathology. 2004. No. 94. P. 1198–1206. doi: 10.1094/PHYTO.2004.94.11.1198

28. Arraiano L.S., Worland A.J., Ellerbrook C., Brown J.K.M. Chromosomal location of a gene for resistance to Septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in the hexaploid wheat 'Synthetic 6x' // Theoretical and Applied Genetics. 2001. No. 103. P. 758–764. doi: 10.1007/s001220100668

29. Brading P.A., Verstappen E.C.P., Kema G.H.J., Brown J.K.M. A gen-for-gene relationship between wheat and *Mycosphaerella graminicola*, the Septoria tritici blotch pathogen // Phytopathology. 2002. No. 92. P. 439–445. doi: 10.1094/PHYTO.2002.92.4.439

30. Chartrain L., Brading P.A., Brown J.K.M. Presence of the *Stb6* gene for resistance to Septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in cultivars used in wheat-breeding programmes worldwide // Plant Pathology. 2005. No. 54. P. 134–143. doi: 10.1111/j.1365-3059.2005.01164.x

31. Arraiano L.S., Brown J. Identification of isolate-specific and partial resistance to Septoria tritici blotch in 238 European wheat cultivars and breeding lines // Plant Pathology. 2006. No. 55. P. 726–738. doi: 10.1111/j.1365-3059.2006.01444.x

32. McCartney C.A., Brûle-Babel A.L., Lamari L. Inheritance of race-specific resistance to *Mycosphaerella graminicola* in wheat // Phytopathology. 2002. No. 92. P. 138–144. doi: 10.1094/PHYTO.2002.92.2.138

33. Adhikari T.B., Anderson J.M., Goodwin S.B. Identification and molecular mapping of a gene in wheat conferring resistance to *Mycosphaerella graminicola* // Phytopathology. 2003. No. 93. P. 1158–1164. doi: 10.1094/PHYTO.2003.93.9.1158

34. Chartrain L., Sourdille P., Bernard M., Brown J.K.M. Identification and location of *Stb9*, a gene for resistance to Septoria tritici blotch in wheat cultivars Courtot and Tonic // Plant Pathology. 2009. No. 58. P. 547–555. doi: 10.1111/j.1365-3059.2008.02013.x

35. Chartrain L., Berry S.T., Brown J.K.M. Resistance of the wheat line Kavkaz-K4500 L.6 A.4 to Septoria tritici blotch is controlled by isolate-specific resistance genes // Phytopathology. 2005. No. 95. P. 664–671. doi: 10.1094/PHYTO-95-0664

36. Chartrain L., Joaquim P., Berry S.T., Arraiano L.S., Azanza F., Brown J.K.M. Genetics of resistance to Septoria tritici blotch in the Portuguese wheat breeding line TE 9111 // Theoretical and Applied Genetics. 2005. No. 110. P. 1138–1144. doi: 10.1007/s00122-005-1945-4

37. Cowling S.G., Brûle-Babel A.L., Somers D.J., Lamari L. Identification and mapping of host resistance genes to Septoria tritici blotch of wheat // Phytopathology. 2004. V. 94. P. S22.

38. Arraiano L.S., Chartrain L., Bossolini E., Slatter H.N., Keller B., Brown J.K.M. A gene in European wheat cultivars for resistance to an African isolate of *Mycosphaerella graminicola* // Plant Pathology. 2007. No. 56. P. 73–78. doi: 10.1111/j.1365-3059.2006.01499.x
39. Ghaffary S.M.T., Faris J.D., Friesen T.L., Visser R.G.F., van der Lee T.J., Robert O. New broad-spectrum resistance to Septoria tritici blotch derived from synthetic hexaploid wheat // Theoretical and Applied Genetics. 2012. No. 124. P. 125–142. doi: 10.1007/s00122-011-1692-7
40. Ghaffary S.M.T., Robert O., Laurent V., Lonnet P., Margalé E., van der Lee T.J. Genetic analysis of resistance to Septoria tritici blotch in the French winter wheat cultivars Balance and Apache // Theoretical and Applied Genetics. 2011. No. 123. P. 741–754. doi: 10.1007/s00122-011-1623-7
41. Yang N., McDonald M.C., Solomon P.S., Milgate A.W. Genetic mapping of *Stb19*, a new resistance gene to *Zymoseptoria tritici* in wheat // Theoretical and Applied Genetics. 2018. No. 131. P. 2765–2773. doi: 10.1007/s00122-018-3189-0
42. Raman R., Milgate A.W., Imtiaz M., Tan M.K., Raman H., Lisle C. Molecular mapping and physical location of major gene conferring seedling resistance to Septoria tritici blotch in wheat // Molecular Breeding. 2009. No. 24. P. 153–164. doi: 10.1007/s11032-009-9280-0
43. Cuthbert R. Molecular mapping of STB resistance in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). 2011. 139 p.
44. Jing H.C., Lovell D., Gutteridge R., Jenk D., Korniyukhin D., Mitrofanova O.P., Kema G.H.J., Hammond-Kosack K.E. Phenotypic and genetic analysis of the *Triticum monococcum* – *Mycosphaerella graminicola* interaction // New Phytologist. 2008. No. 179. P. 1121–1132. doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02526.x
45. Wilson R.E. Inheritance of resistance to *Septoria tritici* in wheat // Septoria of Cereals: Proc. Workshop. Montana State University, 1985. P. 33–35.
46. Pakholkova E.V., Salnikova N.N., Kurkova N.A. Genetic structure of regional populations of *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*), the septoria leaf blotch agent of wheat // Selskokhozyaystvennaya Biologiya. 2016. No. 5. P. 722–730 (in Russian). doi: 10.15389/agrobiol.2016.5.722rus
47. Figueroa M., Hammond-Kosack K.E., Solomon P.S. A review of wheat diseases – a field perspective // Molecular plant pathology. 2018. No. 6. P. 1523–1536. doi: 10.1111/mpp.12618
48. Ma H., Hughes G.R. Genetic control and chromosomal location of *Triticum timopheevii*-derived resistance to Septoria nodorum blotch in durum wheat // Genome. 1995. No. 2. P. 332–338. doi: 10.1139/g95-042
49. Murphy N.E., Loughman R., Wilson R., Lagudah E.S., Appels R., Jones M.G. Resistance to Septoria nodorum blotch in the *Aegilops tauschii* accession RL5271 is controlled by a single gene // Euphytica. 2000. No. 3. P. 227–231. doi: 10.1023/A:1003981525052
50. Francki M.G. Improving *Staganospora nodorum* resistance in wheat: a review // Crop science. 2013. V. 53. P. 355–365. doi: 10.2135/cropsci2012.06.0347
51. Francki M.G., Walker E., Li D.A., Forrest K. High-density SNP mapping reveals closely linked QTL for resistance to *Staganospora nodorum* blotch (SNB) in flag leaf and glume of hexaploid wheat // Genome. 2018. V. 61. No. 2. P. 145–149. doi: 10.1139/gen-2017-0203
52. Phan H.T., Rybak K., Bertazzoni S., Furuki E., Dinglasan E., Hickey L.T., Oliver R.P., Tan K.C. Novel sources of resistance to SNB in the Vavilov wheat collection identified by genome-wide association studies // Theoretical and Applied Genetics. 2018. No. 6. P. 1223–1238. doi: 10.1007/s00122-018-3073-y
53. Mehra L.K., Adhikari U., Ojiambo P.S., Cowger C. Septoria nodorum blotch of wheat // PreerJ Preprints. 2018. V. 6. P. e27039v2. doi: 10.7287/peerj.preprints.27039v2
54. Skolotneva E.S., Salina E.A. Resistance mechanisms involved in complex immunity of wheat against rust diseases // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2019. V. 23. No. 5. P. 542–550 (in Russian). doi: 10.18699/VJ19.523
55. Khairullin R.M., Burkhanova G.F., Sorokan A.V., Sarvarova E.R., Veselova S.V., Cherepanova E.A., Vologin S.G., Zamalieva F.F., Maksimov I.V. To the mechanisms of antiviral activity of *Bacillus* bacteria on potato plants // Theoretical and Applied Ecology. 2019. No. 4. P. 130–135 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-4-130-135

Распространение свалочного фильтрата в грунтовые воды

© 2020. А. Лонгобарди¹, профессор,
 А. Н. Елизарьев^{2,3}, к. г. н., декан, доцент,
 Э. С. Насырова², к. т. н., старший преподаватель,
 Е. Н. Елизарьева^{2,4}, к. т. н., доцент, Л. Ю. Кияшко⁵, специалист
 по интегрированной системе управления, К. Ю. Кабанов², студент,

¹Университет Салерно,
 84084, Италия, г. Салерно, ул. Джовани Паоло, д. 132,

²Уфимский государственный авиационный технический университет,
 450008, Россия, г. Уфа, ул. К. Маркса, д. 12,

³Институт водных проблем РАН,
 119333, Россия, г. Москва, ул. Губкина, д. 3,

⁴Башкирский государственный университет,
 450076, Россия, г. Уфа, ул. З. Валиди, д. 32,

⁵ООО «Башнефть-Сервис»,
 450018, Россия, г. Уфа, ул. Элеваторная, д. 17,
 e-mail: ElinaSagitovna@yandex.ru

Для моделирования инфильтрации образующегося свалочного фильтрата через существующие слои с учётом природно-климатических условий на полигоне «Новые Черкассы» (г. Уфа, Россия) использована программа HELP. Движение токсичной жидкости, просачивающейся через слой отходов полигона в профиль грунта, смоделировано в программе HYDRUS. Полученные результаты моделирования данных за 10 лет в программе HELP показали, что в среднем ежедневно на полигоне «Новые Черкассы» образуется 341 м³ фильтрата. Повышенное количество фильтрата обусловлено возрастом полигона и отсутствием защитных мер по предотвращению инфильтрации фильтрата в почву. Выявлена сезонность в образовании фильтрата на полигоне. Отмечено отсутствие фильтрата зимой и залповый выброс весной, обусловленный интенсивным снеготаянием. Расчёты показали, что за период эксплуатации полигона «Новые Черкассы» токсичные массы распространились более чем на 7 км.

Ключевые слова: полигон, твёрдые коммунальные отходы, фильтрат, загрязнение, грунтовые воды, программы HELP и HYDRUS.

Spread of landfill leachate into groundwater

© 2020. A. Longobardi¹ ORCID: 0000-0002-1575-0782, A. N. Elizaryev^{2,3} ORCID: 0000-0002-5612-8121,
 E. S. Nasyrova² ORCID: 0000-0002-7642-4286, E. N. Elizaryeva^{2,4} ORCID: 0000-0001-5297-5561,
 L. U. Kiyashko⁵ ORCID: 0000-0003-2215-445X, K. U. Kabanov² ORCID: 0000-0001-9472-1164,

¹University of Salerno,
 132, Via Giovanni Paolo II, Salerno, Italy, 84084,

²Ufa State Aviation Technical University,
 12, K. Marksa St., Ufa, Russia, 450018,

³Water Problems Institute, Russian Academy of Sciences,
 3, Gubkina St., Moscow, Russia, 119333,

⁴Bashkir State University,
 32, Z. Validi St., Ufa, Russia, 450076,

⁵Bashneft-Service company,
 17, Elevatoray St., Ufa, Russia, 450018,
 e-mail: ElinaSagitovna@yandex.ru

“Novyye Cherkassy” (Ufa, Russia). The HELP program is used to simulate the leachate infiltration through existing landfill layers. To simulate the movement of a toxic liquid seeping through the waste layer into the soil profile, the HYDRUS program is used. Results of 10 years hydrologic evaluation by HELP program showed that the volume of filtrate formed is 344 m³/day. Comparison of the result obtained with the works of other authors showed that the increased filtrate value is due to the landfill age (the landfill is as old as 56 years) and the lack of protective measures for prevention infiltration into the soil. The seasonality in the leachate formation at the landfill is revealed. There is no leachate in the winter (negative temperature) but in the spring volley receipt caused by snowmelt (positive temperature) occurs. In the summer months, evapotranspiration was about 77% of the total precipitation, while infiltration did not exceed 7%. In the autumn month’s evapotranspiration was only 30–40%, while infiltration increased up to 16%. The calculations showed that during landfill operation toxic mass has spread over 7 km. To prevent further environmental impact, it is necessary to close the landfill or remediate it.

Keywords: landfill, solid municipal waste, leachate, pollution, groundwater, HELP and HYDRUS programs.

В современном мире часть твёрдых коммунальных отходов (ТКО) подвергается переработке или компостированию, некоторая сжигается, но большая часть размещается на полигонах. Например, Китай производит самое большое количество ТКО в мире, поэтому вопрос утилизации отходов для них является приоритетным [1]. В Индии распространённой проблемой являются неконтролируемые свалки [2] также, как и в других странах.

Многие свалки построены несколько десятилетий назад и не соответствуют современным требованиям. Они спроектированы без мембран или систем сбора фильтрата [3–5]. В связи с этим неизбежно возникают утечки на полигонах, оказывающие негативное воздействие на окружающую среду [6].

Конечным приёмником большинства видов загрязнителей является гидросфера, поэтому рост объектов складирования отходов на водосборной площади оказывает на неё наибольшее воздействие [7–9]. Например, авторы работы [2] проанализировали 60 проб подземных вод по 22 физико-химическим показателям в разные сезоны года и большинство проб не соответствовали нормативам, предъявляемым к питьевой воде. Проведённый анализ в работе [5] показал высокие значения Си и Рв в подземных водах. Также в работе [10] указано на «очень плохое» качество подземных вод в окрестностях полигонов в Китае.

Основными проблемами при управлении отходами являются:

- Существенные территориальные различия в объёме образования ТКО [10, 11]. Например, объём ТКО в Индии от 0,3 до 1,5 кг в сутки на человека, и это значение увеличивается со скоростью 1,0–1,3% ежегодно [12]. Нигерия ежедневно производит 0,58 кг твёрдых отходов на человека [13].

- Морфологический состав ТКО [9, 12, 14].

Загрязняющие вещества (ЗВ) в составе отходов при захоронении перемешиваются с выпадающими осадками. Это приводит

к извлечению водорастворимых соединений и твёрдых частиц из отходов, с последующим образованием фильтрата. Результаты анализа фильтрата в работе [15] показали, что высокий уровень углерода (10,0–12,0 мг/л) и азота (2000–3000 мг/л) характерен для фильтратов с полигонов возрастом 5–10 лет.

Авторы в своих работах предлагают различные подходы для оценки инфильтрации через существующие слои на полигоне:

- авторами [16] предложена методика оценки массы вытекающих ЗВ и интенсивности поступления ЗВ в насыщающий слой, однако этот метод не применим для пористой среды;

- в работе [13] степень инфильтрации фильтрата на полигоне оценивали методами электрического сопротивления;

- авторами [17] разработана простая модель водного баланса полигона, связывающая осадки, эвапотранспирацию, инфильтрацию и дренаж фильтрата. Однако теоретические результаты значительно отличаются от экспериментальных;

- в работе [18] предложен алгоритм анализа фильтрата в контексте изменения геологического строения, гидрогеологических и гидрологических условий вблизи полигона, но авторами рассматривается только период без осадков.

Для моделирования антропогенного воздействия на окружающую среду разработаны различные программные продукты. Среди имитационных программ для оценки образования фильтрата рассмотрены две: HELP и HYDRUS. «Hydrologic Evaluation of Landfill Performance (HELP)» разработана Агентством по защите окружающей среды США. Модель, используемая в программе HELP, учитывает такие важные параметры, как структура почвы и объём растительности на территории складирования. Она является наиболее обоснованной для оперативной оценки и позволяет оценить как среднемесячные, так и

среднегодовые значения объёма образования фильтрата.

Программа HYDRUS (авторы J. Simunek, M.Th. Van-Genuchten, M. Seina – www.hydrus2d.com) моделирует движение воды, тепла и растворённого вещества в одномерных переменном насыщенном средах. Она также может использоваться для анализа движения воды и растворённого вещества в ненасыщенных, частично насыщенных или полностью насыщенных пористых средах. Область течения может состоять из нескольких типов почв. В программе учитываются поток и транспортировка в вертикальном, горизонтальном или в целом наклонном направлении.

В работе [19] автор указывает на то, что многофакторная зависимость объёма образования утечек от структурных и эксплуатационных особенностей полигона, от природных и климатических условий территории, является основной причиной отсутствия единого методологического подхода для оценки объёма фильтрата.

Цель работы – определение скорости инфильтрации образующегося свалочного фильтрата с учётом природно-климатических условий на примере полигона «Новые Черкассы» (г. Уфа, Россия).

Объект исследования

Полигон «Новые Черкассы» образован в 1962 г. на месте битумных ям и эксплуатируется в настоящее время. На полигоне не предусмотрено никаких защитных мер по предотвращению инфильтрации фильтрата в почву (геомембраны, дренаж или специальные укрытия отходов от попадания осадков).

Характеристики полигона:

- площадь территории складирования – 102 га;
- средняя высота складированного массива ТКО – 10 м;
- масса складированного массива ТКО – 3,5 млн т;
- среднемесячное поступление ТКО в течение года – 1300 тыс. м³;
- плотность складированных ТКО – 0,5 т/м³;
- влажность ТКО, поступающих на складирование – 80%.

Полигон «Новые Черкассы» расположен в северной части г. Уфы в пределах так называемого «Уфимского полуострова» (Бельско-Уфимская водораздельная равнина) (рис. 1) [19].



Рис. 1. Карта расположения полигона ТКО «Новые Черкассы» (г. Уфа)
Fig. 1. Map of the landfill “Novye Cherkassy” (Ufa)

С западной и северо-западной стороны территория полигона ограничена р. Шугуровка и её левым притоком – ручей Стеклянка, с восточной и юго-восточной границы полигона протекает ручей Фирсов овраг (левый приток р. Шугуровка). Сток атмосферных осадков с участка полигона осуществляется в р. Шугуровка и ручей Фирсов овраг. Склоны водотоков крутые, слабо задернованные. В ручей Фирсов овраг поступает основная часть загрязнённых поверхностных вод.

Климат района (по данным метеостанции «Уфа-Дема») континентальный, амплитуды колебаний температуры воздуха по многолетним данным достигают 88 °С (от -49 °С до +39 °С). Среднемесячная температура января составляет -14,9 °С, а июля – +18,9 °С; средне-многолетняя годовая температура +2,8 °С. Средняя продолжительность безморозного периода равняется 128 дням (варьируется в диапазоне 76–176 дней/год) [20].

Температурный режим почвы в целом повторяет годовой ход температуры воздуха. Среднегодовая температура почвы +4 °С; колеблется от -16 °С в январе до +24 °С в июле. Средняя глубина промерзания почвы составляет 94 см (варьируется в диапазоне 63–130 см).

Территория полигона относится к зоне достаточного увлажнения (гидротермический коэффициент около 1,1, относительная влажность воздуха 75%). В среднем годовая сумма осадков составляет 566 мм, отмечает-

ся до 0,5 дней с осадками 30,0 мм, до 3 дней с осадками более 20 мм, до 34 дней с осадками более 5,0 мм. Основание полигона слагают породы четвертичного, неогенового и пермского возраста.

Методы исследования

Для моделирования инфильтрации загрязнённой воды через существующие слои на полигоне использована программа HELP. Оценка объёма образования фильтрата, а также глубина инфильтрации проводилась в дождливый и зимний периоды. Для исследования выбран промежуток в 10 лет (с января 2007 г. по декабрь 2016 г.). В качестве вертикального инфильтрационного слоя выбран слой ТК0 высотой в 10 м. Профиль почвы состоит из суглинков, песчаников, глины и супесей. Индекс растительности выбран для характеристики фитоценоза. Данные о выпадении атмосферных осадков по станции «Уфа-Дема» с 2007 по 2016 гг. введены в программу вручную.

Для моделирования движения токсичной жидкости, просачивающейся через слой отходов в профиль грунта использована программа HYDRUS. Для имитации движения токсичной жидкости в профиле почвы взяты суточные

выходные данные из программы HELP и смоделированы слои профиля грунта.

Результаты и обсуждение

Среднегодовые значения показателей за 2007–2016 гг., полученные в программе HELP приведены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, почти 20% стока направляется в окружающие водные объекты, а образующиеся 21% фильтрата просачиваются в почву. В среднем на полигоне за сутки образуется 341 м³ фильтрата.

Например, в работе [21] авторы утверждают, что среднесуточное количество фильтрата составляет около 38 м³ для полигона возрастом 25 лет.

Как видно из таблицы 2, наблюдается симбатное изменение количества выпавших осадков и количества образовавшегося фильтрата, частично антисимбатное изменение поверхностного стока и количества образовавшегося фильтрата.

На большей части площади распространения горизонта грунтовых вод коэффициент фильтрации равен 0,1–0,5 м/сут. Движение потока грунтовых вод происходит с северо-востока на юг и на запад.

Среднегодовые значения показателей (2007–2016 гг.)
Average annual totals (2007–2016 years)

Таблица 1 / Table 1

Показатель / Parameter	мм / mm	м ³ / m ³	%
Осадки / Precipitation	566,2	5777534,4	100
Поверхностный сток / Runoff	109,0	111188,2	19,3
Эвапотранспирация / Evapotranspiration	337,7	344476,2	59,6
Образование фильтрата / Filtrate	122,1	124527,4	21,5

Ежегодные значения по основным признакам на территории полигона (мм)
Annual values of the main hydrological parameters on the landfill territory (mm)

Таблица 2 / Table 2

Год / Year	Осадки / Precipitation	Поверхностный сток / Runoff	Эвапотранспирация / Evapotranspiration	Образование фильтрата / Filtrate	Водный баланс / Water balance
2016	504,9	124,4	304,2	76,25	0,0001
2015	614,5	102,5	374,0	136,54	-0,0151
2014	540,5	125,4	283,3	133,64	0,0057
2013	645,6	143,8	369,0	126,03	-0,0046
2012	649,9	116,9	385,1	182,35	0,0033
2011	638,2	84,7	373,6	127,13	0,0160
2010	414,1	114,5	242,4	71,78	-0,0093
2009	507,0	23,8	359,4	165,85	-0,0045
2008	539,7	123,9	342,9	107,83	-0,0036
2007	607,7	130,2	343,3	93,47	-0,0075

Вертикальный перетёк загрязнённых грунтовых вод в уфимский водоносный комплекс колеблется от 0,1 до 3,0 м³/сут. Он, в первую очередь, определяется высоким градиентом фильтрации (до 2,0 ед.) и позволяет проникать супертоксикантам на глубину до 100 м, вплоть до регионального водоупора. В подобной ситуации не исключаются дальние переносы ЗВ в трещиноватых и закарстованных уфимских и кунгурских отложениях до р. Шугуровка и даже до р. Уфа.

Как показал анализ карты-схемы гидроизогипса и распространения грунтовых вод в междуречье р. Шугуровка – руч. Фирсов овраг, движение потока грунтовых вод в районе расположения полигона «Новые Черкаassy» в основном происходит в сторону р. Шугуровка и руч. Фирсов овраг, причём градиент напора загрязнённых грунтовых вод в сторону руч. Фирсов овраг выше (0,07), чем в сторону руч. Стеглянка (0,05) и р. Шугуровка (0,04). В качестве примера в таблице 3 приведены месячные значения для 2016 г.

Данные из таблицы 3 показывают, что фильтрат не образуется в период сильных заморозков (январь, февраль). А после схода снега образуется залповое поступление (апрель) свалочного фильтрата. Подобные результаты получены в работе [14], где авторами выделены значительные сезонные различия в физико-химическом составе фильтрата.

В соответствии с полученными значениями расчёта в программе HELP, установлено, что основная масса влаги собирается в весен-

ний и осенний периоды. При этом, максимальное значение зафиксировано после схода снега: объём образовавшегося свалочного фильтрата 0,060 м/день.

Принимая во внимание тот факт, что грунтовые воды залегают в основном на глубине 2,0–4,0 м, моделирование, выполненное программой, показало, что время достижения ЗВ до уровня грунтовых вод не превышает 100 дней, при учёте того, что на территории полигона преобладают суглинки.

Перенос загрязнений подводными течениями за 10 лет достигает 1,3 км. За 56 лет эксплуатации полигона токсичные массы распространились более чем на 7 км и повлекли за собой высокий уровень загрязнения окружающей среды и всех прилегающих водных объектов. Учитывая, что расстояние от зоны складирования до ручья Фирсов овраг составляет менее 0,5 км, можно предположить, что загрязнение уже накопилось в донных отложениях. Например, в работе [9] по результатам 10-летних гидрологических данных с использованием программы HELP средняя скорость просачивания фильтрата составила 1,095 м в год.

Для предотвращения дальнейшего воздействия на окружающую среду единственным способом является окончательное закрытие свалки или рекультивация. Также в работе [22] авторы указывают на то, что на старых полигонах (более 25 лет) наблюдались высокие значения электропроводности, содержание хлоридов, аммония, бора и железа в фильтрате и этот полигон близок к закрытию.

Таблица 3 / Table 3

Месячные показатели вычислений (мм) для 2016 г.
Monthly totals (mm) for 2016 year

Месяц Month	Осадки Precipitation	Поверхностный сток Runoff	Испарение Actual evapo- transpiration	Инфильтрация Infiltration
Январь / January	42,5	0,00	5,22	0,000
Февраль / February	11,7	0,00	3,60	0,000
Март / March	19,7	4,33	16,79	0,000
Апрель / April	49,2	78,33	41,16	43,641
Май / May	36,8	0,15	29,40	14,106
Июнь / June	92,1	0,27	72,34	0,000
Июль / July	81,2	22,73	63,22	5,815
Август / August	21,1	0,31	20,89	0,066
Сентябрь / September	89,8	7,52	37,55	15,182
Октябрь / October	122,3	3,19	42,99	25,727
Ноябрь / November	44,2	0,05	22,08	54,017
Декабрь / December	39,3	0,00	9,84	23,799

Заключение

Полученные результаты за 10 лет в программе HELP показали, что в среднем ежедневно на полигоне образуется 341 м³ фильтрата. Сравнение полученных результатов с работами других авторов показало, что повышенное значение фильтрата обусловлено возрастом полигона (время действия полигона – 56 лет) и отсутствием защитных мер по предотвращению инфильтрации фильтрата в почву. При этом 21% фильтрата просачивается в почву. В расчёте учитывались природно-климатические особенности территории.

Выявлена сезонность в образовании фильтрата на полигоне, связанная с климатическими особенностями рассматриваемого региона. Отмечено отсутствие фильтрата зимой (отрицательная температура воздуха) и залповый выброс весной, вызванной снеготаянием (положительная температура воздуха). В летние месяцы эвапотранспирация составила около 77% от общего количества выпавших осадков, при этом инфильтрация не превысила 7%. В осенние месяцы эвапотранспирация составила только 30–40%, в то время как инфильтрация увеличилась до 16%.

Перенос загрязнённых потоков начинается с того момента, когда фильтрат достигает уровня грунтовых вод и составляет в нашем экспериментальном поле около 60–70 дней, в зависимости от глубины залегания подземных вод. Расчёты показали, что за период эксплуатации полигона ТКО токсичные массы распространились более чем на 7 км. Для предотвращения дальнейшего воздействия на окружающую среду единственным способом является окончательное закрытие полигона или его рекультивация.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда (грант № 17-77-30006).

Литература

1. Havukainen J., Zhan M., Dong J., Liikanen M., Deviatkin I., Li X., Horttanainen M. Environmental impact assessment of municipal solid waste management incorporating mechanical treatment of waste and incineration in Hangzhou, China // *Journal of Cleaner Production*. 2017. No. 141. P. 453–461.
2. De S., Maiti S., Hazra T., Dutta A. Evaluation of the impact of landfill leachate on groundwater quality in Kolkata, India // *Pollution*. 2017. No. 3 (3). P. 443–452.

3. Shevchenko A., Konon N., Tskhovrebov E., Velichko E. Innovative technologies of liquid media treatment in the system of ecological and sanitary-hygienic control of waste landfills // *MATEC Web of Conferences*. 2017. No. 106. P. 1–7.

4. Каган П.Б., Хоркина Ж.А., Зуева А.В. Мониторинг градостроительного развития городских территорий, в том числе с использованием информационных технологий // *Инженерно-строительный журнал*. 2012. № 9 (35). С. 3–8.

5. Krčmar D., Tenodi S., Grba N., Kerkez D., Watson M., Rončević S., Dalmacija B. Preremedial assessment of the municipal landfill pollution impact on soil and shallow groundwater in Subotica, Serbia // *Science of the total environment*. 2018. No. 615. P. 1341–1354.

6. Ахтямов П.Г., Титова Т.С. Геоэкологические проблемы обеспечения безопасности при обращении с отходами. Saarbrücken: LAP LAMBERT, 2016. 109 с.

7. Чечевичкин В.Н., Ватин Н.И. Особенности состава и очистки поверхностного стока крупных городов // *Инженерно-строительный журнал*. 2014. № 6 (50). С. 67–74.

8. Boateng T.K., Samuel F.O., Acquah O., Akoto O. Groundwater quality assessment using statistical approach and water quality index in Ejisu-Juaben Municipality, Ghana // *Environmental Earth Science*. 2016. No. 75. P. 489–503.

9. Nakhaei M., Amiri V., Rezaei K., Moosaei F. An investigation of the potential environmental contamination from the leachate of the Rasht waste disposal site in Iran // *Bulletin of Engineering Geology and the Environment*. 2015. No. 74. P. 233–246.

10. Han Z., Ma H., Shi G., Li He, Wei L., Shi Q. A review of groundwater contamination near municipal solid waste landfill sites in China // *Science of the Total Environment*. 2016. No. 569–570. P. 1255–1264.

11. Aslani H., Taghipour H. Seasonal characterization and quantification of municipal solid waste: energy content and statistical analysis // *Journal of Advances in Environmental Health Research*. 2018. No. 6. P. 34–43.

12. Pandey B.K., Vyas S., Pandey M., Gaur A. Characterisation of municipal solid waste generated from Bhopal, India // *Current Science Perspectives*. 2016. No. 2 (3). P. 52–56.

13. Mosuro G.O., Omosanya K.O., Bayewu O.O., Oloruntola M.O., Laniyan T.A., Atobi O., Okubena M., Popoola E., Adekoya F. Assessment of groundwater vulnerability to leachate infiltration using electrical resistivity method // *Applied Water Science*. 2017. No. 7. P. 2195–2207.

14. Mavakala B.K., Faucheur S., Mulaji C.K., Laffite A., Devarajan N., Biey E.M., Giuliani G., Otamonga J., Kabatusuila P., Mpiana P.T., Poté J. Leachates draining from controlled municipal solid waste landfill: Detailed geochemical characterization and toxicity tests // *Waste management*. 2016. No. 55. P. 238–248.

15. Naveen B.P., Mahapatra D.M., Sitharam T.G., Sivapullaiah P.V., Ramachandra T.V. Physico-chemical

and biological characterization of urban municipal landfill leachate // *Environmental Pollution*. 2017. No. 220 (A). P. 1–12.

16. Szymański K., Janowska B., Iżewska A., Sidelko R., Siebielska I. Method of evaluating the impact of landfill leachate on groundwater quality // *Environmental Monitoring and Assessment*. 2018. No. 190. P. 415–423.

17. Heimovaara T.J., Bun A., Van Turnhout A.G. Water balance modeling for estimation of residence time of water in a full-scale landfill using a data-assimilation approach // *InHPM6: The 6th International Workshop Hydro-Physico-Mechanics of Landfills*, Delft, The Netherlands, 14–17 April 2015.

18. Giang N.V., Kochanek K., Vu N.T., Duan N.B. Landfill leachate assessment by hydrological and geophysical data: case study NamSon, Hanoi, Vietnam // *Journal of Material Cycles and Waste Management*. 2018. No. 20. P. 1648–1662.

19. Кияшко И.Ю. Геоэкологическая оценка влияния складирования отходов на водные объекты (на примере Республики Башкортостан): дис. ... канд. геогр. наук. Казань, 2011. 232 с.

20. Afanasev I., Volkova T., Elizaryev A., Longobardi A. Analysis of interpolation methods to map the long-term annual precipitation spatial variability for the Republic of Bashkortostan, Russian Federation // *WSEAS Transactions on Environment and Development*. 2014. No. 1 (10). P. 405–416.

21. Nebojša K., Siniš C., Dunović S. Determining leachate quantity at Brijesnica regional sanitary landfill in Bijeljina // *Archives for Technical Sciences*. 2015. No. 13 (1). P. 67–72.

22. Talalaj I.A. Mineral and organic compounds in leachate from landfill with concentrate recirculation // *Environmental Science and Pollution Research*. 2015. No. 4 (22). P. 2622–2633.

References

1. Havukainen J., Zhan M., Dong J., Liikanen M., Deviatkin I., Li X., Horttanainen M. Environmental impact assessment of municipal solid waste management incorporating mechanical treatment of waste and incineration in Hangzhou, China // *Journal of Cleaner Production*. 2017. No. 141. P. 453–461. doi: 10.1016/j.jclepro.2016.09.146

2. De S., Maiti S., Hazra T., Dutta A. Evaluation of the impact of landfill leachate on groundwater quality in Kolkata, India // *Pollution*. 2017. No. 3 (3). P. 443–452. doi: 10.7508/PJ.2017.03.009

3. Shevchenko A., Konon N., Tskhovrebov E., Veličko E. Innovative technologies of liquid media treatment in the system of ecological and sanitary-hygienic control of waste landfills // *MATEC Web of Conferences*. 2017. No. 106. P. 1–7. doi: 10.1051/mateconf/201710607005

4. Kagan P.B., Khorokina Zh.A., Zueva A.V. Monitoring of urban development of urban areas, including the

use of information technology // *Inzhenerno-stroitelnyy zhurnal*. 2012. No. 9 (35). P. 3–8 (in Russian).

5. Krčmar D., Tenodi S., Grba N., Kerkez D., Watson M., Rončević S., Dalmacija B. Preremedial assessment of the municipal landfill pollution impact on soil and shallow groundwater in Subotica, Serbia // *Science of the total environment*. 2018. No. 615. P. 1341–1354. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.09.283

6. Akhtyamov R.G., Titova T.S. Geoecological problems of safety in waste management. Saarbrücken: LAP LAMBERT, 2016. 109 p. (in Russian).

7. Chechevichkin V.N., Vatin N.I. Features of the composition and treatment of large cities surface runoff // *Inzhenerno-stroitelnyy zhurnal*. 2014. No. 6 (50). P. 67–74 (in Russian). doi: 10.5862/MCE.50.7

8. Boateng T.K., Samuel F.O., Acquah O., Akoto O. Groundwater quality assessment using statistical approach and water quality index in Ejisu-Juaben Municipality, Ghana // *Environmental Earth Science*. 2016. No. 75. P. 489–503. doi: 10.1007/s12665-015-5105-0

9. Nakhaei M., Amiri V., Rezaei K., Moosaei F. An investigation of the potential environmental contamination from the leachate of the Rasht waste disposal site in Iran // *Bulletin of Engineering Geology and the Environment*. 2015. No. 74. P. 233–246. doi: 10.1007/s10064-014-0577-9

10. Han Z., Ma H., Shi G., Li He, Wei L., Shi Q. A review of groundwater contamination near municipal solid waste landfill sites in China // *Science of the Total Environment*. 2016. No. 569–570. P. 1255–1264. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.06.201

11. Aslani H., Taghipour H. Seasonal characterization and quantification of municipal solid waste: energy content and statistical analysis // *Journal of Advances in Environmental Health Research*. 2018. No. 6. P. 34–43. doi: 10.22102/jaehr.2018.105728.1053

12. Pandey B.K., Vyas S., Pandey M., Gaur A. Characterisation of municipal solid waste generated from Bhopal, India // *Current Science Perspectives*. 2016. No. 2 (3). P. 52–56.

13. Mosuro G.O., Omosanya K.O., Bayewu O.O., Oloruntole M.O., Laniyan T.A., Atobi O., Okubena M., Popoola E., Adekoya F. Assessment of groundwater vulnerability to leachate infiltration using electrical resistivity method // *Applied Water Science*. 2017. No. 7. P. 2195–2207. doi: 10.1007/s13201-016-0393-4

14. Mavakala B.K., Faucheur S., Mulaji C.K., Laffite A., Devarajan N., Biey E.M., Giuliani G., Otamonga J., Kabatusuila P., Mpiana P.T., Poté J. Leachates draining from controlled municipal solid waste landfill: Detailed geochemical characterization and toxicity tests // *Waste management*. 2016. No. 55. P. 238–248. doi: 10.1016/j.wasman.2016.04.028

15. Naveen B.P., Mahapatra D.M., Sitharam T.G., Sivapullaiah P.V., Ramachandra T.V. Physico-chemical and biological characterization of urban municipal landfill

leachate // *Environmental Pollution*. 2017. No. 220 (A). P. 1–12. doi: 10.1016/j.envpol.2016.09.002

16. Szymański K., Janowska B., Izewska A., Siedłko R., Siebielska I. Method of evaluating the impact of landfill leachate on groundwater quality // *Environmental Monitoring and Assessment*. 2018. No. 190. P. 415–423. doi: 10.1007/s10664-018-6776-2

17. Heimovaara T.J., Bun A., Van Turnhout A.G. Water balance modeling for estimation of residence time of water in a full-scale landfill using a data-assimilation approach // *InHPM6: The 6th International Workshop Hydro-Physico-Mechanics of Landfills*, Delft, The Netherlands, 14–17 April 2015.

18. Giang N.V., Kochanek K., Vu N.T., Duan N.B. Landfill leachate assessment by hydrological and geophysical data: case study NamSon, Hanoi, Vietnam // *Journal of Material Cycles and Waste Management*. 2018. No. 20. P. 1648–1662. doi: 10.1007/s10163-018-0732-7

19. Kiyashko I.Yu. Geoecological assessment of waste storage impact on water bodies (on the example Republic of Bashkortostan): Diss. ... kand. geograph. nauk. Kazan, 2011. 232 p. (in Russian).

20. Afanasev I., Volkova T., Elizaryev A., Longobardi A. Analysis of interpolation methods to map the long-term annual precipitation spatial variability for the Republic of Bashkortostan, Russian Federation // *WSEAS Transactions on Environment and Development*. 2014. No. 1 (10). P. 405–416.

21. Nebojša K., Siniš C., Dunović S. Determining leachate quantity at Brijesnica regional sanitary landfill in Bijeljina // *Archives for Technical Sciences*. 2015. No. 13 (1). P. 67–72.

22. Talalaj I.A. Mineral and organic compounds in leachate from landfill with concentrate recirculation // *Environmental Science and Pollution Research*. 2015. No. 4 (22). P. 2622–2633. doi: 10.1007/s11356-014-3533-0

Использование математических моделей для оценки сорбционных способностей высших грибов и активированного угля по отношению к ионам меди (II)

© 2020. С. Г. Скугорева^{1,2}, к. б. н., доцент, н. с.,
Г. Я. Кантор^{1,2}, к. т. н., н. с., А. В. Жукова¹, студент,

¹Вятский государственный университет,
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,

²Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
167982, Россия, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,
e-mail: skugoreva@mail.ru, grigory_kantor@mail.ru, azhukova98@gmail.com

Целью работы было оценить сорбционные способности высших грибов шампиньона двуспорового *Agaricus bisporus* и сыроежки волнистой *Russula atropurpurea*, а также традиционного сорбента – активированного угля (АУ) по отношению к Cu^{2+} с использованием математических моделей: моделей кинетики сорбции и изотермы сорбции.

Модель псевдо-второго порядка хорошо описывает кинетику сорбции ионов Cu^{2+} препаратами из плодовых тел высших грибов и АУ. Данная модель основана на том, что процесс сорбции лимитирует химическая реакция между сорбатом и сорбентом. По параметрам кинетической модели построен ряд сорбентов по снижению сорбционной активности по отношению к Cu^{2+} : *A. bisporus* > *R. atropurpurea* > АУ. Различия в скорости сорбции меди исследуемыми сорбентами были более существенны, чем ёмкости сорбции. С ростом начальной концентрации ионов Cu^{2+} в растворе ёмкость сорбции линейно увеличивалась, а скорость – снижалась. В ходе сорбции Cu^{2+} всеми исследованными сорбентами возрастал рН раствора, который хорошо коррелировал с показателем концентрации ионов меди (II), что может косвенно свидетельствовать об ионообменном механизме сорбции. Экспериментальная изотерма сорбции Cu^{2+} высшими грибами и АУ хорошо описывается уравнением Фрейндлиха. Ряд сорбентов по сорбционным способностям, построенный исходя из параметров данной модели, полностью совпал с рядом по кинетической модели.

Ключевые слова: высшие грибы, препарат из плодового тела, ионы меди(II), сорбция, кинетика сорбции, изотерма сорбции, рН.

The use of mathematical models to assess the sorption abilities of higher mushrooms and activated carbon in relation to copper(II) ions

© 2020. S. G. Skugoreva^{1,2} ORCID: 0000-0002-5902-5187²

G. Ya. Kantor^{1,2} ORCID: 0000-0002-6462-6702²

A. V. Zhukova¹ ORCID: 0000-0002-2596-1989²

¹Vyatka State University,

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

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

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

e-mail: skugoreva@mail.ru, grigory_kantor@mail.ru, azhukova98@gmail.com

The aim of the work was to evaluate the sorption abilities of the higher mushrooms (*Agaricus bisporus* and *Russula atropurpurea*), as well as the traditional sorbent – activated carbon (AC) with respect to copper(II) ions using mathematical models: sorption kinetics models and sorption isotherms.

The pseudo-second order model describes well the kinetics of sorption of copper(II) ions by preparations both from the fruiting bodies of higher mushrooms and AC. This model is based on the fact that the sorption process is limited by the chemical reaction between the sorbate and the sorbent. According to the parameters of the kinetic model, a series of sorbents was constructed ranked by decrease of sorption activity with respect to copper(II) ions: *A. bisporus* > *R. atropurpurea* > AC. Differences in the rate of sorption of copper by the sorbents studied were more significant than in the capacity of sorption. With an increase in the initial concentration of copper(II) ions in the solution, the sorption capacity linearly increased, and the rate decreased. During the sorption of copper(II) ions by all the sorbents studied, the pH of

the solution increased, which correlated well with the concentration of copper(II) ions, which may indirectly indicate an ion-exchange mechanism of sorption. The experimental isotherm of sorption of copper(II) ions by higher mushrooms and AC is well described by the Freundlich equation. The series of sorbents according to sorption capabilities, built on the basis of the parameters of this model, completely coincided with a series according to the kinetic model.

Keywords: higher mushrooms, fruit body preparation, copper(II) ions, sorption, sorption kinetics, sorption isotherm, pH.

Тяжёлые металлы (ТМ) оказывают токсическое действие на биоту, легко накапливаются и практически не выводятся из организма. Особое положение среди них занимает медь и её соединения. В небольших концентрациях медь является микроэлементом, в высоких дозах она токсична. Извлечение соединений меди из загрязнённых сред часто проводят сорбционными методами с использованием минеральных, синтетических и природных сорбентов.

Особое место среди природных сорбентов занимает полисахарид хитин, который является основным структурным компонентом клеточных стенок грибов [1]. Он обладает высокой сорбционной способностью к соединениям ТМ и радионуклидам [2]. В настоящее время большое распространение получили исследования по модификации хитина. Так, в работе [3] показано, что адсорбционная способность 5% покрытого хитозаном песка (10,87 мг/г) по отношению к Cu^{2+} была выше, чем хитозана (7,55 мг/г).

Известно, что высшие грибы способны аккумулировать ТМ в количествах, превышающих их содержание в окружающей среде [4]. В работе [5] исследованы хитин-глюкановые комплексы, выделенные из плодовых тел грибов рода *Russula*, показана их высокая селективность (100%) в отношении сорбции ионов Cu^{2+} .

Среди минеральных сорбентов наиболее распространённым является активированный уголь (АУ), он хорошо поглощает различные газы, токсины и некоторые ТМ [6].

Ранее нами было показано, что потенциометрический метод измерения потенциала ионоселективного электрода позволяет детально в режиме реального времени прописать кинетическую кривую сорбции [7]. Результаты, полученные данным методом (изменение потенциала ионоселективного электрода в зависимости от времени) можно обработать математическими моделями сорбции, чтобы оценить сорбционные способности различных сорбентов, установить механизм и характеристики процесса сорбции.

Целью данной работы было, используя модели кинетики сорбции и изотермы сорбции,

оценить сорбционные способности высших грибов шампиньона двуспорового *Agaricus bisporus* и сыроежки волнистой *Russula atropurpurea*, а также активированного угля по отношению к ионам меди(II).

Объекты и методы исследования

Из плодовых тел (шляпки) шампиньона двуспорового и сыроежки волнистой готовили препараты для сорбции: высушивали до постоянной массы, измельчали и растирали в фарфоровой ступке, просеивали через сито с диаметром ячеек 0,25 мм. Измерение содержания ионов Cu^{2+} в растворе проводили потенциометрическим методом на иономере «Эксперт-001» с ионоселективным электродом, чувствительными к концентрации Cu^{2+} в растворе [7] (рис. 1, см. цветную вкладку). Опыт проводили с использованием магнитной мешалки при температуре 23 ± 1 °С.

Для проведения опытов использовали растворы нитрата меди(II) с концентрациями такими же, которые использовали в ранее проведённом исследовании по сорбции ионов кадмия [8], а именно: 0,2; 0,6; 1; 2; 6; 8; 10 и $100 \cdot 10^{-5}$ моль/л (М). В стакан наливали 50 мл раствора нитрата меди определённой концентрации, погружали в раствор магнит, ионоселективный электрод, двухключевой электрод сравнения, включали мешалку. Запускали программу приёма и обработки данных EXP2PR (ООО «ЭКОНИКС-ЭКСПЕРТ»).

Пробы сухих сорбентов взвешивали, быстро вносили в стакан с раствором нитрата меди(II). Одной из важнейших характеристик процесса сорбции ТМ является зависимость скорости сорбции от параметров процесса, которая описывается кинетическим уравнением сорбции [9]. Кинетику сорбции ионов Cu^{2+} описывали моделями псевдо-первого и псевдо-второго порядков и моделью Елови́ча [7, 10, 11].

Параметры, полученные из разных моделей изотерм сорбции, дают важную информацию о свойствах поверхности сорбента, средстве адсорбента и механизмах адсорбции. При описании изотерм сорбции использовали наиболее распространённые модели изотермы

Таблица 1 / Table 1

Результаты обработки (r^2) кинетических кривых сорбции Cu^{2+} моделями химической кинетики
The results of processing (r^2) of the kinetic curves of sorption of Cu^{2+} models of chemical kinetics

Начальная концентрация Cu^{2+} в растворе, $\cdot 10^{-5}\text{M}$ The initial concentration of Cu^{2+} in solution, $\cdot 10^{-5}\text{M}$	Сорбент Sorbent	Модель псевдо-первого порядка Pseudo-first order model	Модель псевдо-второго порядка Pseudo-second order model	Модель Еловича Elovich's model
0,2	<i>A. bisporus</i>	0,87	0,97*	0,69
	<i>R. atropurpurea</i>	0,990	0,990*	0,78
	AY / AC	0,98*	0,94	0,70
0,6	<i>A. bisporus</i>	0,97	0,9996*	0,79
	<i>R. atropurpurea</i>	0,94*	0,84	0,82
	AY / AC	0,95	0,996*	0,73
1	<i>A. bisporus</i>	0,97	0,98*	0,66
	<i>R. atropurpurea</i>	0,991*	0,94	0,68
	AY / AC	0,96	0,98*	0,77
2	<i>A. bisporus</i>	0,88	0,98*	0,58
	<i>R. atropurpurea</i>	0,80	0,93*	0,43
	AY / AC	0,97	0,991*	0,92
6	<i>A. bisporus</i>	0,97	0,986*	0,64
	<i>R. atropurpurea</i>	0,95	0,996*	0,22
	AY / AC	0,94	0,98	0,98*
8	<i>A. bisporus</i>	0,97	0,98*	0,62
	<i>R. atropurpurea</i>	0,93	0,990*	0,65
	AY / AC	0,93	0,97*	0,15
10	<i>A. bisporus</i>	0,87	0,987*	0,61
	<i>R. atropurpurea</i>	0,83	0,98*	0,77
	AY / AC	0,92	0,97	0,990*
100	<i>A. bisporus</i>	0,96	0,990*	0,82
	<i>R. atropurpurea</i>	0,91	0,994*	0,74
	AY / AC	0,86	0,94	0,98*

Примечание: AY – активированный уголь; * – наибольшие значения.
Note: AC – activated carbon; * – the highest values.

поверхностной адсорбции для систем с одним растворённым веществом: модель мономолекулярной адсорбции Ленгмюра, модель многослойной адсорбции Фрейндлиха и модель Дубинина-Радушкевича.

Значения параметров кинетических моделей и изотермы сорбции, усреднённые за полное время каждого измерения, были найдены методом наименьших квадратов при помощи надстройки «Поиск решения» программного пакета Excel. При подборе уравнения модели кинетики и уравнения изотермы сорбции 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

Кинетика сорбции. По значениям коэффициента детерминации r^2 подбирали математическую модель, которая оптимально описывала бы кинетику сорбции высших грибов и AY (табл. 1). Максимальные и высокие значения r^2 (0,84–0,9996) при всех концентрациях Cu^{2+} в растворе установлены для модели псевдо-второго порядка, несколько ниже значения – для модели псевдо-первого порядка (0,80–0,991) и самые низкие – для модели Еловича (0,15–0,990).

Таким образом, сорбция ионов Cu^{2+} также, как и Cd^{2+} [11], хорошо описывается уравнением псевдо-второго порядка:

$$a_t = \frac{t}{\frac{1}{k_2 \cdot a_e^2} + \frac{t}{a_e}}, \quad (2)$$

где a_t – зависящая от времени удельная масса сорбата (отношение массы сорбированного вещества к массе сорбента) (мг/г); a_e – равновесная (предельная) удельная масса сорбата (мг/г); k_2 – константа скорости сорбции модели псевдо-второго порядка (г/(мг·с)). Модель псевдо-второго порядка основана на предположении, что скорость сорбции лимитирует химическая реакция с участием валентных сил за счёт обмена или обмена электронами между адсорбентом и адсорбатом [12].

Сравним параметры кинетической модели псевдо-второго порядка для различных сорбентов (табл. 2). Кинетический коэффициент (k_2) характеризует скорость сорбции Cu^{2+} . Значения данного параметра для высших грибов в 19–101 раз выше, чем для АУ. Различия в скорости сорбции для *R. atropurpurea* и *A. bisporus* были не столько велики и составили от 1,04 до 3,00 раз в зависимости от начальной концентрации Cu^{2+} в растворе и вида гриба. Для большинства использованных концентраций скорость сорбции была выше для *A. bisporus*. Отмечали, что с увеличением начальной концентрации Cu^{2+} в растворе скорость сорбции снижалась ($r = -(0,53–0,75)$).

Второй важнейший показатель модели кинетики сорбции – это равновесная (предельная) удельная масса сорбата (a_e), по которой можно судить о сорбционной ёмкости. По значениям a_e исследуемые сорбенты различались

в меньшей степени (0,1–21,6%), чем по k_2 . При относительно высоких значениях начальной концентрации Cu^{2+} в растворе ($(8–100) \cdot 10^{-5}$ М) данный показатель для *A. bisporus* был выше по сравнению с *R. atropurpurea* и АУ на 4,6–21,6%. Между ёмкостью сорбции и начальной концентрацией Cu^{2+} в растворе установлена высокая положительная корреляционная связь ($r = 0,9976–0,9988$).

Скорость и ёмкость сорбции Cu^{2+} для высших грибов выше, чем для микромицетов рода *Fusarium*, цианобактерии *N. paludosum*, торфа и цеолита, однако растения ячменя обладают большей скоростью [7, 13]. Для исследуемых видов грибов скорости сорбции выше в 2,1–13,4 раза для ионов Cu^{2+} , чем для Cd^{2+} ; ёмкости почти не различаются (в пределах 6,6%) [11].

Изменение pH в ходе сорбции. В ходе сорбции Cu^{2+} возрастал водородный показатель раствора (табл. 3). Наибольшее увеличение pH отмечали для АУ: оно составило 0,48–2,59 ед. Для высших грибов водородный показатель изменялся не так сильно (до 1,08 ед.). При этом с увеличением начальной концентрации Cu^{2+} в растворе рост pH снижался ($r = -(0,87–0,91)$). Между изменением pH и показателем концентрации Cu^{2+} в растворе существует достаточно высокая корреляционная связь ($r = 0,68–0,996$). Вероятно, что механизм сорбции – ионообменный, вследствие

Таблица 2 / Table 2

Параметры модели сорбции псевдо-второго порядка для сорбентов при разных начальных концентрациях Cu^{2+} в растворе
Parameters of the pseudo-second order sorption model for sorbents at different initial concentrations of Cu^{2+} in solution

Начальная концентрация Cu^{2+} в растворе, $\cdot 10^{-5}$ М The initial concentration of Cu^{2+} in solution, $\cdot 10^{-5}$ М	Кинетический коэффициент, г/(мг·с) Kinetic coefficient, g/(mg·s)			Равновесная масса сорбата, мг Cu^{2+} /г сорбента The equilibrium mass of the sorbate, mg Cu^{2+} /g sorbent		
	<i>A. bisporus</i>	<i>R. atropurpurea</i>	АУ АС	<i>A. bisporus</i>	<i>R. atropurpurea</i>	АУ АС
0,2	10,209	4,742	0,245	0,223	0,224	0,225
0,6	3,767	2,119	0,053	0,672	0,657	0,696
1	0,733	2,236	0,028	1,095	1,117	1,162
2	0,401	0,306	0,008	2,193	2,196	2,340
6	0,126	0,131	0,0013	6,526	6,713	6,587
8	0,057	0,032	0,0009	8,969	8,575	7,832
10	0,031	0,029	0,0009	10,947	10,286	9,528
100	0,0005	0,0015	–	68,925	56,669	–
<i>r</i>	-0,53	-0,60	-0,75	0,9988	0,9976	0,9985

Примечание: АУ – активированный уголь; *r* – коэффициент корреляции между параметром кинетической модели и начальной концентрацией Cu^{2+} ; прочерк обозначает отсутствие данных.

Note: AC – activated carbon; *r* is the correlation coefficient between the kinetic model parameter and the initial concentration of Cu^{2+} ; a dash indicates a lack of data.

этого процесса прямо пропорционально увеличивается рН раствора, т. е. снижается концентрация протонов. Данный факт был установлен нами ранее [13]. При самой высокой начальной концентрации Cu^{2+} в растворе (10^{-3}M) для грибов отмечали даже незначительное снижение рН (на 0,28–0,65 ед.), подобный эффект, но вначале сорбции, отмечали и для сухой биомассы микромицетов рода *Fusarium* [13].

Изотермы сорбции. В ходе выполнения работы по экспериментальным данным были построены изотермы сорбции и подобрана наиболее оптимальная теоретическая модель (рис. 2, см. цветную вкладку; табл. 4).

Как видно из данных таблицы 4, максимальные значения коэффициента детерминации для сорбентов установлены для уравнения Фрейндлиха ($r^2 = 0,996–0,998$). Согласно данной модели, в первую очередь заполняются сорбционные центры с более сильной связывающей способностью [14]. Поверхность сорбента непрерывно заполняется до тех пор,

пока не будут заняты положения с наименьшей энергией [15]. Изотерма сорбции Фрейндлиха не имеет зоны насыщения и используется для описания сорбции из растворов с малыми и средними концентрациями.

Уравнение Фрейндлиха имеет вид:

$$A = \beta \cdot \left(\frac{c}{c_0} \right)^{1/n}, \quad (3)$$

где A – масса сорбированных Cu^{2+} на 1 г сорбента (мг/г); c – равновесная концентрация адсорбата в растворе (мг/л); c_0 – стандартная концентрация, равная 1 мг/л; β и $1/n$ – константы, определяемые экспериментальным путём.

Основным параметром уравнения является константа β , которая характеризует ёмкость сорбции. Наибольшее значение β установлено для *A. bisporus* (13,1), ниже значение для *R. atropurpurea* (9,93) и АУ (4,70 л/мг). По сравнению с ионами кадмия, для ионов Cu^{2+} β высших грибов в 1,2–2 раза выше [8]. Коэффициент неоднородности $1/n$ указывает

Таблица 3 / Table 3

Кислотность раствора (рН) при сорбции Cu^{2+} : изменение и корреляционная связь с $\text{pK}(\text{Cu}^{2+})$ (r)
The acidity of the solution (pH) of the solution during sorption of Cu^{2+} : change and correlation with $\text{pK}(\text{Cu}^{2+})$ (r)

Начальная концентрация Cu^{2+} в растворе, $\cdot 10^{-5}\text{M}$ The initial concentration of Cu^{2+} in solution, $\cdot 10^{-5}\text{M}$	Сорбент Sorbent	рН в процессе сорбции pH during sorption			r
		в начале initially	в конце in the end	рН	
0,2	<i>R. atropurpurea</i>	5,38	6,46	+1,08	0,96
	<i>A. bisporus</i>	5,52	6,41	+0,89	0,82
	АУ / АС	6,23	8,42	+2,19	0,98
0,6	<i>R. atropurpurea</i>	5,18	6,42	+1,24	0,94
	<i>A. bisporus</i>	5,39	6,40	+1,01	0,68
	АУ / АС	6,35	8,94	+2,59	0,992
1	<i>R. atropurpurea</i>	5,55	5,84	+0,29	0,986
	<i>A. bisporus</i>	5,31	5,74	+0,43	0,98
	АУ / АС	5,73	6,82	+1,09	0,98
2	<i>R. atropurpurea</i>	5,42	6,38	+0,96	0,97
	<i>A. bisporus</i>	5,49	6,32	+0,83	0,85
	АУ / АС	6,05	8,12	+2,07	0,996
6	<i>R. atropurpurea</i>	5,69	6,10	+0,41	0,991
	<i>A. bisporus</i>	5,39	6,04	+0,65	0,96
	АУ / АС	5,92	7,16	+1,24	0,98
8	<i>R. atropurpurea</i>	5,56	6,00	+0,44	0,995
	<i>A. bisporus</i>	5,33	5,91	+0,58	0,97
	АУ / АС	6,06	6,97	+0,91	0,97
10	<i>R. atropurpurea</i>	5,56	4,91	-0,65	-0,93
	<i>A. bisporus</i>	4,85	4,57	-0,28	-0,90
	АУ / АС	5,97	6,45	+0,48	0,98

Примечание: АУ – активированный уголь; «+» – увеличение, «-» – снижение.
Note: АС – activated carbon; “+” – increase; “-” – decrease.

С. Г. Скугорева, Г. Я. Кантор, А. В. Жукова
 «Использование математических моделей
 для оценки сорбционных способностей высших грибов
 и активированного угля по отношению к ионам меди(II)». С. 44



Рис. 1. Внешний вид установки по изучению сорбции тяжёлых металлов
 Fig. 1. The appearance of the installation for the study of sorption of heavy metals

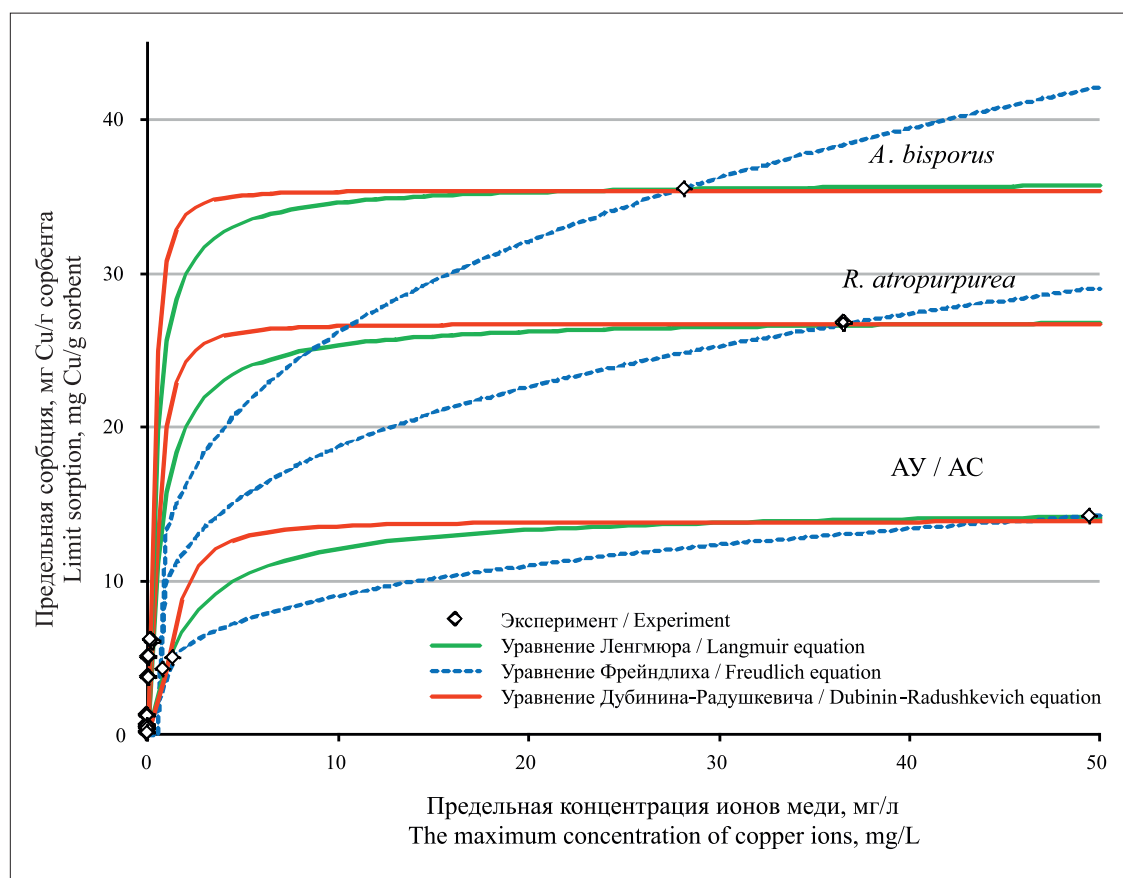


Рис. 2. Изотермы сорбции Cu^{2+} высшими грибами и активированным углём (AY)
 Fig. 2. Sorption isotherms of Cu^{2+} by higher mushrooms and activated carbon (AC)

Таблица 4 / Table 4

Результаты обработки изотерм сорбции Cu^{2+} уравнениями Ленгмюра, Фрейндлиха и Дубинина-Радушкевича / Results of processing the sorption isotherms of Cu^{2+} by the Langmuir, Freundlich, and Dubinin-Radushkevich equations

Уравнение изотермы сорбции Sorption isotherm equation		<i>A. bisporus</i>		<i>R. atropurpurea</i>		АУ AC	
Ленгмюра by Langmuir	A_{\max} , мг/г / mg/g	36,01*	$r^2 = 0,98$	27,17	$r^2 = 0,97$	14,82	$r^2 = 0,990$
	K_L , л/мг / L/mg	2,45*		1,38		0,45	
Фрейндлиха by Freundlich	β , л/мг / L/mg	13,21*	$r^2 = 0,998*$	9,93	$r^2 = 0,996*$	4,70	$r^2 = 0,998*$
	$1/n$	0,297*		0,275		0,283	
Дубинина- Радушкевича by Dubinin- Radushkevich	A_{\max} , мг/г / mg/g	35,42*	$r^2 = 0,97$	26,72	$r^2 = 0,95$	13,88	$r^2 = 0,97$
	k , мг ² /кДж мг ² /kJ	0,048		0,100		0,359*	

Примечание: АУ – активированный уголь; * – наибольшие значения.
Note: AC – activated carbon; * – the highest values.

на интенсивность взаимодействия адсорбент–адсорбат. Для высших грибов и АУ значения $1/n$ варьируют от 0,275 до 0,297, что характеризует процесс адсорбции как благоприятный [16, 17].

По сравнению с уравнением Фрейндлиха несколько ниже были значения коэффициента детерминации для уравнения Ленгмюра. В соответствии с уравнением Ленгмюра, лучшим сорбентом является вещество или материал с большей ёмкостью монослоя A_{\max} и коэффициентом K_L . Лучший сорбент Cu^{2+} – *A. bisporus*, ему уступают по параметрам сорбции *R. atropurpurea* (параметры ниже в 1,3–1,8 раза) и АУ (в 2,4–5,4 раза). По сравнению с грибом Роджерса *Lepiota hystrix* (семейство Шампиньоновые), исследуемые виды грибов имеют большую до 4,2 раза ёмкость монослоя [18].

В меньшей степени для описания изотермы сорбции подходит уравнение Дубинина-Радушкевича. Константа k в данном уравнении характеризует энергию связи сорбента с ионами меди, A_{\max} – максимальную сорбцию. Константа k имеет наибольшее значение у АУ ($k = 0,359$ мг²/кДж). *A. bisporus* характеризуется большей максимальной сорбцией ($A_{\max} = 35,42$ мг/г).

Сорбция ТМ, вероятно, является видоспецифичной. Так, расчёт по изотермам сорбции показал, что ионы кадмия лучше сорбирует *R. atropurpurea* [11], однако по результатам данной работы данный вид сорбирует Cu^{2+} хуже, чем *A. bisporus*.

Выводы

1. Кинетика сорбции ионов Cu^{2+} из раствора с начальными концентрациями

(0,2–100) • 10⁻⁵ М препаратами из плодовых тел высших грибов *A. bisporus*, *R. atropurpurea*, а также АУ хорошо описывается уравнением псевдо-второго порядка, согласно которому процесс сорбции лимитирует химическая реакция.

2. По параметрам кинетической модели псевдо-второго порядка можно построить ряд сорбентов по снижению сорбционной активности по отношению к Cu^{2+} : *A. bisporus* > *R. atropurpurea* > АУ. Различия в скорости сорбции меди сорбентами были более существенны (до 101 раза), чем в ёмкости сорбции (до 1,2 раза). С ростом начальной концентрации Cu^{2+} в растворе ёмкость сорбции линейно увеличивалась, а скорость сорбции снижалась.

4. В процессе сорбции Cu^{2+} при (0,2–10) • 10⁻⁵ М возрастал рН раствора, особенно сильно для АУ (до 2,59 ед.). Между изменением концентрации протонов и ионов меди(II) в растворе существует достаточно высокая корреляционная связь, что может косвенно свидетельствовать об ионообменном механизме сорбции.

5. Изотермы сорбции ионов Cu^{2+} хорошо описывает уравнение Фрейндлиха. Расчёт параметров данной модели показал, что ряд сорбентов по сорбционной способности к Cu^{2+} совпадает с рядом по параметрам кинетической модели сорбции.

Таким образом, использование моделей кинетики и изотерм сорбции позволило установить, что сухая биомасса плодовых тел высших грибов, особенно *A. bisporus*, является лучшим сорбентом ионов Cu^{2+} по сравнению с традиционным сорбентом – активированным углём. Данные математические модели

могут быть использованы для сравнительной оценки сорбционных способностей и других сорбентов.

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. Chitin and chitosan: Preparation, properties and application / Eds. K.G. Scriabin, G.A. Vikhoreva, V.P. Varlamova. Moskva: Nauka, 2002. 368 p. (in Russian).
2. Chitosan / Eds. K.G. Scriabin, S.N. Mikhailova, V.P. Varlamova. Moskva: Center "Bioengineering" RAS, 2013. 593 p. (in Russian).
3. Wan W., Kan C.-C., Lin C.-H., Rogel B.D., Wu C.-H. Adsorption of copper(II) by chitosan immobilized on sand // Chia-Nan Annual Bulletin. 2007. V. 33. P. 96–106.
4. Zhu F., Qu L., Fan W., Qiao M., Hao H., Wang X. Assessment of heavy metals in some wild edible mushrooms collected From Yunnan Province, China // Environ Monit Assess. 2011. V. 179. No. 14. P. 191–199. doi: 10.1007/s10664-010-1728-5
5. Pestov A.V., Drachuk S.V., Koryakova O.V., Yatluk Yu.G. Isolation and characterization of chitin-glucan complexes from the mycelium of fungi belonging to *Russula* genus // Chemistry for Sustainable Development. 2009. V. 17. P. 281–287.
6. Nikolaev V.G., Mikhalovsky S.V., Gurina N.M. Modern enterosorbents and mechanisms of their action // Efferentnaya terapiya. 2005. V. II. No. 4. P. 3–17 (in Russian).
7. 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 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2018-3-012-018
8. Skugoreva S.G., Kantor G.Ya., Zhukova A.V., Ashikhmina T.Ya. Mushrooms as sorbents of cadmium ions // Butlerov Communications. 2019. V. 60. No. 12. P. 140–145 (in Russian). ROI: jbc-02/19-60-12-140
9. 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 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-2-014-031
10. 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
11. 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
12. Yakout S.M., Elsherif E. Batch kinetics, isotherm and thermodynamic studies of adsorption of strontium from aqueous solutions onto low-cost rice straw based carbons // Carbon Sci. Technol. 2010. V. 1. P. 144–153.
13. Skugoreva S.G., Kantor G.Ya., Domracheva L.I., Sheshhegova T.K. Assessment of sorption abilities of various species of *Fusarium* micromycetes in relation to heavy metal // Theoretical and Applied Ecology. 2019. No. 4. P. 102–109. doi: 10.25750/1995-4301-2019-4-103-109
14. Freundlich H.M.F. Over the adsorption in solution // J. Phys. Chem. 1906. V. 57. P. 385–471.
15. McKay G., Blair H.S., Gardener J.R. Adsorption of dyes on chitin I. Equilibrium studies // J. Appl. Polym. Sci. 1982. V. 27. P. 3043–3057. doi: 10.1002/app.1982.070270827
16. Weber T.W., Chakraborty R.K. Pore and solid diffusion models for fixed bed adsorbents // J. Am. Inst. Chem. Eng. 1974. V. 20. P. 228–238.
17. Mouni L., Merabet D., Bouzaza A., Lazhar B. Adsorption of Pb(II) from aqueous solutions using activated carbon developed from Apricot stone // Desalination. 2011. V. 276. P. 148–153. doi: 10.1016/j.desal.2011.03.038
18. Kariuki Z.A., Kiptoo Ja., Onyantha D. Biosorption studies of lead and copper using rogers mushroom biomass *Lepiota hystrix* // South African Journal of Chemical Engineering. 2017. V. 23. P. 62–70. doi: 10.1016/j.sajce.2017.02.001

Исследование кинетики адсорбции трихлорэтилена из водных растворов

© 2020. Т. А. Краснова, д. т. н., профессор, А. К. Горелкина, к. х. н., доцент,
Н. В. Гора, к. т. н., ст. преподаватель, Н. С. Голубева, к. т. н., доцент,
И. В. Тимошук, д. т. н., профессор, И. В. Буянова, д. т. н., профессор,
Кемеровский государственный университет,
650056, Россия, г. Кемерово, ул. Красная, д. 6,
e-mail: ecolog1528@yandex.ru

Проведено исследование кинетики адсорбции трихлорэтилена из водных растворов на активных углях (АУ) марок СКД-515, ПФС, КсАУ, Пуrolат-Стандарт. Изучен механизм массопереноса при адсорбции трихлорэтилена на АУ исследуемых марок. Построены кинетические кривые, характеризующие изменение величины адсорбции во времени. Кинетические кривые проанализированы в координатах «степень достижения равновесия γ от времени τ ». Данные зависимости позволили выявить модель структуры гранул АУ. Для системы «активный уголь – водный раствор трихлорэтилена» определено, что в интервале 7–40 мин лимитирующей стадией процесса адсорбции, в зависимости от свойств АУ, является внешняя диффузия. Рассчитаны коэффициенты внешнего массопереноса для исследуемых углей, их величины близки и имеют достаточно высокие значения, что указывает на высокую скорость сорбционного процесса лимитируемого внешним массопереносом. Получены данные, необходимые для инженерных расчётов параметров адсорбционной колонны.

Ключевые слова: адсорбция, кинетика, активные угли, трихлорэтилен.

Study of the adsorption kinetics of trichloroethylene from aqueous solutions

© 2020. T. A. Krasnova ORCID: 0000-0002-3546-3561, A. K. Gorelkina ORCID: 0000-0002-3782-2521,
N. V. Gora ORCID: 0000-0002-6055-8570, N. S. Golubeva ORCID: 0000-0002-2188-8331,
I. V. Timoschuk ORCID: 0000-0002-1349-2812, I. V. Buyanova ORCID: 0000-0002-2801-8478,
Kemerovo State University,
6, Krasnaya St., Kemerovo, Russia, 650043,
e-mail: ecolog1528@yandex.ru

The kinetics of adsorption deals with the questions of determining the rate of adsorption and the adsorption capacity of adsorbent granules and the issues of adsorptive diffusion in single granules. Therefore, the study of kinetics is one of the most important issues in the study of adsorption. The research of kinetics of trichloroethylene adsorption from water solution on active carbon (A.C.) of grades CKD-515, PFC, CoAC, Puerolate – Standard was made. The primary information on the adsorption rate obtained during the experiment, i. e. the rate of granule saturation by adsorbate is represented by kinetic curves, which characterize the change in the value of adsorption with time.

The mechanism of mass transfer during trichloroethylene adsorption on A.C. of explored grades was studied, and kinetic curves describing change in value of adsorption in time were built. The kinetic curves were analyzed in coordinates γ vs τ . Dependence data allow finding out the model of active carbon granules structure. One of the objectives of this study is to find a controlling type of mass transfer, which can be solved using the method developed by R.M. Marutovsky. For this purpose dimensionless kinetic parameters T were calculated and graphs of T (calculated theoretically) versus (experimental process time) were plotted for the same γ values. It was determined that for the system “active carbon – water solution of trichloroethylene” the limiting stage of adsorption process in interval 7–40 minutes depending of active carbon characteristic is external diffusion. Coefficients of external mass transfer for explored carbon are calculated, their magnitudes are close and have fairly high values, which indicates high speed of sorption process limiting by external mass transfer. Data for engineering calculation of adsorption column parameters are found.

Keywords: adsorption, kinetics, activated carbon, trichloroethylene.

Проблема присутствия в питьевой воде поллютантов, в том числе галогенорганических, продолжает оставаться достаточно острой. Загрязнение водных источников сточными водами промышленных предприятий, образование галогенорганических компонентов в процессе водоподготовки и ряд других причин обуславливают актуальность данной проблемы. Среди соединений постоянно присутствующих в воде и принадлежащих к группе тригалогенметанов выделяют трихлорэтилен (ТХЭ), относящийся к 1 классу опасности.

В промышленности ТХЭ применяют для производства гербицидов, хладагентов, различных кислот; для обезжиривания металлических изделий, в качестве растворителя смол, красителей, битумов, фосфора.

При обеззараживании воды хлором в процессе водоподготовки очень высока вероятность появления в водопроводной воде побочных продуктов обеззараживания, в том числе ТХЭ [1].

Трихлорэтилен обладает аллергенным, токсическим, мутагенным и канцерогенным действием на организм человека [1]. Ещё в 2012 г. Всемирная организация здравоохранения признала ТХЭ канцерогенным.

Накоплены данные [2–4] о возможности развития у людей онкологических заболеваний, связанных с употреблением воды, содержащей ТХЭ. Последние исследования [5] свидетельствуют о том, что ТХЭ повышает риск рака печени, почек, пищевода, шейки матки. Обнаружена связь между регулярным воздействием на организм человека ТХЭ и последующим развитием болезни Паркинсона.

Трихлорэтилен очень опасен для водных организмов и может вызвать значительные изменения в экосистеме. Согласно гигиеническим нормативам ГН 2.1.5.2280-07 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования» (Дополнения и изменения № 1 к ГН 2.1.5.1315-03) ПДК трихлорэтилена в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования составляет 0,005 мг/дм³ [6–8].

В связи с этим исследования, направленные на разработку технологии доочистки воды системы централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения от ТХЭ, являются своевременными.

Среди успешно применяемых для этой цели процессов, можно назвать сорбционную доочистку с использованием пористых материалов [9]. Одним из таких материалов является активный уголь (АУ).

Для разработки адсорбционной технологии доочистки воды от ТХЭ на АУ необходимо выполнить комплексные исследования, включающие изучение равновесия, кинетики и динамики процесса адсорбции.

Ранее было проведено исследование равновесия адсорбции ТХЭ из водных растворов на АУ (табл. 1). Проведена аппроксимация экспериментально полученных изотерм адсорбции с использованием моделей мономолекулярной адсорбции Ленгмюра и теории объёмного заполнения пор Дубинина–Радускевича. Определены константы всех указанных уравнений и установлены особенности и механизм адсорбции, также получены основные адсорбционные параметры.

В представленной работе изучалась кинетика адсорбции. Целью исследования являлось установление механизма массопереноса и расчёт коэффициентов массопереноса, необходимых для выполнения инженерных расчётов параметров промышленной адсорбционной колонны.

Объекты и методы

Объектом исследования стали сорбенты следующих марок СКД-515, ПФС, КсАУ, Пуrolat-Стандарт, их основные характеристики представлены в таблице 1.

Адсорбция, как и любой реальный процесс, происходит во времени. Кинетика адсорбции рассматривает вопросы скорости отработки адсорбционной ёмкости гранул адсорбента и вопросы диффузии адсорбтива в единичных гранулах. Поэтому исследование кинетики – один из важнейших этапов в изучении адсорбции.

Элементарный акт адсорбции осуществляется практически мгновенно, следовательно, временные зависимости адсорбции определяются в основном механизмом диффузии, т. е. подвода адсорбтива к месту адсорбции. В случае пористых адсорбентов, кроме внешней диффузии, важную роль начинает играть внутренняя диффузия, заключающаяся в переносе адсорбтива в порах адсорбента при наличии в них градиента концентрации. Механизм такого переноса может зависеть от концентрации адсорбтива и размеров пор [10, 11].

Результаты и обсуждение

В ходе эксперимента первичная информация о скорости насыщения гранулы адсорбатом представлена кинетическими кривыми (рис. 1, см. цветную вкладку), характеризующими изменение величины адсорбции во времени. Кинетические исследования процесса

адсорбции для исследуемой системы показали, что для всех образцов АУ (СКД-515, ПФС, КсАУ, Пуrolат-Стандарт) равновесие в адсорбционной системе достигается в течение 100–200 мин в зависимости от марки угля.

Кинетические кривые проанализированы в координатах γ от τ . Степень достижения равновесия рассчитывалась по формуле:

Таблица 1 / Table 1

Характеристики углеродных сорбентов / Characteristics of carbon sorbents

Марка активного угля Brand of sorbent	СКД-515 SKD-515	ПФС PFS	КсАУ KsAU	Пуrolат-Стандарт Purolat-Standart	
Производитель Manufacturer	Сорбент, Россия Sorbent, Russia		Англия Eurocarb, UK	Синтез, Россия Sintez, Russia	
Сырьё / Raw	смесь каменных углей / coal	фенолформаль- дегидная смола henolformalde- hyde resin	скорлупа кокосовых орехов coconut shell	антрацит anthracite semi-coke	
Форма / Form	гранулирован- ный, цилиндр granule, cylinder	гранулирован- ный, шарообраз- ная / granule, spherical	дроблённый, неправильной crushed, irregular	дроблённый, неправильная crushed, irregular	
Карбонизация и активация Carbonation and activation	двухстадийная, парогазовая two-stage, combined-cycle			одностадийная, парогазовая one-stage, combined-cycle	
Размер частиц, мм Particle size, mm	0,5–1,5	1,0–1,5	1,5–3,0	0,1–3,0	
Насыпная плотность, г/см ³ Bulk density, g/cm ³	0,52	0,37	0,49	0,68	
Прочность, % Strength, %	75	86	97	70–80	
Удельная поверхность пор (S _{БЭТ}), м ² /г The surface of the pores, m ² /g	791	1037	1512	311	
Суммарный объём пор по воде, см ³ /г The total volume of pore water, cm ³ /g	0,62	1,20	0,951	0,500	
Объём пор, см ³ /г / Pore volume, cm ³ /g:					
микро- / micro-	0,36	0,42	0,622	0,070	
мезо- / meso-	0,20	0,08	0,110	0,000	
макро- / macro-	0,06	0,70	0,219	0,430	
рН водной вытяжки, ед. рН pH aqueous extract, units of pH	7,6	7,8	–	8–9	
Содержание активного кислорода, ммоль-экв/г The content of active oxygen, µmol/g ² :	кислотного типа (СОЕ ОН ⁻) acid type	0,338	0,252	0,238	0,238
	фенольный -ОН phenolic	0,181	0,192	0,218	0,218
	карбокисильный -СООН / carboxyl	–	0,060	–	–
	лактонный -СООН / lactone	0,157	–	0,020	0,020
	основного типа (СОЕ Н ⁺) / main type	0,571	–	0,120	0,120

Примечание: «–» – отсутствует.
Note: “–” – missing.

**Т. А. Краснова, А. К. Горелкина, Н. В. Гора,
Н. С. Голубева, И. В. Тимощук, И. В. Буянова**
**«Исследование кинетики адсорбции трихлорэтилена
из водных растворов». С. 51**

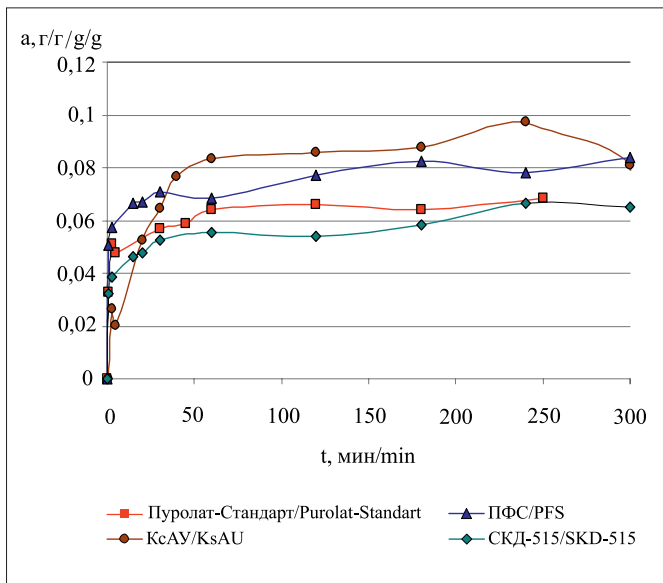


Рис. 1. Кинетические кривые адсорбции трихлорэтилена углеродными сорбентами
Fig. 1. Kinetic curves of the trichloroethylene adsorption by carbon sorbents

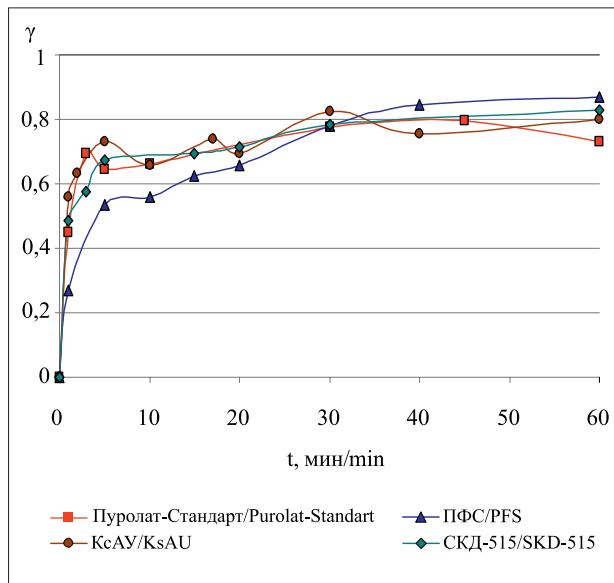


Рис. 2. Зависимости степени достижения адсорбционного равновесия от времени адсорбции
Fig. 2. Dependencies of the degree of achievement of the adsorption equilibrium on the adsorption time

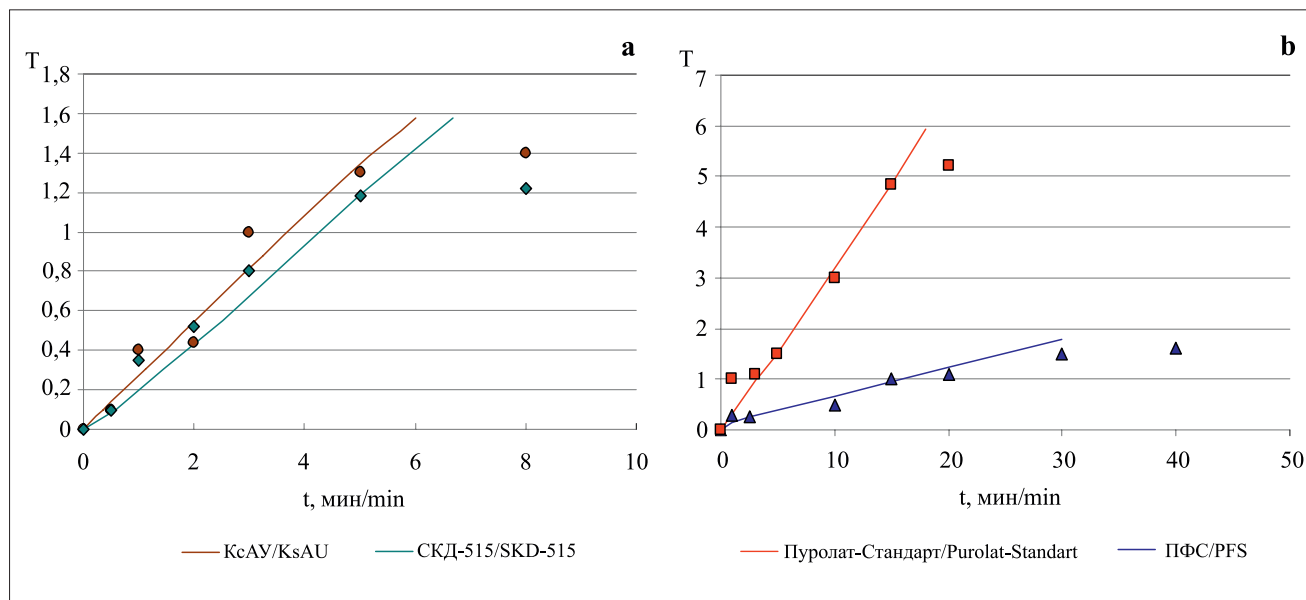


Рис. 3. Теоретические кинетические кривые адсорбции в системе «активный уголь – водный раствор трихлорэтилена»: а – КсАУ, СКД 515, б – Пуrolат-Стандарт, ПФС
Fig. 3. Theoretical kinetic curves of adsorption in «activated carbon – an aqueous solution of trichloroethylene» systems: а – KsAU, SKD-515; б – Purolat-Standart, PFS

$\gamma = a_\tau / a_p$, где a_τ – адсорбция за время τ ; a_p – значение равновесной адсорбции.

Данные зависимости позволяют выяснить модель структуры гранул АУ, так как для изучения кинетики адсорбции необходимо учитывать, к какой из моделей (квазигомогенной или бипористой) относятся зёрна сорбента. Начальный участок кривой зависимости степени достижения адсорбционного равновесия от времени носит прямолинейный характер вплоть до $\gamma = 0,6-0,9$ (рис. 2, см. цветную вкладку), высокие значения γ на прямолинейном участке предполагают соответствие гранул используемых сорбентов квазигомогенной модели.

Полученные данные позволяют использовать данную модель для расчёта параметров кинетики адсорбции.

Одной из задач данной работы является нахождение контролирующего вида массопереноса, которую возможно решить при помощи метода, разработанного Р.М. Марутовским [12, 13].

С этой целью были рассчитаны безразмерные кинетические параметры T и построены зависимости величин T от τ (рис. 3, см. цветную вкладку). Графики зависимости T (рассчитанной теоретически) от величины τ (экспериментального времени протекания процесса) при одинаковых значениях γ представляют собой прямую, проходящую через начало координат, свидетельствуя о том, что на этом этапе в течение 7–40 мин процесс адсорбции лимитируется внешним массопереносом, в зависимости от свойств АУ.

По мере приближения к равновесию экспериментальные точки начинают отклоняться от прямой, это объясняется тем, что в этом случае при приближении к равновесию градиент удельной адсорбции уменьшается, а, следовательно, падает и скорость внешнего массопереноса, пропорционального градиенту.

По мере приближения к равновесию экспериментальные точки начинают отклоняться от прямой, это объясняется тем, что в этом случае при приближении к равновесию градиент удельной адсорбции уменьшается, а, следовательно, падает и скорость внешнего массопереноса, пропорционального градиенту.

Скорость приближения процесса адсорбции из растворов к равновесию зависит от того, насколько далеко от равновесия находится в данный момент система, и насколько она пропорциональна площади поверхности контакта жидкости с адсорбентом – dS [14, 15]:

$$\frac{da}{dSd\tau} = \beta_a(a_p - a_\tau)$$

$$-\frac{dC}{dSd\tau} = \beta_c(C_\tau - C_p)$$

Разность величин концентраций в данный момент C_τ и при наступлении равновесия C_p или разность равновесной удельной адсорбции a_p и величины удельной адсорбции a_τ к моменту измерения τ , называется движущей силой процесса; β_a и β_c в этих уравнениях называются коэффициентами массопереноса.

Как показали исследования, для системы «АУ – водный раствор ТХЭ» лимитирующей стадией процесса адсорбции является внешняя диффузия, коэффициент внешнего массопереноса (β_n) может быть найден по тангенсу угла наклона прямой зависимости безразмерного коэффициента T от τ .

Расчёты показали, что величина β_p составляет 0,2517; 0,0293; 0,0308; 0,2607 с⁻¹ для АУ Пуролат-Стандарт, СКД-515, КсАУ и ПФС, соответственно. Для углеродных сорбентов марок ПФС и Пуролат-Стандарт коэффициенты внешнего массопереноса близки и имеют достаточно высокое значение в сравнении с другими изучаемыми марками сорбентов. Это вероятно связано с наиболее развитой системой транспортных макро- и мезопор для АУ марок ПФС и Пуролат-Стандарт (табл. 1), так как на миграцию вещества из объёма раствора существенное влияние могут оказывать как условия переноса молекул адсорбирующегося вещества к поверхности зерна адсорбента, так и размеры и характер пористости частиц адсорбента, определяющих путь миграции молекул от внешней границы по системе пор к центру зерна [16, 17].

Внешнедиффузионный механизм и рассчитанные коэффициенты массопереноса позволяют ожидать высокую скорость извлечения компонента из очищаемой воды при фильтрации через неподвижный слой сорбента, с целью максимального использования ёмкости слоя сорбента можно рекомендовать снижение скорости фильтрования по мере отработки угольного фильтра [18, 20].

Заключение

Проведённая работа позволила выяснить модель структуры гранул изучаемых сорбентов; установить механизм массопереноса в системах «АУ – водный раствор ТХЭ»; показать влияние структуры углей на условия переноса;

определить коэффициент массопереноса, необходимый для инженерных расчётов.

Внешнедиффузионный механизм и рассчитанные коэффициенты массопереноса, имеющие высокое значение ($\beta_p = 0,0293, 0,2607, 0,0308, 0,2517 \text{ с}^{-1}$ для АУ марок СКД-515, ПФС, КсАУ, Пуrolат-Стандарт соответственно), позволяют ожидать высокую скорость извлечения компонента из очищаемой воды при фильтрации через неподвижный слой сорбента, с целью максимального использования ёмкости слоя сорбента можно рекомендовать снижение скорости фильтрования по мере отработки угольного фильтра.

Работа выполнена в рамках реализации Государственного задания «Инициативные научные проекты» 19.4713. 2017/БЧ.

Литература

1. Елдышев Ю.Н. В стране беда – питьевая вода // Экология и жизнь. 2008. № 9 (82). С. 19–23.
2. Егорова Н.А., Букшук А.А., Красовский Г.Н. Гигиеническая оценка продуктов хлорирования питьевой воды с учётом множественности поступления в организм // Гигиена и санитария. 2013. № 2. С. 18–23.
3. Hwang B.F., Jaakkola J.J., Guo H.R. Water disinfection byproducts and the risk of specific birth defects: a population-based cross-sectional study in Taiwan // Environmental Health. 2008. V. 7 (1). P. 19–29.
4. Nieuwenhuijsen M.J., Grellier J., Smith R., Iszatt N., Bennett J., Best N. The epidemiology and possible mechanisms of disinfection by-products in drinking water // Philosophical Transaction of The Royal Society A: Physical, Mathematical and Engineering Sciences. 2009. V. 367 (1904). P. 4043–4076.
5. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями России и стран СНГ в 2006 г // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2008. Т. 19. № 2 (прил. 1). С. 52–90.
6. Красовский Г.Н., Егоров Н.А. Критерии опасности галогенсодержащих веществ, образующихся при хлорировании воды // Токсикологический вестник. 2002. № 3. С. 12–17.
7. Шкатова Е.Ю., Масальцева О.Г., Оксужян А.В. Ядовитые технические жидкости: учеб. пособие. Ижевск: ИГМА, 2013. 32 с.
8. Краснова Т.А., Сколубович Ю.Л. Обеззараживание воды в системе питьевого водоснабжения. Новосибирск: НГАСУ, 2012. 114 с.
9. Radovic L.R., Silva I.F., Ume J.I. An experimental and theoretical study of the adsorption of aromatic posing electron-withdrawing and electron-donating functional groups by chemically modified activated carbons // Carbon. 1997. V. 35. No. 9. P. 1339–1348.

10. Podkościelny P., Nieszpore K. Adsorption of phenols from aqueous solutions: Equilibria, calorimetry and kinetics of adsorption // Journal of Colloid and Interface Science. 2011. V. 354. No. 1. P. 282–291.

11. Когановский А.М., Клименко Н.А., Левченко Т.М., Рода И.Г. Адсорбция органических веществ из воды. Л.: Химия, 1990. 256 с.

12. Тимофеев Д.П. Кинетика адсорбции. М.: Изд-во АН СССР, 1962. 252 с.

13. Парфит Г., Рочестер К. Адсорбция из растворов на поверхностях твёрдых тел. М.: Мир, 1996. 488 с.

14. Федоткин И.М., Когановский А.М., Рода И.Г., Марутовский Р.М. Об определении коэффициента внешнего массообмена и адсорбции из растворов // Физическая химия. 1994. Т. 48. № 2. С. 473–475.

15. Timoshchuk I.V. Technology of afterpurification of drinking water from organic contaminants in production of foodstuff // Foods and Raw Materials. 2016. V. 4. No. 1. P. 61–69.

16. Corwin C.J. Adsorption and desorption of trace organic contaminants from granular activated carbon adsorbents after intermittent loading and throughout backwash cycles // Water research. 2011. V. 45. No. 2. P. 417–426.

17. Krasnova T.A., Timoschuk I.V., Gorelkina A.K., Dugarjav J. The choice of sorbent for adsorption extraction of chloroform from drinking water // Foods and Raw materials. 2017. No. 2. P. 189–196.

18. Azizian S. Kinetic models of sorption: a theoretical analysis // J. Coll. Inter. Sci. 2004. V. 276. P. 47–62.

19. Сапина Н.В., Дзювина О.И. Доочистка питьевой воды для производства восстановленных молочных продуктов // Теоретическая и прикладная экология. 2007. № 3. С. 20–26.

References

1. Yeldyshev Yu.N. The country has a trouble with drinking water // Ekologiya i zhizn. 2008. No. 9 (82). P. 19–23 (in Russian).
2. Yegorova N.Ah., Bukshuk A.A., Krasovsky G.N. Hygienic assessment of chlorination products of drinking water, taking into account the plurality of intake // Gigiena i sanitariya. 2013. No. 2. P. 18–23 (in Russian).
3. Hwang B.F., Jaakkola J.J., Guo H.R. Water disinfection byproducts and the risk of specific birth defects: a population-based cross-sectional study in Taiwan // Environmental Health. 2008. V. 7 (1). P. 19–29. doi: 10.1186/1476-069X-7-23
4. Nieuwenhuijsen M.J., Grellier J., Smith R., Iszatt N., Bennett J., Best N. The epidemiology and possible mechanisms of disinfection by-products in drinking water // Philosophical Transaction of The Royal Society A: Physical, Mathematical and Engineering Sciences. 2009. V. 367 (1904). P. 4043–4076. doi: 10.1098/rsta.2009.0116
5. Davydov M.I., Aksel E.M. Incidence of malignant neoplasms in Russia and CIS countries in 2006 // Vestnik

RONTs im. N.N. Blokhina RAMN. 2008. V. 19. No. 2 (Annex. 1). P. 52–90 (in Russian).

6. Krasovsky G.N., Yegorov N.Ah. Hazard criteria of halogen-containing substances formed during chlorination of water // *Toksikologicheskiy vestnik*. 2002. No. 3. P. 12–17 (in Russian).

7. Shkatova E.Yu., Masaltsev O.G., Oksuzyan A.V. Poisonous technical liquids: the tutorial. Izhevsk: ISMA, 2013. 32 p. (in Russian).

8. Krasnova T.A., Skolubovich Yu.L. Water disinfection in the drinking water supply system. Novosibirsk: NGASU, 2012. 114 p. (in Russian).

9. Radovic L.R., Silva I.F., Ume J.I. An experimental and theoretical study of the adsorption of aromatic possessing electron-withdrawing and electron-donating functional groups by chemically modified activated carbons // *Carbon*. 1997. V. 35. No. 9. P. 1339–1348. doi: 10.1016/S0008-6223(97)00072-9

10. Podkościelny P., Nieszpore K. Adsorption of phenols from aqueous solutions: Equilibria, calorimetry and kinetics of adsorption // *Journal of Colloid and Interface Science*. 2011. V. 354. No. 1. P. 282–291. doi: 10.1177/02636174117708867

11. Kaganovsky A.M., Klimenko N.A., Levchenko T.M., Roda I.G. Adsorption of organic substances from water. Leningrad: Khimiya, 1990. 256 p. (in Russian).

12. Timofeyev D.P. The kinetics of adsorption. Moskva: Izd-vo AN SSSR, 1962. 252 p. (in Russian).

13. Parfit G., Rochester K. Adsorption from solutions on surfaces of solids. Moskva: Mir, 1996. 488 p. (in Russian).

14. Fedotkin I.M., Kaganovsky A.M., Roda I.G., Muratovski R.M. On determination of the coefficient of external mass transfer and adsorption from solutions // *Fizicheskaya khimiya*. 1994. V. 48. No. 2. P. 473–475 (in Russian).

15. Timoshchuk I.V. Technology of afterpurification of drinking water from organic contaminants in production of foodstuff // *Foods and Raw Materials*. 2016. V. 4. No. 1. P. 61–69. doi: 10.21179/2308-4057-2016-1-61-69

16. Corwin C.J. Adsorption and desorption of trace organic contaminants from granular activated carbon adsorbents after intermittent loading and throughout backwash cycles // *Water research*. 2011. V. 45. No. 2. P. 417–426. doi: 10.1016/j.watres.2010.08.039

17. Krasnova T.A., Timoshchuk I.V., Gorelkina A.K., Dugarjav J. The choice of sorbent for adsorption extraction of chloroform from drinking water // *Foods and Raw materials*. 2017. No. 2. P. 189–196. doi: 10.21603/2308-4057-2017-2-145-150

18. Azizian S. Kinetic models of sorption: a theoretical analysis // *J. Coll. Inter. Sci*. 2004. V. 276. P. 47–62. doi: 10.1016/j.jcis.2004.03.048

19. Sapine N.V., Dzuvinina O.I. Aftertreatment of drinking water in production of regenerated milk products // *Theoretical and Applied Ecology*. 2007. No. 3. P. 20–26. doi: 10.25750/1995-4301-2007-3-020-026

Новый подход к определению кобальта в виде кобальта(III) методом инверсионной вольтамперометрии

© 2020. А. И. Фокина, к. б. н., доцент, В. Н. Кулаков, магистрант, Л. В. Даровских, к. п. н., доцент, К. Д. Лялина, студент, Вятский государственный университет, 610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36, e-mail: annushka-fokina@mail.ru

Метод инверсионной вольтамперометрии (ИВА) позволяет при небольших затратах точно и воспроизводимо определять кобальт в растворах с низким содержанием искомого вещества без предварительного концентрирования. Было замечено, что аналитический сигнал, создаваемый кобальтом(III) в ходе его инверсионно-вольтамперометрического количественного определения в растворе, содержащем 4,6 мг/дм³ диметилглиоксима (ДМГ), на дисковом вращающемся ртутно-плёночном электроде (РПЭ), иногда в десятки раз более выражен, чем при определении в виде кобальта двухвалентного по методике ФР.1.31.2011.10126, существующей для Co(II). Поэтому целью данной работы стало исследование возможности введения операции предварительного окисления Co²⁺ до Co³⁺ пероксидом водорода в стандартную методику, предназначенную для количественного определения кобальта в растворе в виде Co(II) методом инверсионной вольтамперометрии с дисковым вращающимся РПЭ. Установлено, что диапазон определяемых концентраций ионов Co³⁺ в растворах без разбавления составляет 0,08–2,40 мкг/дм³. Предел обнаружения Co³⁺ – 0,016 мкг/дм³. Методика, включающая операцию окисления Co²⁺ до Co³⁺ и продолжительностью накопления диметилглиоксиматного комплекса кобальта(III) на ртутной плёнке рабочего электрода, равной 60 с, имеет показатель точности определения 21%, предел повторяемости – 13%. Таким образом, предварительное окисление кобальта до Co(III) позволяет значительно повысить чувствительность и точность анализа, снизить предел определения.

Ключевые слова: инверсионная вольтамперометрия, кобальт, определение, дисковый вращающийся электрод.

A new approach to the determination of cobalt in the form of cobalt(III) by inversion voltammetry

© 2020. A. I. Fokina ORCID: 0000-0001-8265-8882, V. N. Kulakov ORCID: 0000-0001-5842-2829, L. V. Darovskikh ORCID: 0000-0001-5868-102X, K. D. Lyalina ORCID: 0000-0002-2674-8557, Vyatka State University, 36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000, e-mail: annushka-fokina@mail.ru

The method of inversion voltammetry (IVA) allows accurate and reproducible determination of cobalt in solutions with a low content of the desired substance at low cost without prior concentration. It was found that the analytical signal (peak area) given by cobalt(III) upon its inversion voltammetric determination on a rotating disk mercury-film electrode (MFE) in a solution containing 4.6 mg/dm³ of dimethylglyoxime (DMG), sometimes ten times stronger than when determined in the form of bivalent cobalt according to the procedure already existing for Co(II). Therefore, the aim of this work was to study the possibility of introducing the operation of preliminary oxidation of Co²⁺ to Co³⁺ with hydrogen peroxide and its subsequent determination by the standard method (intended for the quantitative determination of cobalt in solution in the form of Co(II)). It was established that the range of determined concentrations of Co³⁺ ions in solutions without dilution is 0.08–2.40 µg/dm³. The detection limit of Co³⁺ is 0.016 µg/dm³. The technique, including the operation of oxidation of Co²⁺ to Co³⁺ and the duration of accumulation of the dimethylglyoxime cobalt(III) complex on the mercury film of the working electrode equal to 60 seconds, has an accuracy of 21% and a repeatability of 13%. Thus, the preliminary oxidation of cobalt to Co(III) can significantly increase the sensitivity and accuracy of the analysis, as well as reduce the limit of determination.

Keywords: inversion voltammetry, cobalt, determination, disk rotating electrode.

Кобальт широко распространён как в составе материалов, применяемых в народном хозяйстве (сплавы металлов, лекарственные препараты и т. д.), так и в окружающей среде (почва, залежи руды и т. д.) [1]. Кобальт является жизненно-важным микроэлементом, необходимым для образования витамина B_{12} (цианокобаламин) в организме. Общая суточная доза кобальта переменная и может составлять до 1 мг. Однако чрезмерное введение этого микроэлемента (более 5 мг в день) вызывает патологические процессы, например, гиперфункцию щитовидной железы и перепроизводство красных кровяных клеток (эритропоэз). Согласно СанПиН 10-124 РБ99 кобальт относится к токсичным тяжёлым металлам с санитарно-токсикологическим показателем вредности с классом опасности 2 и предельно допустимой концентрацией 0,1 мг/дм³ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования. Контроль за количеством веществ в относительно малых концентрациях вызывает необходимость использования точных, высокочувствительных и одновременно доступных методов анализа. В настоящее время для количественного определения кобальта используют такие методы, как спектрофотометрия, атомно-абсорбционная спектроскопия, инверсионная вольтамперметрия (ИВА) и некоторые другие [2–11]. Из всех вышеперечисленных методов метод ИВА позволяет при небольших финансовых затратах точно и воспроизводимо определять кобальт в разбавленных растворах с низким содержанием искомого вещества без предварительного концентрирования [3]. Так как метод ИВА является экономичным и чувствительным, то его применение может отвечать потребностям лабораторий, в которых данные показатели являются ведущими. Известен метод определения кобальта двухвалентного с модификацией ализаринном красным на угольном пастовом электроде. Диапазон линейности находится в пределах 0,00012–0,00354 нг/см³ [9]. Разработана и метрологически аттестована методика определения кобальта двухвалентного в питьевых, природных и сточных водах методом ИВА с использованием нетоксичных толстоплёночных графитсодержащих электродов. Определение основано на электрохимическом концентрировании кобальта(II) в присутствии нитрозо-Р-соли с помощью толстоплёночного графитсодержащего электрода [3]. В работе [3] показано, что процессу электрохимического превращения $Co(II)$ на толстоплёноч-

ном графитсодержащем электроде предшествует химическая стадия окисления $Co(II)$ до $Co(III)$ кислородом воздуха и образование комплекса $Co(III)$ -нитрозо-Р-соль в объёме раствора. Предел обнаружения при этом составляет 0,4 нг/дм³. Не совсем ясным остаётся вопрос количественного перехода кобальта из двухвалентного в трёхвалентное состояние только за счёт кислорода воздуха. В данных модификациях не обязательно использование ртути, но необходимо постоянное обновление рабочей поверхности, что затрудняет рабочий процесс.

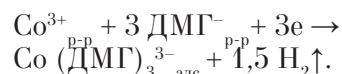
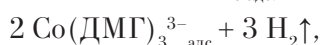
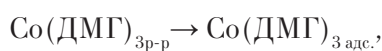
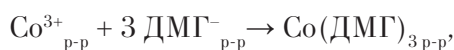
Несмотря на использование ртути, широко распространены и рассматриваются в качестве приоритетных в линейке вольтамперметров во многих лабораториях России, в том числе, осуществляющих аналитический контроль на предприятиях и экологический мониторинг, инверсионные вольтамперметры, на которых реализуются методики с ртутно-плёночными электродами, в том числе дисковые вращающиеся. Для них существуют аттестованные методики определения Co в виде Co^{2+} с диметилглиоксимом. Определение кобальта на ртутно-плёночном электроде (РПЭ) осуществляется согласно методикам, изложенным в документах, в том числе нормативных [4, 12]. Метод измерений основан на предварительной адсорбции диметилглиоксимата кобальта(II) на индикаторном РПЭ с последующим катодным восстановлением данного комплекса. Потенциал максимума регистрируемых катодных пиков (аналитического сигнала) равен $-(1,2 \pm 0,1) В$. Массовые концентрации элемента в пробе определяются по методу добавок аттестованной смеси. Ртуть на поверхность электрода наносят вручную или электрохимически.

В наших исследованиях было замечено, что аналитический эффект, даваемый кобальтом трёхвалентным в ходе инверсионно-вольтамперметрического определения, в десятки раз сильнее выражен, чем при определении в виде кобальта двухвалентного по аттестованной методике, основанной на определении кобальта в виде $Co(II)$ [4, 12]. Кроме того, переводение кобальта в трёхвалентную форму может быть весьма логичной корректировкой уже существующей методики, так как в ходе пробоподготовки различных объектов для определения в них металла приходится действовать окислителями, в том числе пероксидом водорода, которые окисляют кобальт до трёхвалентного, а добавку оператор далее делает из раствора ГСО $Co(II)$. При том,

что величина сигнала Co(II) отличается от величины сигнала в присутствии Co(III) , могут получаться искажённые результаты. Однако аттестованные методики, основанные на определении кобальта в виде Co(III) методом ИВА с дисковым вращающимся ртутно-плёночным электродом в настоящее время отсутствуют. Поэтому целью данной работы стало исследование возможности введения операции предварительного окисления Co^{2+} до Co^{3+} пероксидом водорода в стандартную методику (предназначенную для количественного определения кобальта в растворе в виде Co(II)) методом инверсионной вольтамперометрии с дисковым вращающимся РПЭ.

Материалы и методы

Кобальт определяли методом ИВА с дисковым вращающимся электродом на анализаторе «Экотест-ВА» (ООО «Эконикс-Эксперт», Москва, Россия). Появление аналитического сигнала в виде пиков на вольтамперограмме (рис. 1) обусловлено адсорбционным концентрированием диметилглиоксиматных комплексов (ДМГ) кобальта на поверхности рабочего электрода и, как следствие, током катодного восстановления адсорбированных комплексов:



Параметры измерений были взяты те, которые рекомендуются для определения кобальта в виде двухвалентного на данном приборе (табл. 1) [4].

Плётку ртути на рабочей поверхности углесталлового дискового вращающегося электрода создавали электрохимическим путём – восстановлением ртути из раствора соли ртути(II). Концентрация ДМГ в анализируемом растворе соли кобальта была равна 4,6 мг/дм³.

Использовали ГСО ионов кобальта(II) (ООО «УЗХП», Россия). В ГСО ионы находятся в виде Co^{2+} , поэтому Co^{2+} окисляли до Co^{3+} с помощью пероксида водорода:



Для окисления кобальта из двух- в трёхвалентный 1 см³ ГСО ионов кобальта с концентрацией 1 мг/см³ разбавили в термостойком стакане примерно в 50 см³ дистиллированной воды, добавили 0,2 см³ 0,1 М соляной кислоты и 15 см³ 30% раствора пероксида водорода, кипятили 2–3 мин. После охлаждения раствор разбавили в мерной колбе до 100 см³, получив раствор с концентрацией ионов кобальта (III), равной 10000 мкг/дм³.

Схема исследования:

1. Готовили растворы с точно заданной концентрацией ионов металла (проба) из раствора с концентрацией ионов кобальта(III),

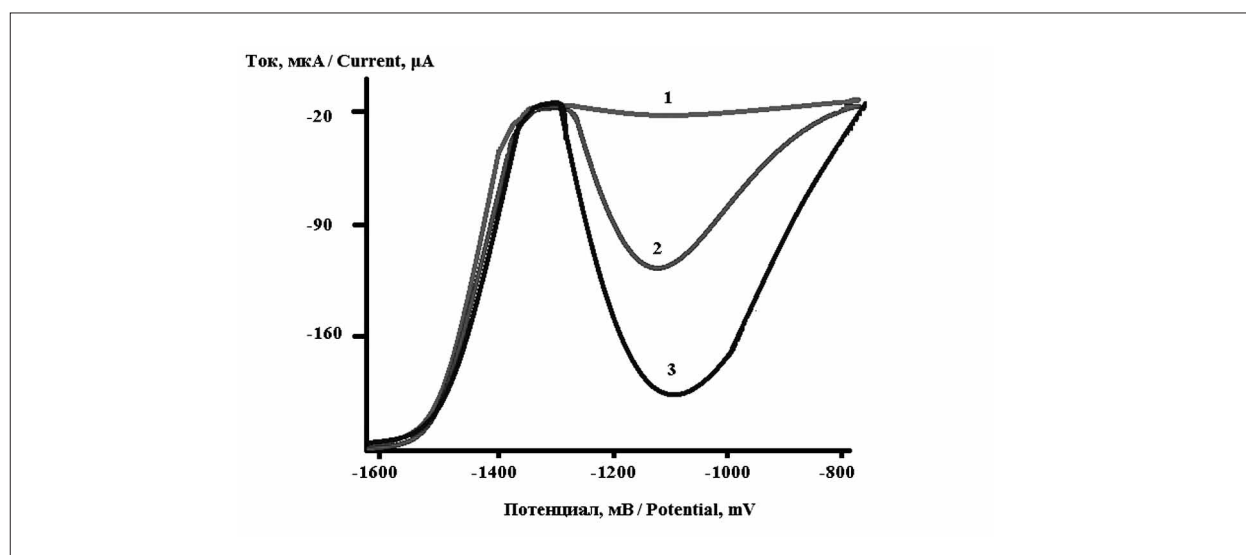


Рис. 1. Вид вольтамперограмм: 1 – фоновый раствор, 2 – проба, 3 – проба + добавка
Fig. 1. Type of voltammograms: 1 – background solution, 2 – sample; 3 – sample + additive

равной 10000 мкг/дм³. Анализ пробы проводили методом добавок.

2. Выявляли области линейной зависимости между концентрацией кобальта и площадью пика на вольтамперограмме при различном времени накопления – 10, 60, 90 и 300 с.

3. Проводили проверку правильности методом «введено-найдено».

4. Устанавливали значения показателей повторяемости и точности методики, предел обнаружения при повторности не менее трёх и $P = 0,95$.

Результаты и обсуждение

Влияние продолжительности накопления на диапазон определяемых концентраций. В ходе работы установлены параметры количественного определения Co^{3+} в растворах. Установлено, что данным методам удаётся обнаружить Co^{3+} с концентрацией 0,016 мкг/дм³. Однако в качестве нижнего предела определения установлена концентрация 0,08 мкг/дм³. Значения коэффициентов аппроксимации (R^2) между концентрациями ионов Co^{3+} в растворе и площадью пика на воль-

Таблица 1 / Table 1

Параметры электрохимического измерения
Parameters of electrochemical measurement

Наименование параметра Parameter Name	Единицы измерения Units	Величина параметра Parameter value
Скорость развёртки потенциала Potential sweep speed	мВ/с mV/s	от 50 до 100 50 to 100
Начало развёртки потенциала Beginning a potential sweep	мВ mV	минус 700 minus 700
Конец развёртки потенциала End of potential sweep	мВ mV	минус 1700 minus 1700
Потенциал накопления Accumulation potential	мВ mV	минус 850 minus 850
Продолжительность накопления Accumulation duration	с s	в методике указано 60 с, дополнительно исследовали при 10, 90 и 300 с the standard method proposed 60 s, additionally investigated at 10, 90 and 300 s
Мешалка / Mixer	–	вкл. / on
Продолжительность успокоения в растворе Duration of sedation in solution	с s	10
Потенциал очистки электрода Electrode cleaning potential	мкА µA	0
Продолжительность очистки электрода Duration of electrode cleaning	с s	зависит от времени накопления depends on accumulation time
Шкала измерения анодного тока Measurement Scale	мкА µA	диапазон 0/20 или 0/200 range 0/20 or 0/200
Электродная схема ячейки Cell electrode circuit	–	трёхэлектродная three-electrode
Вид полярографии Type of polarography	–	переменноточковая alternating current
Амплитуда модуляции Modulation amplitude	мВ mV	30
Частота модуляции Modulation frequency	Гц Hz	25

Примечание: «–» – единицы измерения отсутствуют.
Note: «–» denotes the absence of measuring units.

Таблица 2 / Table 2

Значения коэффициентов аппроксимации (R^2) между концентрациями ионов Co^{3+} в растворе и площадью пиков на вольтамперограмме
The values of the approximation coefficients (R^2) between the concentrations of Co^{3+} ions in solution and the peak area in the voltammogram

Продолжительность накопления, с / Duration of accumulation, s	R^2
10	0,97
60	0,99
90	0,99
300	0,99

Таблица 3 / Table 3

Результаты определения Co^{3+} в растворах ($n = 5, P = 0,95$)
The results of the determination of Co^{3+} in solutions ($n = 5, P = 0.95$)

C, мкг/дм ³ / C, µg/dm ³	
введено / introduced	найдено / found
0,08	0,086±0,010
0,40	0,40±0,05
2,40	2,50±0,30

тамперограммах представлены в таблице 2. Для построения градуировочных зависимостей были взяты растворы с концентрациями ионов металла: 0,08; 0,16; 0,40; 1,60; 2,40 мкг/дм³.

Судя по коэффициентам аппроксимации существует прямая очень тесная взаимосвязь между величиной площади пиков на вольтамперограммах и концентрацией Co^{3+} в диапазоне концентраций от 0,08 до 2,4 мкг/дм³ при любом времени накопления. Следует отметить, что R^2 для времени накопления, равном 10 с, несколько ниже, чем при более продолжительном накоплении. Это обусловлено тем, что площадь пика, соответствующая концентрации 2,4 мкг/дм³ (при продолжительности накопления, равном 10 с) несколько выпадает из прямолинейной зависимости в меньшую сторону. Скорее всего, за счёт того, что за 10 с диметилглиоксиматные комплексы $\text{Co}(\text{III})$ не успевают количественно адсорбироваться на рабочей поверхности РПЭ. Увеличение времени накопления до 60 и 90 с приводит к увеличению площади пика для данной концентрации на 10–15% при очень схожих площадях пиков для других концентраций, тем самым зависимость между концентрацией ионов $\text{Co}(\text{III})$ в растворе и площадью пика на вольтамперограмме становится ещё более тесной (табл. 2). Однако накопление в режиме 300 с приводит к уменьшению площадей пиков на 4–15% по сравнению с показателями при 60 и 90 с. В литературе описано подобное явление в ходе определения кобальта методом адсорбционной инверсионной вольтамперометрии [13]. Таким образом, оптимальным является выбор времени накопления от 60 до 90 с.

Метрологическая характеристика методики определения кобальта в виде Co^{3+} .

Для методики, включающей предварительное окисление $\text{Co}(\text{II})$ до $\text{Co}(\text{III})$ и время накопления 60 секунд, были рассчитаны такие показатели, как повторяемость, правильность и точность [14, 15]. Показатель повторяемости составил 13%. Результаты оценки правильности методики приведены в таблице 3.

Усовершенствованная методика позволяет получить правильные результаты. Точность определения составила 21%. Предел повторяемости – 13%. Нижний предел определения – 0,08 мкг/дм³. Верхним пределом определения можно считать значение концентрации 2,4 мкг/дм³.

Для сравнения, в аттестованной методике МУ 08-47/269 (природная и очищенная сточная вода) диапазон измеряемых концентраций кобальта составляет от 10 до 1000 мкг/дм³ включительно при показателе повторяемости 11–13% и точности 30–40% в зависимости от определяемой концентрации [4].

Таким образом, разрабатываемый подход определения кобальта в виде $\text{Co}(\text{III})$ методом инверсионной вольтамперометрии перспективен для использования в экологическом мониторинге водных сред, особенно питьевого назначения, так как позволяет обнаружить доли микрограмм металла в литре.

Заключение

Исследована возможность и метрологические характеристики методики определения концентрации кобальта в присутствии диме-

тилглиоксима в растворе после окисления Co^{2+} до Co^{3+} пероксидом водорода.

Установлено, что диапазон определяемых концентраций ионов Co^{3+} в растворах без разбавления 0,08–2,40 мкг/дм³. Предел обнаружения – 0,016 мкг/дм³.

Методика, включающая стадию накопления, равную 60 с, имеет показатель точности определения 21%, предел повторяемости – 13%.

Таким образом, предварительное окисление кобальта до $\text{Co}(\text{III})$ позволяет значительно повысить чувствительность и точность анализа, снизить предел определения.

Литература

1. Казаков Б.И. Кобальт и живая природа // Популярная библиотека химических элементов. Книга первая: Водород – палладий. М.: Наука, 1983. С. 347–364.

2. Akl M.A., Ahmad S.A. Ion flotation and flame atomic absorption spectrophotometric determination of nickel and cobalt in environmental and pharmaceutical samples using a thiosemicarbazone derivative // Egypt. J. Chem. 2019. V. 62. No. 10. P. 1917–1931.

3. Скугорева С.Г., Ашихмина Т.Я., Эсаулова А.К., Фокина А.И. Влияние цеолита и гидрофосфата натрия на биоаккумуляцию цинка и кобальта(II) растениями ячменя // Теоретическая и прикладная экология. 2017. № 2. С. 105–113.

4. Инжеватова О.В. Адсорбционная инверсионная вольтамперометрия кобальта и железа в анализе природных вод: дис. ... канд. хим. наук. Екатеринбург, 2007. 124 с.

5. 08-47/269. ФР.1.31.2011.10126. Массовая концентрация меди, свинца, кадмия, цинка, висмута, марганца, никеля и кобальта в питьевых минеральных, природных, морских и очищенных сточных водах. Измерение методом инверсионной вольтамперометрии на вольтамперометрическом анализаторе «Экотест-ВА». М., 2011. 52 с.

6. Ryu K.Y., Lee S.Y., Park D.Y., Kim S.Y., Kim C. A novel colorimetric chemosensor for detection of Co^{2+} and S^{2-} in an aqueous environment // Sensors and Actuators B: Chemical. 2017. V. 242. P. 792–800.

7. Shirani M., Salari F., Habibollahi S., Akbari A. Needle hub in-syringe solid phase extraction based a novel functionalized biopolyamide for simultaneous green separation/preconcentration and determination of cobalt, nickel, and chromium(III) in food and environmental samples with micro sampling flame atomic absorption spectrometry // Microchemical Journal. 2020. V. 152. P. 1–8.

8. Jamshid L., Manzoori J.L., Bavili-Tabrizi A. Cloud point preconcentration and flame atomic absorption spectrometric determination of cobalt and nickel in water samples // Microchimica Acta. 2003. No. 142. P. 130–135.

9. Yazıcı E., Firat M., Chormey D.S., Bakirdere E.G., Bakirdere S. An accurate determination method for cobalt in sage tea and cobalamin: slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry after preconcentration with switchable liquid-liquid microextraction using a schiff base // Food Chemistry. 2020. V. 302. P. 125336.

10. Hamed Al-Saidi M., Gahlan A.A., Farghaly O.A. Glassy carbon electrode modified with alizarin red s as a working electrode for the analysis of cobalt in water and hair using adsorptive stripping voltammetry // International Journal of Electrochemical Science. 2019. No. 14. P. 111–120.

11. Bačinić A., Tumir L.-M., Mlakar M. Electrochemical characterization of cobalt(II)-complexes involved in marine biogeochemical processes. I. Co(II)-4-nitrocatechol and Co(II)-humate // Electrochimica Acta. 2020. V. 337. P. 135797

12. МУ 31-18/06. Количественный химический анализ проб почв, тепличных грунтов, илов, донных отложений, сапропелей, твёрдых отходов. Методика выполнения измерений массовых концентраций никеля и кобальта методом инверсионной вольтамперометрии на анализаторах типа ТА. Томск: ООО НПП Томьаналит, 2006. 21 с.

13. Хенце Г. Полярография и вольтамперометрия. Теоретические основы и аналитическая практика. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. 284 с.

14. РМГ 61-2010. Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. М.: Стандартинформ, 2013. 59 с.

15. Дворкин В.И. Метрология и обеспечение качества химического анализа. М.: Техносфера, 2019. 318 с.

References

1. Kazakov B.I. Cobalt and wildlife // Popular library of chemical elements. Kniga pervaya: Vodorod – palladiy. Moskva: Nauka, 1983. P. 347–364 (in Russian).

2. Akl M.A., Ahmad S.A. Ion flotation and flame atomic absorption spectrophotometric determination of nickel and cobalt in environmental and pharmaceutical samples using a thiosemicarbazone derivative // Egypt. J. Chem. 2019. V. 62. No. 10. P. 1917–1931. doi: 10.21608/EJCHEM.2019.9955.1659

3. Skugoreva S.G., Ashikhmina T.Ya., Esaulova A.K., Fokina A.I. The effect of zeolite and sodium hydrogen phosphate on the bioaccumulation of zinc and cobalt(II) by barley plants // Theoretical and Applied Ecology. 2017. No. 2. P. 105–113 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2017-2-105-113

4. Inzhevatova O.V. Adsorption inversion voltammetry of cobalt and iron in the analysis of natural waters: dis. ... kand. khim. nauk. Ekaterinburg, 2007. 124 p. (in Russian).

5. 08-47/269. FR.1.31.2011.10126. Mass concentration of copper, lead, cadmium, zinc, bismuth, manganese,

nickel and cobalt in drinking mineral, natural, marine and treated wastewater. Measurement by the method of inversion voltammetry on a voltammetric analyzer "Ecotest-VA". 2011. 52 p. (in Russian).

6. Ryu K.Y., Lee S.Y., Park D.Y., Kim S.Y., Kim C. A novel colorimetric chemosensor for detection of Co^{2+} and S^{2-} in an aqueous environment // *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2017. V. 242. P. 792–800. doi: 10.1016/j.snb.2016.09.180

7. Shirani M., Salari F., Habibollahi S., Akbari A. Needle hub in-syringe solid phase extraction based a novel functionalized biopolyamide for simultaneous green separation/preconcentration and determination of cobalt, nickel, and chromium(III) in food and environmental samples with micro sampling flame atomic absorption spectrometry // *Microchemical Journal*. 2020. V. 152. P. 1–8. doi: 10.1016/j.microc.2019.104340

8. Jamshid L., Manzoori J.L., Bavili-Tabrizi A. Cloud point preconcentration and flame atomic absorption spectrometric determination of cobalt and nickel in water samples // *Microchimica Acta*. 2003. No. 142. P. 130–135. doi: 10.1007/s00604-002-0945-1

9. Yazıcı E., Fırat M., Chormey D.S., Bakırdere E.G., Bakırdere S. An accurate determination method for cobalt in sage tea and cobalamin: slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry after preconcentration with switchable liquid-liquid microextraction using a schiff base // *Food Chemistry*. 2020. V. 302. P. 125336. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125336

10. Hamed Al-Saidi M., Gahlan A.A., Farghaly O.A. Glassy carbon electrode modified with alizarin red s as a working electrode for the analysis of cobalt in water and hair using adsorptive stripping voltammetry // *International Journal of Electrochemical science*. 2019. No. 14. P. 111–120. doi: 10.20964/2019.11.50

11. Bačinić A., Tumir L.-M., Mlakar M. Electrochemical characterization of cobalt(II)-complexes involved in marine biogeochemical processes. I. Co(II)-4-nitrocatechol and Co(II)-humate // *Electrochimica Acta*. 2020. V. 337. P. 135797. doi: 10.1016/j.electacta.2020.135797

12. МУ 31-18/06. Quantitative chemical analysis of soil samples, greenhouse soils, silts, bottom sediments, sapropels, solid waste. Methodology for measuring mass concentrations of nickel and cobalt by inversion voltammetry on TA-type analyzers. Tomsk: OOO NPP Tomanalit, 2006. 21 p. (in Russian).

13. Khentse G. Polarography and voltammetry. Theoretical foundations and analytical practice. Moskva: BINOM. Laboratoriya znaniy, 2012. 284 p. (in Russian).

14. RMG 61-2010. State system for ensuring the uniformity of measurements. Indicators of accuracy, correctness, precision of methods of quantitative chemical analysis. Evaluation Methods. Moskva: Standartinform, 2013. 59 p. (in Russian).

15. Dvorkin V.I. Metrology and quality assurance of chemical analysis. Moskva: Tekhnosfera, 2019. 318 p. (in Russian).

Биологическая аккумуляция химических элементов грибами агарикомицетами (*Agaricomycetes*) в условиях Приволжской возвышенности

© 2020. А. И. Иванов¹, д. б. н., профессор, А. Г. Горохова², к. б. н., н. с.,
М. И. Андреева², н. с., К. А. Дурягина³, начальник смены,

¹Пензенский государственный аграрный университет,
440014, Россия, г. Пенза, ул. Ботаническая, д. 30,

²Филиал федерального бюджетного учреждения «Федеральное управление
по безопасному хранению и уничтожению химического оружия при Министерстве
промышленности и торговли Российской Федерации (войсковая часть 70855) –
1206 объект по хранению и уничтожению химического оружия (войсковая часть 21222),
440520, Россия, Пензенская область, п. Леонидовка,

³Филиал федерального бюджетного учреждения «Федеральное управление
по безопасному хранению и уничтожению химического оружия при Министерстве
промышленности и торговли Российской Федерации (войсковая часть 70855) – 1204 объект
по хранению и уничтожению химического оружия (войсковая часть 21225),
243400, Россия, Брянская область, г. Почеп,
e-mail: rcgkim@mail.ru

Изучены закономерности накопления микроэлементов (Mn, Fe, Zn, Co) и токсичных элементов (Cr, Hg, Cd, As, Pb) в плодовых телах 13 видов наиболее распространённых съедобных грибов из класса агарикомицетов. Из четырёх рассмотренных микроэлементов в наибольшем количестве в грибах накапливаются Fe и Zn, которые необходимы для синтеза многих жизненно важных ферментов. Они необходимы всем видам, поэтому различия между их минимальными и максимальными концентрациями в плодовых телах грибов оказываются незначительными. Значение Co и Mn в метаболизме живых организмов в целом, и грибов агарикомицетов в частности, оказывается гораздо меньшим. В связи с этим, их содержание в плодовых телах грибов выражается меньшими показателями, по сравнению с Fe и Zn. Было установлено, что, чем меньшую роль играет химический элемент в метаболизме живых организмов, тем больше различия между максимальными и минимальными концентрациями его содержания в плодовых телах отдельных видов. Таким образом, значение элементов, особенно токсичных, перестаёт быть универсальным, а становится специфичным для разных видов грибов. Выявленные различия в содержании химических элементов в плодовых телах изученных видов съедобных грибов определяются, в первую очередь, не различием содержания рассматриваемых элементов в почвах их местообитаний, а биологическими особенностями отдельных видов.

Ключевые слова: биогенный круговорот, биоконцентрация, микроэлементы, токсичные элементы, съедобные грибы.

Biological accumulation of chemical elements by agaricomycetes mushrooms under conditions of Volga highlands

© 2020. A. I. Ivanov¹ ORCID: 0000-0002-3344-9969, A. G. Gorokhova² ORCID: 0000-0002-1158-4588,
M. I. Andreyeva² ORCID: 0000-0002-5205-5711, K. A. Duryagina³ ORCID: 0000-0002-6185-5147

¹Penza State Agrarian University,

30, Botanicheskaya St., Penza, Russia, 440014,

² Safe Chemical Weapons Storage and Destruction Facility of Affiliated Federal State Budget-
Funded Entity under RF Industry and Trade Ministry (troop unit 70855) –
1206 Facility for Chemical Weapons Storage and Destruction (troop unit 21222),
Leonidovka, Penza region, Russia, 440520,

³ Safe Chemical Weapons Storage and Destruction Facility of Affiliated Federal State Budget-
Funded Entity under RF Industry and Trade Ministry (troop unit 70855) –
1204 Facility for Storage and Destruction of Chemical Weapons (troop unit 21225),
Pochep, Bryansk region, Russia, 243400,
e-mail: rcgkim@mail.ru

There have been studied the regularities of microelements (Mn, Fe, Zn, Co) and toxic elements (Cr, Hg, Cd, As, Pb) accumulation in the fruiting bodies of 13 most widespread species of agaricomycetes edible mushrooms. Among four microelements examined Fe and Zn, necessary for synthesis of numerous vital enzymes, are accumulated in mushrooms most of all. They are needed to all species, that is why the differences between their minimal and maximum concentrations in mushrooms fruit bodies are insignificant. There is somewhat another situation concerning Co and Mn. Their importance in metabolism of living organisms in whole and mushrooms of agaricomycetes in particular, appears to be much smaller. In this connection their content in the fruiting bodies of mushrooms is expressed by the lower values in comparison with Fe and Zn. The less the biological importance of a chemical element, the greater the differences between maximum and minimal concentrations of its content in the fruiting bodies of particular species: that is, the importance of elements, especially toxic ones, is no more universal, it becoming specific for different species of mushrooms. The differences identified in the content of chemical elements in fruiting bodies of the examined edible mushrooms are first of all defined not by the difference of the considered elements content in the soils of their habitual areas but by biological peculiarities of particular species.

Keywords: biogenic cycle, bioconcentration, microelements, toxic elements, edible mushrooms.

Важной особенностью биологии грибов, относящихся к классу агарикомицетов (*Agaricomycetes*), является способность накапливать в плодовых телах и вегетативном мицелии различные химические элементы. В связи с этим очевиден тот факт, что грибы изучаемой группы играют огромную роль в биогеохимических циклах последних в условиях лесных экосистем и жизни древесных растений [1, 2]. Рассматриваемая проблема имеет и прикладное значение, так как многие виды грибов агарикомицетов съедобны и сведения о содержании в их плодовых телах полезных и токсичных микроэлементов представляют интерес с точки зрения гигиены питания.

Цель данной работы – изучить характер накопления микроэлементов жизненно необходимых для грибов – Mn, Fe, Zn, Co, а также токсичных элементов Cr, Hg, Cd, As и Pb в плодовых телах наиболее распространённых видов съедобных грибов.

Материалы и методы исследований

Материалом для данной работы послужили образцы плодовых тел 13 видов съедобных грибов, отбирившиеся с 2010 по 2017 гг. Отбор проб осуществляли в лесных массивах, в условиях которых содержание Mn, Fe, Zn, Co, Hg, Cr, Cd, As, Pb в почвах находится в пределах фоновых показателей для района исследований, а для токсичных элементов в пределах, установленных предельно допустимыми (ПДК) и ориентировочно допустимыми (ОДК) концентрациями.

Пензенская область располагается в пределах центральной части Приволжской возвышенности в 600 км к юго-востоку от г. Москвы. Климат района исследований умеренно-континентальный. Растительный покров имеет типичный лесостепной облик [6].

Анализ образцов грибов и субстратов, на которых они произрастали, выполнен на атомно-абсорбционном спектрометре МГА-915 МД. Лабораторные исследования осуществляли на базе научно-исследовательской лаборатории филиала ФБУ «Федеральное управление по безопасному хранению и уничтожению химического оружия при Министерстве промышленности и торговли РФ (войсковая часть 70855) – 1206 объект по хранению и уничтожению химического оружия (войсковая часть 21222).

Результаты и обсуждение

В результате исследований было установлено, что изученные виды съедобных грибов в плане накопления химических элементов проявляют определённую избирательность (табл. 1, 2).

Как показали наши исследования, эссенциальные микроэлементы Mn, Fe, Zn, Co [3–5] активно накапливаются всеми изученными в процессе выполнения работы видами грибов и их концентрации в плодовых телах выражаются близкими показателями. Наименьшие различия между минимальными и максимальными значениями были определены для Zn, средние – для Co и Fe максимальные – для Mn (табл. 1).

Такие элементы, как Cr, Cd, Hg, Pb и As, токсичны для живых организмов [6–8]. Наименее изучена биоаккумуляция Hg. Поэтому сведения о её содержании в плодовых телах грибов приводятся в очень ограниченном круге работ российских и зарубежных авторов [9, 10]. По сравнению с Mn, Fe, Zn и Co, жизненно-необходимыми для грибов, Cr, Cd, Hg, Pb и As накапливаются ими в меньших количествах и более избирательно (табл. 2). На основе способности аккумулировать их, изученные виды грибов можно разделить на

Таблица 1 / Table 1

Среднее содержание микроэлементов в плодовых телах съедобных грибов, мг/кг сухого веса
Average content of microelements in the fruiting bodies of edible mushrooms,
mg/kg in dry weight chemical element

Вид / Species	Химические элементы / Chemical elements			
	Fe	Co	Zn	Mn
<i>Armillaria ostoyae</i> (Romagn.) Herink	55,10±16,53	0,086±0,026	53,22±15,97	7,58±2,27
<i>Boletus edulis</i> Bull.	102,25±30,68	0,046±0,014	80,86±24,26	11,45±3,44
<i>Cantharellus cibarius</i> Fr.	259,00±77,70	0,030±0,009	79,18±23,75	28,37±8,51
<i>Lactarius citriolens</i> Pouzar.	105,22±31,57	0,038±0,011	77,78±23,33	24,27±7,28
<i>L. deliciosus</i> (L.) Gray)	59,08±17,72	0,082±0,025	138,25±41,48	14,30±4,29
<i>L. torminosus</i> Gray	86,35±25,91	0,050±0,002	98,83±29,65	17,16±5,15
<i>Leccinum aurantiacum</i> (Bull.) Gray	44,11±13,23	0,030±0,009	58,80±17,64	4,27±1,28
<i>L. scabrum</i> (Bull.) Gray	100,66±30,20	0,021±0,006	87,46±26,24	9,34±2,80
<i>L. versipelle</i> (Fr. et Hök) Shell	87,29±26,19	0,029±0,009	71,59±21,48	7,88±2,36
<i>Russula delica</i> Fr.	203,31±61,00	0,051±0,015	67,67±20,30	11,99±3,60
<i>Suillus bovinus</i> (L.) Rousell	76,19±22,86	0,025±0,007	60,70±18,21	6,29±1,89
<i>S. granulatus</i> (L.) Rousell	173,50±52,05	0,025±0,007	80,45±24,14	17,68±5,30
<i>S. luteus</i> (L.) Rousell	125,11±37,53	0,018±0,006	128,80±38,64	18,56±5,57
Среднее значение / Average value	113,63	0,041	83,35	13,78
Соотношение между максимальным и минимальным значением / Relation between maximal and minimal values	5,87	4,09	2,60	6,64

Таблица 2 / Table 2

Среднее содержание токсичных химических элементов в плодовых телах съедобных грибов, мг/кг
Average content of toxic chemical elements in the fruiting bodies of edible mushrooms, mg/kg

Вид / Species	Химические элементы / Chemical elements				
	Cr	Hg	Cd	Pb	As
<i>Armillaria ostoyae</i>	0,09±0,03	0,037±0,011	0,052±0,016	0,46±0,14	1,27±0,38
<i>Boletus edulis</i>	0,56±0,17	0,152±0,050	0,087±0,030	2,61±0,78	1,27±0,38
<i>Cantharellus cibarius</i>	0,73±0,22	0,012±0,004	0,031±0,009	1,13±0,34	0,80±0,24
<i>Lactarius citriolens</i>	0,76±0,23	0,034±0,010	0,017±0,005	1,19±0,36	3,41±1,02
<i>L. deliciosus</i>	4,73±1,42	0,081±0,024	0,054±0,016	1,22±0,37	12,31±3,70
<i>L. torminosus</i>	0,19±0,06	0,043±0,013	0,024±0,007	1,99±0,60	1,32±0,40
<i>Leccinum aurantiacum</i>	0,10±0,03	0,012±0,004	0,900±0,270	1,12±0,37	0,07±0,02
<i>L. scabrum</i>	0,09±0,03	0,029±0,009	0,160±0,048	3,77±1,13	0,80±0,24
<i>L. versipelle</i>	0,04±0,01	0,019±0,006	0,070±0,021	0,90±0,30	3,32±0,99
<i>Russula delica</i>	0,08±0,02	0,050±0,015	0,022±0,007	1,34±0,40	0,36±0,11
<i>Suillus bovinus</i>	0,16±0,05	0,026±0,008	0,030±0,009	0,05±0,02	6,99±2,1
<i>Suillus granulatus</i>	0,11±0,03	0,037±0,011	0,210±0,063	3,59±1,08	3,75±1,13
<i>S. luteus</i>	0,14±0,04	0,037±0,011	0,240±0,072	1,53±0,50	4,17±1,25
Среднее значение / Average value	0,60	0,04	0,15	1,60	3,06
Соотношение между максимальным и минимальным значением Relation between maximal and minimal values	118,25	12,70	52,94	75,40	175,86

три группы: слабо аккумулирующие, аккумулирующие и сильно аккумулирующие (табл. 2).

Так, в отношении **Cg** слабо аккумулирующими (менее 0,01 мг/кг) являются *Armillaria ostoyae*, *Leccinum scabrum*, *L. versipelle*, *Russula delica*; аккумулирующими (от 0,01 до 1,00 мг/кг) – *Cantharellus cibarius*, *Lactarius citriolens*, *L. torminosus*, *Leccinum aurantiacum*, *Suillus bovinus*, *S. granulatus*, *S. luteus*; сильно аккумулирующими (более 1,00 мг/кг) – *Lactarius deliciosus*. Максимальный показатель содержания этого элемента превышает минимальный в 118 раз.

В отношении **Hg** слабо аккумулирующими (менее 0,03 мг/кг) являются *Armillaria ostoyae*, *Lactarius citriolens*, *Leccinum aurantiacum*, *L. scabrum*, *L. versipelle*, *Suillus bovinus*, *S. granulatus*, *S. luteus*; аккумулирующими (от 0,30 до 0,70 мг/кг) – *Lactarius torminosus*, *Russula delica*; сильно аккумулирующие (более 0,70 мг/кг) – *Boletus edulis* и *Lactarius deliciosus*. Максимальный показатель содержания этого элемента превышает минимальный в 12,7 раз.

По отношению к **Cd** слабо аккумулирующими (менее 0,03 мг/кг) являются *Leccinum aurantiacum*, *L. versipelle*, *Lactarius citriolens*, *L. torminosus*, *Suillus bovinus*, *Russula delica*; аккумулирующими (от 0,04 до 0,10 мг/кг) – *Armillaria ostoyae*, *Lactarius deliciosus*; сильно аккумулирующие (более 0,10 мг/кг) – *Boletus edulis*, *L. scabrum*, *Suillus granulatus*, *S. luteus*. Максимальный показатель превышает минимальный в 52,9 раза.

По отношению к **Pb** слабо аккумулирующими (менее 1,00 мг/кг) являются *Armillaria ostoyae*, *Leccinum versipelle*, *Suillus bovinus*; аккумулирующими (от 1,00 мг/кг до 3,00 мг/кг) – *Boletus edulis*, *Leccinum aurantiacum*, *Lactarius citriolens*, *L. deliciosus*, *L. torminosus*, *Russula delica*, *S. luteus*; сильно аккумулирующими (более 3,00 мг/кг) – *Suillus granulatus* и *L. scabrum*. Максимальный показатель превышает минимальный в 75,4 раза.

По отношению к **As** слабо аккумулирующими (менее 1,00 мг/кг) являются *Leccinum aurantiacum*, *L. scabrum*, *Russula delica*; аккумулирующими (от 1,00 до 5,00 мг/кг) – *Armillaria ostoyae*, *Boletus edulis*, *Leccinum versipelle*, *Lactarius citriolens*, *L. torminosus*, *Suillus granulatus*, *S. luteus*; сильно аккумулирующими (более 5,00 мг/кг) – *Lactarius deliciosus* и *Suillus bovinus*. Максимальный показатель превышает минимальный в 175,9 раза.

Как показывает сравнение данных, полученных в результате исследований, с данными

других исследователей, по содержанию рассматриваемых элементов в съедобных грибах они вполне сопоставимы [9, 11–13]. Однако в настоящее время их сравнение и выявление региональных особенностей в накоплении химических элементов в съедобных грибах не представляется возможным, так как в работах различных авторов приводятся разные виды. По мнению же большинства авторов, главным фактором, определяющим характер накопления химических элементов в плодовых телах грибов, является их видовая принадлежность [14–16]. Поэтому изучение характера биоаккумуляции химических элементов в географическом аспекте может дать объективный результат лишь при сравнении идентичных списков видов, в плодовых телах которых проводилось изучение характера биологической аккумуляции тех или иных химических элементов.

В некоторых работах также отмечается зависимость характера биоадсорбции химических элементов от состава субстрата [17, 18]. Однако большинство работ, посвящённых этой проблеме, содержат сведения, отрицающие значительное влияние данного фактора [19, 20].

Заключение

Интенсивность накопления химических элементов в плодовых телах агарикомицетов зависит от их роли в физиологических процессах грибных организмов. Жизненно необходимые элементы накапливаются в них в больших количествах, чем токсичные. Из четырёх рассмотренных микроэлементов в наибольших количествах накапливаются Fe и Zn. Они необходимы всем видам, поэтому различия между их минимальными и максимальными концентрациями в плодовых телах оказываются не существенными. Роль Co и Mn в метаболизме грибов менее значительна. Соответственно и их содержание в плодовых телах выражается меньшими величинами. Как показывает сравнение различий между максимальными и минимальными концентрациями рассматриваемых химических элементов, в плодовых телах изученных видов грибов наблюдается важная закономерность. Эссенциальные микроэлементы, необходимые для процессов жизнедеятельности живым организмам, накапливаются всеми видами грибов и их содержание в плодовых телах различных видов выражается близкими значениями. Максимальные показатели оказываются выше минимальных не более, чем в шесть раз.

Максимальные показатели содержания токсичных элементов превышают минимальные в двенадцать и более раз. Это указывает на то, что активно концентрировать в плодовых телах Sr, Hg, Cd, Pb и As могут лишь немногие виды. Вероятно, токсичные элементы каким-то образом включаются в их метаболизм, однако физиологический механизм этого явления требует специальных исследований.

Литература

1. Meharg A.A., Cairney J.W.G. Coevolution of mycorrhizal symbionts and their hosts to metal contaminated environments // *Advances in Ecological Research*. 1999. No. 30. P. 70–112.
2. Colpaert J.V., Assche J.A. The effects of cadmium on ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* L. // *New Phytologist*. 1993. No. 123. P. 325–333.
3. Grilton R. Inorganic biochemistry of iron metabolism: from molecular mechanism to clinical consequences. New York: John Wiley & Sons, Ltd., 2001. 342 p.
4. Беккер З.В. Физиология и биохимия грибов. М.: Издательство Московского университета, 1988. 230 с.
5. Иванов А.И., Чернышов Н.В., Кузин Е.Н. Природные условия Пензенской области. Современное состояние. Пенза: РИО ПГУ, 2017. Т. 1. 236 с.
6. Никитина О.В., Шалеев С.В., Горшина Е.С., Русинова Т.В., Ярополов А.И. Роль ионов двухвалентного марганца в функционировании лигнолитических ферментов базидиального гриба *Trametes pubescens* // *Вестник Московского университета. Серия 2. Химия*. 2005. Т. 46. № 4. С. 267–273.
7. Онищенко Г.Г., Новиков С.М., Рахманин Ю.А., Авалиани С.Л., Буштуева К.А. Основы оценки риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду. М.: НИИ ЭЧ и ГОС, 2002. 408 с.
8. Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду Р – 2.1.10.1920-04. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 143 с.
9. Kalac P., Svoboda L., Havlickova B. Contents of cadmium and mercury in edible mushroom // *Journal of Applied Biomedicine*. 2004. No. 2. P. 15–20.
10. Demirbas A. Concentration of 21 metals in 18 species of mushroom growing in the East Black Sea region // *Food Chemistry*. 2001. No. 75. P. 453–457.
11. Цапалова И.Э., Бакайтис В.И., Кутафьева Н.П., Позняковский В.М. Экспертиза грибов. Качество и безопасность. Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2009. 288 с.
12. Королева Ю.В., Стеганцев В.В., Вихранева О.П., Чибисова Н.В. Аккумуляция тяжёлых металлов лесными грибами в Калининградской области // *Вестник*

Балтийского федерального университета им. И. Канта. 2014. № 1. С. 78–85.

13. Laaksovirta K., Lodenius M. Mercury content of fungi in Helsinki // *Ann. Bot. Fenn.* 1979. No. 16. P. 208–212.

14. Иванов А.И., Горохова А.Г., Андреева М.И., Мухамедшин Р.К. Биологическая аккумуляция кадмия плодовыми телами агарикомицетов (*Agaricomycetes*) // *Микология и фитопатология*. 2017. Т. 51. № 3. С. 158–167.

15. Melgar M., Alonso J., Perez-Lopez M., Garcia M.A. Influence of some factors in toxicity and accumulation of cadmium from edible wild macrofungi in Spain // *J. Environm. Sci. Health*. 1998. V. 33. No. 4. P. 439–455.

16. Tyler G. Accumulation and exclusion of metals in *Collybia peronata* and *Amanita rubescens* // *Tran. Brit. Mycol. Soc.* 1982. V. 79. No. 2. P. 239–245.

17. Gast C.H., Jansen E., Bierling J., Haanstra L. Heavy metals in mushrooms and their relationship with soil characteristics // *Chemosphere*. 1988. V. 17. No. 4. P. 789–799.

18. Michelot D., Poirer F., Melendez-Howell L. Metal content profiles in mushrooms collected in primary forest of Latin America // *Arch. Environm. Contaminat. Toxicol.* 1999. No. 36. P. 256–263.

19. Stivje T., Besson R. Mercury, cadmium, lead and selenium content of mushroom species belonging to the genus *Agaricus* // *Chemosphere*. 1976. No. 2. P. 151–158.

20. Иванов А.И., Костычев А.А., Скобанев А.В. Аккумуляция тяжёлых металлов и мышьяка базидиомами макромицетов различных трофических и таксономических групп // *Поволжский экологический журнал*. 2008. № 3. С. 190–199.

References

1. Meharg A.A., Cairney J.W.G. Coevolution of mycorrhizal symbionts and their hosts to metal contaminated environments // *Advances in Ecological Research*. 1999. No. 30. P. 70–112. doi: 10.1016/S0065-2504(08)60017-3
2. Colpaert J.V., Assche J.A. The effects of cadmium on ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* L. // *New Phytologist*. 1993. No. 123. P. 325–333. doi: 10.1111/j.1469-8137.1993.tb03742.x
3. Grilton R. Inorganic biochemistry of iron metabolism: from molecular mechanism to clinical consequences. New York: John Wiley & Sons, Ltd., 2001. 342 p.
4. Bekker Z.V. Physiology and biochemistry of fungi. Moskva: Izdatel'stvo Moskovskogo universiteta, 1988. 230 p. (in Russian).
5. Ivanov A.I., Chernyshov N.V., Kuzin E.N. Natural conditions of the Penza region. Current status. Penza: RIO PGU, 2017. V. 1. 236 p. (in Russian).
6. Nikitina O.V., Shaleev S.V., Gorshina E.S., Rusinova T.V., Jaropolov A.I. Physiology and biochemistry of fungi // *Vestnik Moskovskogo Universiteta. Seriya 2. Himiya*. 2005. V. 46. No. 4. P. 267–273 (in Russian).

7. Onishhenko G.G., Novikov S.M., Rahmanin Yu.A., Avaliani S.L., Bushtueva K.A. Basis for assessing the risk to public health when exposed to chemicals polluting the environment. Moskva: Research Institute of Human Ecology and Environmental Hygiene, 2002. 408 p. (in Russian).
8. Guidance on the assessment of public health risks from exposure to chemicals that pollute the environment. R 2.1.10.1920-04. Moskva: Federal'nyy centr gossan'yepidnadzora Minzdrava Rossii, 2004. 143 p. (in Russian).
9. Kalac P., Svoboda L., Havlickova B. Contents of cadmium and mercury in edible mushroom // Journal of Applied Biomedicine. 2004. No. 2. P. 15–20. doi: 10.32725/jab.2004.002
10. Demirbas A. Concentration of 24 metals in 18 species of mushroom growing in the East Black Sea region // Food Chemistry. 2001. No. 75. P. 453–457. doi: 10.1016/S0308-8146(01)00236-9
11. Capalova I.Je., Bakajtis V.I., Kutaf'eva N.P., Poznyakovskiy V.M. Examination of fungi. Quality and safety. Novosibirsk: Sibirskoe universitetskoe izdatel'stvo, 2009. 288 p. (in Russian).
12. Koroleva Ju.V., Stegancev V.V., Vihraneva O.P., Chibisova N.V. Accumulation of heavy metals by forest mushrooms in the Kaliningrad region // Vestnik Baltiyskogo federal'nogo universiteta im. I. Kanta. 2014. No. 1. P. 78–85 (in Russian).
13. Laaksovirta R., Lodenius M. Mercury content of fungi in Helsinki // Ann. Bot. Fenn. 1979. No. 16. P. 208–212.
14. Ivanov A.I., Gorohova A.G., Andreeva M.I., Mухamedshin R.K. Biological accumulation of cadmium by the fruit bodies of agaricomycetes // Mikologiya i fitopatologiya. 2017. V. 51. No. 3. P. 158–167 (in Russian).
15. Melgar M., Alonso J., Perez-Lopez M., Garcia M.A. Influence of some factors in toxicity and accumulation of cadmium from edible wild macrofungi in Spain // J. Environm. Sci. Health. 1998. V. 33. No. 4. P. 439–455. doi: 10.1080/03601239809373156
16. Tyler G. Accumulation and exclusion of metals in *Collybia peronata* and *Amanita rubescens* // Tran. Brit. Mycol. Soc. 1982. V. 79. No. 2. P. 239–245. doi: 10.1016/S0007-1536(82)80109-5
17. Gast C.H., Jansen E., Bierling J., Haanstra L. Heavy metals in mushrooms and their relationship with soil characteristics // Chemosphere. 1988. V. 17. No. 4. P. 789–799. doi: 10.1016/0045-6535(88)90258-5
18. Michelot D., Poirer F., Melendez-Howell L. Metal content profiles in mushrooms collected in primary forest of Latin America // Arch. Environm. Contaminat. Toxicol. 1999. No. 36. P. 256–263. doi: 10.1016/0045-6535(88)90258-5
19. Stivje T., Besson R. Mercury, cadmium, lead and selenium content of mushroom species belonging to the genus *Agaricus* // Chemosphere. 1976. No. 2. P. 151–158.
20. Ivanov A.I., Kostychev A.A., Skobanov A.V. Heavy metal accumulation and arsenic basidiome of macromycetes of different trophic and taxonomic groups // Povolzhskiy ekologicheskiy zhurnal. 2008. No. 3. P. 190–199 (in Russian).

Накопление полиаренов в почвах и растениях южной тундры под действием процессов добычи и сжигания угля

© 2020. Е. В. Яковлева, к. б. н., н. с., Д. Н. Габов, к. б. н., с. н. с.,
Институт биологии Коми научного центра УрО РАН,
167982, Россия, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,
e-mail: kaleeva@ib.komisc.ru

Проведены исследования содержания полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в органических горизонтах тундровых почв и растениях южной тундры под воздействием предприятий по добыче и сжиганию угля. Установлено, что почвы, лишайники и мхи тундровых фитоценозов в большей степени загрязнены ПАУ в зонах воздействия шахты. Максимум содержания ПАУ в зоне действия шахты приходился на расстояние 0,5 км, в зоне действия ТЭС – 1 км от источника. Показаны сходные закономерности накопления полиаренов почвами и исследованными видами растений под действием процессов добычи и сжигания угля. Для мхов, лишайников, листьев и ветвей *Betula nana* L. в условиях загрязнения минимальное накопление ПАУ на поверхности выявлено при максимальном общем содержании ПАУ в растениях. Снижение количества полиаренов, поступающих на поверхность, приводило к снижению уровня их биоаккумуляции. В качестве индикаторов загрязнения тундровых фитоценозов ПАУ рекомендуется использовать мох *Pleurozium schreberi* для диагностики длительного воздействия и листья *B. nana* для оценки краткосрочных изменений в содержании ПАУ.

Ключевые слова: полициклические ароматические углеводороды, южная тундра, почва, растения, угольная шахта, теплоэлектростанция.

Accumulation of polyarenes in soils and plants of the south tundra zone affected by coal mining and thermal power plant

© 2020. E. V. Yakovleva ORCID: 0000-0003-0793-1468
D. N. Gabov ORCID: 0000-0002-3786-9872
Institute of Biology of Komi SC UrB RAS,
28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,
e-mail: kaleeva@ib.komisc.ru

The content of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the organic soil horizons and plants of the south tundra zone has been studied in the areas affected by coal mining and coal thermal power plant (TPP). The soils, mosses, and lichens of tundra phytocenoses are discovered to be more polluted by polyarenes in the coal mining areas. The same pollution levels are defined for dwarf shrubs and shrubs in the mining area and near the power station. The highest PAHs distribution level is observed at a distance of 0.5 km from the Vorkutinskaya mine and 1 km from the power station. The diagnostic ratio fluoranthene/chrysene and fluoranthene/benzo[b]fluoranthene in the *Pleurozium schreberi* lichen mosses is suggested to use for defining of the polyarene origin in the tundra ecosystems. The same polyarenes accumulation is found in the soils and plants under the influence of coal mining and burning. The surface PAHs contamination is minimal when general PAHs content is maximal for mosses, lichens, and *Betula nana* L. leaves and branches in the polluted areas. With polyarenes inflow decreasing their bioaccumulation level in the plants also reduces. The moss *Pleurozium schreberi* is recommended to be used as a pollution indicator of tundra phytocenoses with different PAHs and leaves of *B. nana* – for assessment of short-time changes in content of polyarenes. The general content rather than the surface accumulation data are better to apply in the monitoring studies, because the surface accumulation data are more variable.

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons, southern tundra, soil, plants, coal mine, thermal power plant.

Тундровые экосистемы наряду с высоким ресурсным потенциалом характеризуются низкой устойчивостью к антропогенным воздействиям. В тундровой зоне Европейского Северо-Востока России широко распространена добыча каменного угля и использование его как топлива. Воркута – центр угольной промышленности, вблизи сконцентрировано шесть угольных шахт и две ТЭС, работающих на угле, что ведёт к негативным изменениям в почвенном и растительном покрове. Приоритетными загрязнителями, образующимися при добыче и сжигании угля, являются полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) [1]. ПАУ характеризуются токсичными, мутагенными и канцерогенными свойствами по отношению к живым организмам [2–5], их принято разделять на лёгкие – 2–4 ядерные, и тяжёлые 5–6 ядерные. ПАУ, поступающие в атмосферу из разных источников, попадают на поверхность растений, активно аккумулируясь в них, и в дальнейшем мигрируют и накапливаются по всей пищевой цепи [6].

К настоящему времени в литературе имеются данные о влиянии разных промышленных источников ПАУ на объекты окружающей среды [7–10]. Исследования содержания ПАУ в органогенных горизонтах почв, мхах и сосудистых растениях вблизи ТЭС, расположенной на архипелаге Шпицберген [9] показали, что наиболее чувствительным индикатором загрязнения ПАУ является сообщество мхов с круглогодичным вегетационным периодом. Показаны тесные корреляции между содержанием полиаренов в почвах и растениях в зоне действия ТЭС. Сходные данные получены для зоны воздействия Новочеркасской ГРЭС, работающей на угле и природном газе. Установлено, что загрязнению бенз[а]пиреном наиболее подвержены почвы и травянистые растения 5 км зоны на северо-запад от ГРЭС [1, 11]. Наибольшей способностью к биоаккумуляции отличалась корневая часть травянистых растений, что совпадает с нашими данными для травянистых растений в зоне действия шахт «Воркутинская» и «Юнь-яга». Наши исследования показали, что в почвах и растениях как загрязнённых, так и контрольных участков лёгкие ПАУ были более распространены [12].

В настоящее время, наряду с присутствием большого массива информации по накоплению ПАУ почвами под действием различных промышленных источников [1, 14, 15], исследованию аккумуляции ПАУ растениями уделяется мало внимания. При этом растения,

как первые звенья трофических цепей, могут служить чувствительными индикаторами загрязнения, что особенно важно для тундровых фитоценозов, характеризующихся слабой способностью к восстановлению.

Целью данной работы было выявить особенности накопления ПАУ органогенными горизонтами почв и растениями южной тундры под действием угледобывающей и углеперерабатывающей промышленности.

Материалы и методы

В ходе работы исследовали содержание ПАУ в органогенных горизонтах тундровых почв и растениях южной тундры под воздействием предприятий по добыче и сжиганию угля. Почвы и растения отбирали в районе действия ТЭС-2 и шахты «Воркутинская» на расстоянии 0,5; 1,0 и 1,5 км от источников эмиссии в северо-восточном направлении, с учётом приоритетного направления ветров. Одновременно проводили отбор растений и смешанных проб почв органогенных горизонтов с 3 типичных площадок площадью 1 м². Исследованные типы почв тундровая поверхностно-глеевая (0,5 км от шахты «Воркутинская»; 0,5, 1 и 1,5 км от ТЭС), сухоторфяная мерзлотная почва бугров (1,0 км от шахты), тундровая торфянисто-глеевая (1,5 км от шахты). Исследованы виды растений трёх групп: лишайники рода *Peltigera*: *Peltigera leucophlebia* (Nyl.) Gyeln. (шахта) и *P. rufescens* (Weiss) Humb. (ТЭС), мох – *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt., кустарник – *Betula nana* L. Мхи при анализе разделяли на отмершую и живую часть, кустарники на листья, ветви, кору, стебли и корни.

Химико-аналитические исследования выполнены в ЦКП «Хроматография» ИБ ФИЦ Коми НЦУрО РАН. Определение ПАУ в растениях и почве проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на жидкостном хроматографе «Люмахром». ПАУ в почвах были определены по методике ПНД Ф 16.1:2:2.2:3.39-03. Методика определения ПАУ в растениях описана в работе [13]. Для исследованных выборок с помощью теста Колмогорова-Смирнова установлено нормальное распределение. Статистическую обработку проводили при помощи *t*-критерия Стьюдента, $P = 0,95$. Полученные данные сравнивали с результатами для фонового участка, расположенного в 6 км от ст. Хановей. Данные по содержанию ПАУ в почвах и растениях фонового участка были опубликованы ранее [13].

Результаты и обсуждение

Сравнение накопления полиаренов в органических горизонтах почв зоны действия ТЭС и шахты «Воркутинская» показало, что содержание всех ПАУ было выше под действием угледобычи, по сравнению с последствиями сжигания угля. Для общего содержания кратности составляли 2–3 раза для суммы ПАУ и суммы лёгких ПАУ и 1–3 раза для тяжёлых структур. На расстоянии в 1 км от предприятий наблюдали наименьшие кратности превышения, так как максимум распространения ПАУ в зоне действия ТЭС приходился на расстояние в 1 км от источника, под влиянием шахты «Воркутинская» на 0,5 км. Возможно, оседание тяжёлых ПАУ на более далёких расстояниях связано с высотой трубы ТЭС. Кроме того, при сжигании угля образуются частицы меньшего размера по сравнению с частицами угольной пыли и ПАУ на них могут интенсивнее перемещаться. Лёгкие ПАУ, предположительно, могли перемещаться ещё дальше, и максимум их присутствия мог бы быть отмечен на 3–5 км от ТЭС. Данные о преимущественном оседании ПАУ вблизи источника были получены и другими авторами, и объяснялись особенностями рельефа [9, 10]. При исследовании накопления бенз[а]пирена в почвах под воздействием Новочеркасской ГРЭС [4], максимум накопления ПАУ в почвах был

выявлен на удалении 1,6 км от источника, в то время как на расстоянии 1,2 км массовая доля ПАУ была ниже, что коррелирует с полученными нами данными.

Было выявлено, что на разных удаленностях от предприятий наиболее характерной структурой для процессов добычи угля был флуорантен, для процессов сжигания угля – хризен и бенз[b]флуорантен. Коэффициенты корреляции состава ПАУ органических горизонтов почв в зоне действия разных предприятий составили $r = 0,96–0,99$ ($n = 3$), для мха *P. schreberi* $r = 0,99$ ($n = 3$), для лишайников рода *Peltigera* $r = 0,96–0,99$, для *B. nana* $r = 0,94–0,99$.

Превышение массовой доли индивидуальных ПАУ в растениях под действием шахты по сравнению с ТЭС было одинаково для отдельных видов и групп. Для *B. nana*, отличавшейся незначительным накоплением ПАУ в зоне действия обоих предприятий, не отмечено значимых превышений содержания ПАУ в зоне действия шахты, по сравнению с участками, подверженными влиянию ТЭС. Наивысшие кратности превышения характерны для расстояния 0,5 км и составляют 1,3 раза для общего содержания и для отдельных ПАУ. Содержание ПАУ в лишайниках рода *Peltigera* в зоне действия шахты в 2–3 раза выше, чем в зоне действия ТЭС, для большинства индивидуальных ПАУ и их общего содержания,

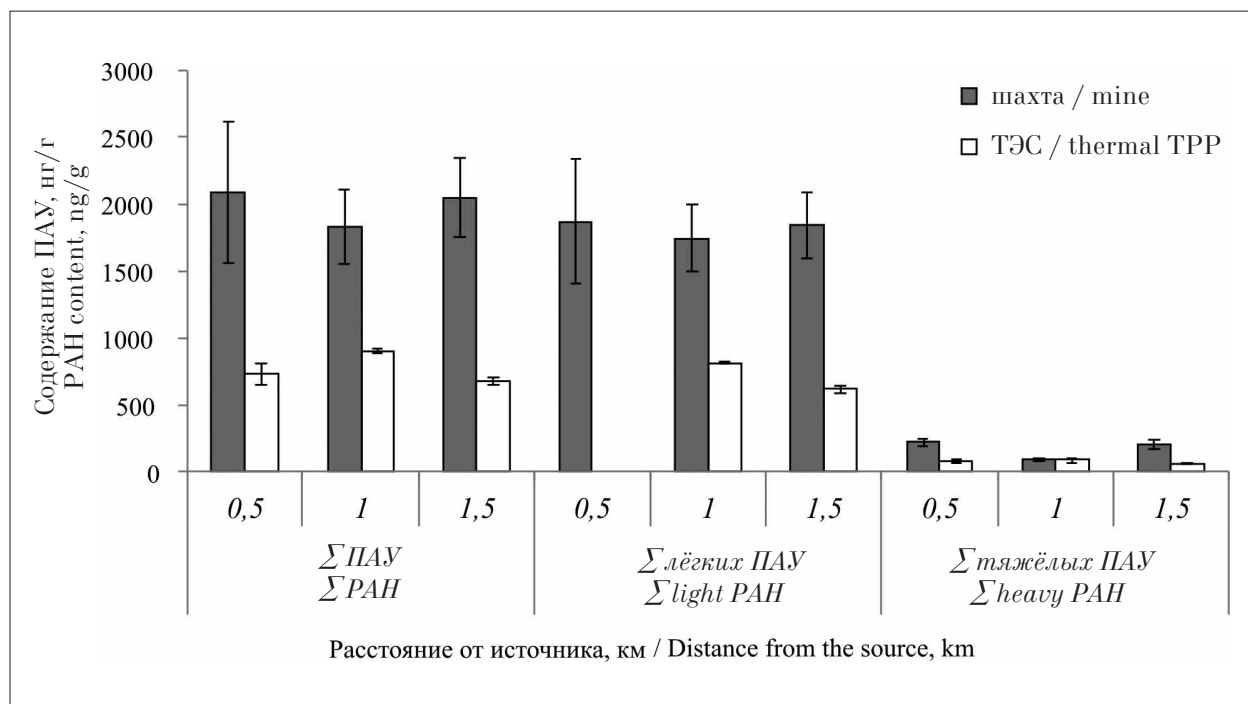


Рис. 1. Содержание ПАУ в органических горизонтах почв, нг/г
 Fig. 1. Content of PAH in organogenic horizons of soils, ng/g

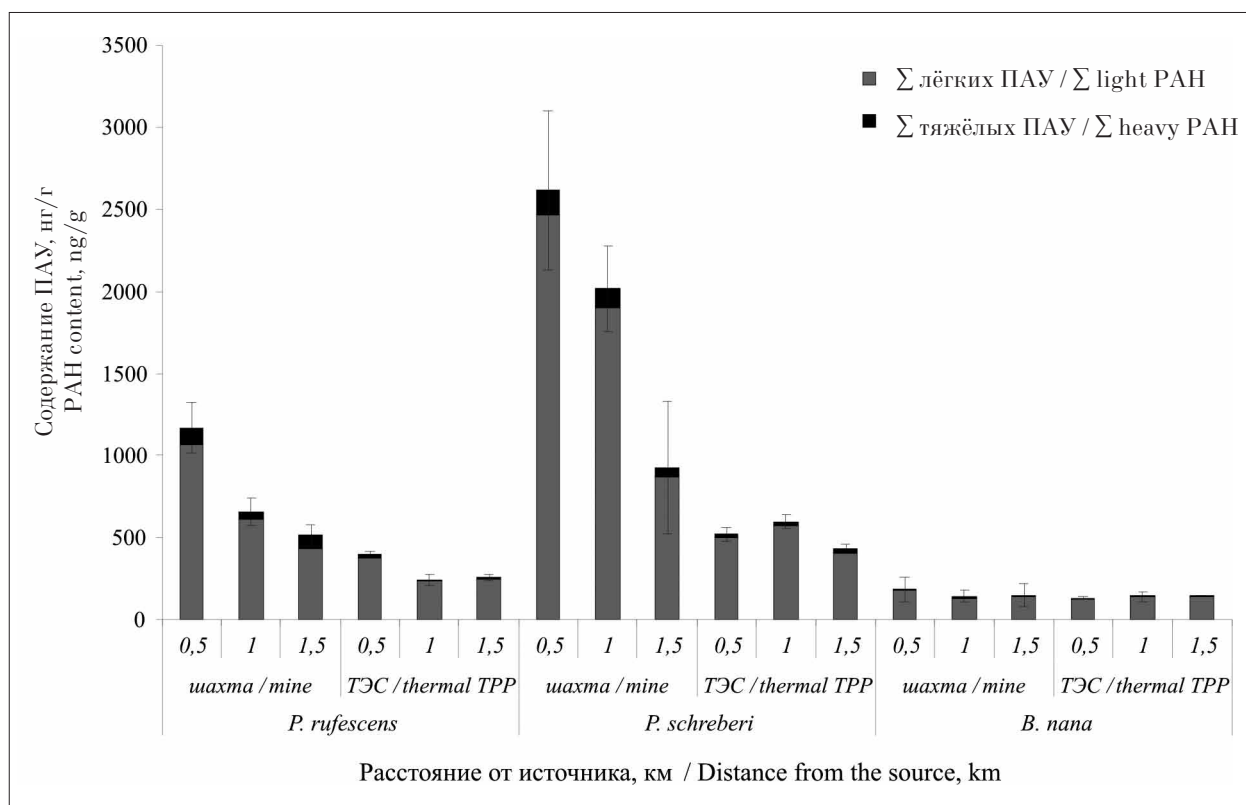


Рис. 2. Содержание ПАУ в растениях разных видов, нг/г
Fig. 2. Content of PAH in plants of different species, ng/g

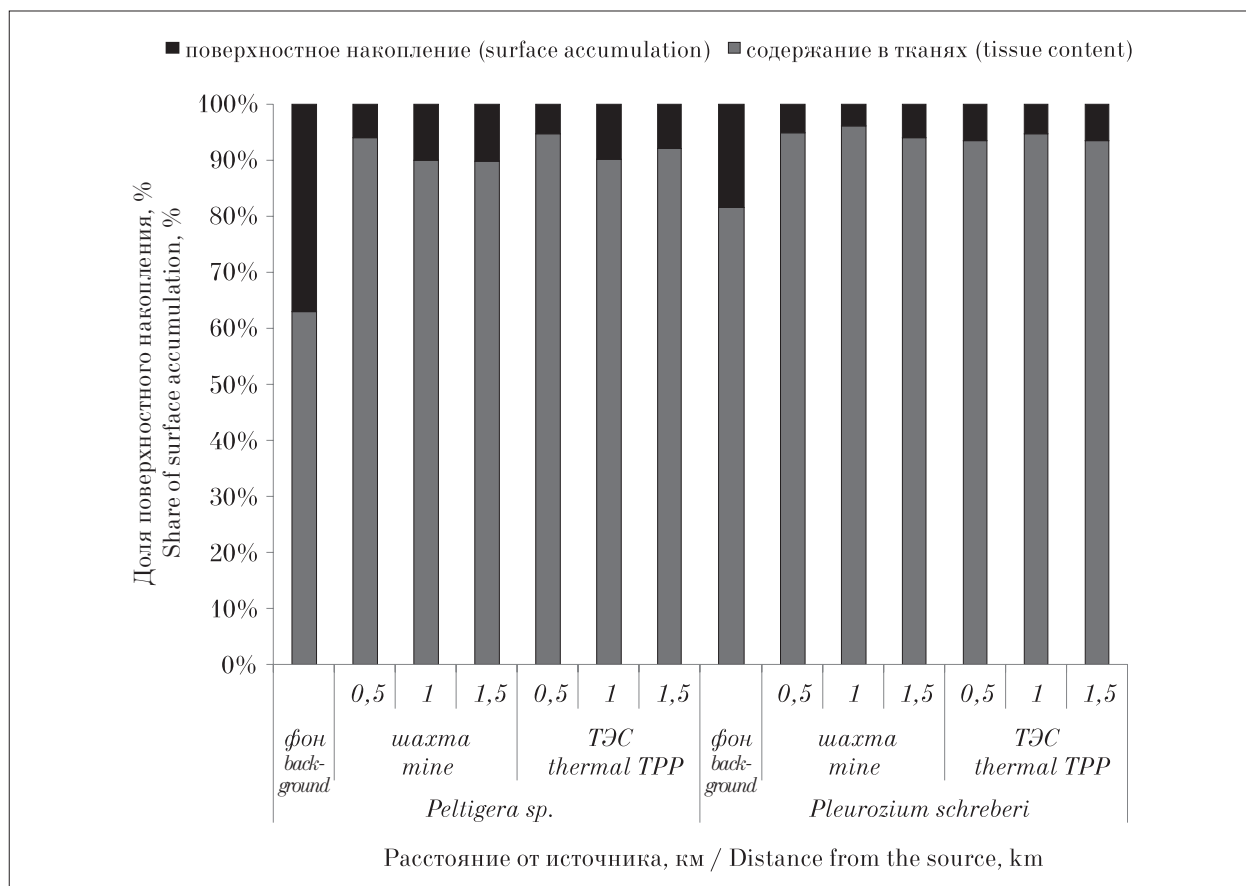


Рис. 3. Вклад поверхностного накопления в общее содержание ПАУ в растениях, %
Fig. 3. Contribution of surface accumulation to total PAH content in plants, %

для тяжёлых структур значения кратностей составляют 4–10 раз. Для мха *P. schreberi* под действием шахты, по сравнению с ТЭС, возросло количество 2–3- и 5–6-ядерных ПАУ. Кратности превышения содержания ПАУ во мхе зоны действия шахты, по сравнению с ТЭС, закономерно убывали по мере удаления от источников. Для видов рода *Peltigera* кратности превышения снижались с удалением в меньшей степени.

Массовая доля ПАУ на поверхности *B. nana*, мхов *P. schreberi* и лишайников рода *Peltigera* изменялась сходным образом с общим содержанием. Закономерности накопления ПАУ разными растениями под действием шахты и ТЭС были подобны (рис. 3).

Для лишайников рода *Peltigera* на фоновом участке характерны высокие количества ПАУ, главным образом, находящиеся на поверхности лишайников. Под действием разного рода источников ПАУ, они начинают активно проникать внутрь, при этом содержание на поверхности остаётся на фоновом уровне (ТЭС) или снижается (шахта), но его вклад в общее содержание ПАУ резко уменьшается. Мох

P. schreberi в естественных условиях не накапливал значительные количества ПАУ, полиарены концентрировались внутри растения и, по-видимому, могли синтезироваться в нём. В условиях загрязнения происходило активное поглощение ПАУ мхом, содержание на поверхности возрастало по сравнению с фоновым уровнем, но его вклад в общее содержание ПАУ снижался. Для мхов и лишайников в условиях загрязнения минимум поверхностного загрязнения совпадал с максимальным общим содержанием ПАУ, снижение уровня поступления ПАУ вело к снижению биоаккумуляции.

Для листьев и ветвей *B. nana* показаны сходные закономерности (рис. 4). На поверхности листьев фонового участка находилось 58% ПАУ, в условиях загрязнения доля поверхностного накопления снижалась до 18% в 0,5 км от ТЭС, до 27–28% – в 1 и 1,5 км, для зоны шахты отмечено снижение до 25–30%. Снижение поверхностного накопления по сравнению с фоновыми значениями было отмечено в меньшей степени и для ветвей *B. nana*.

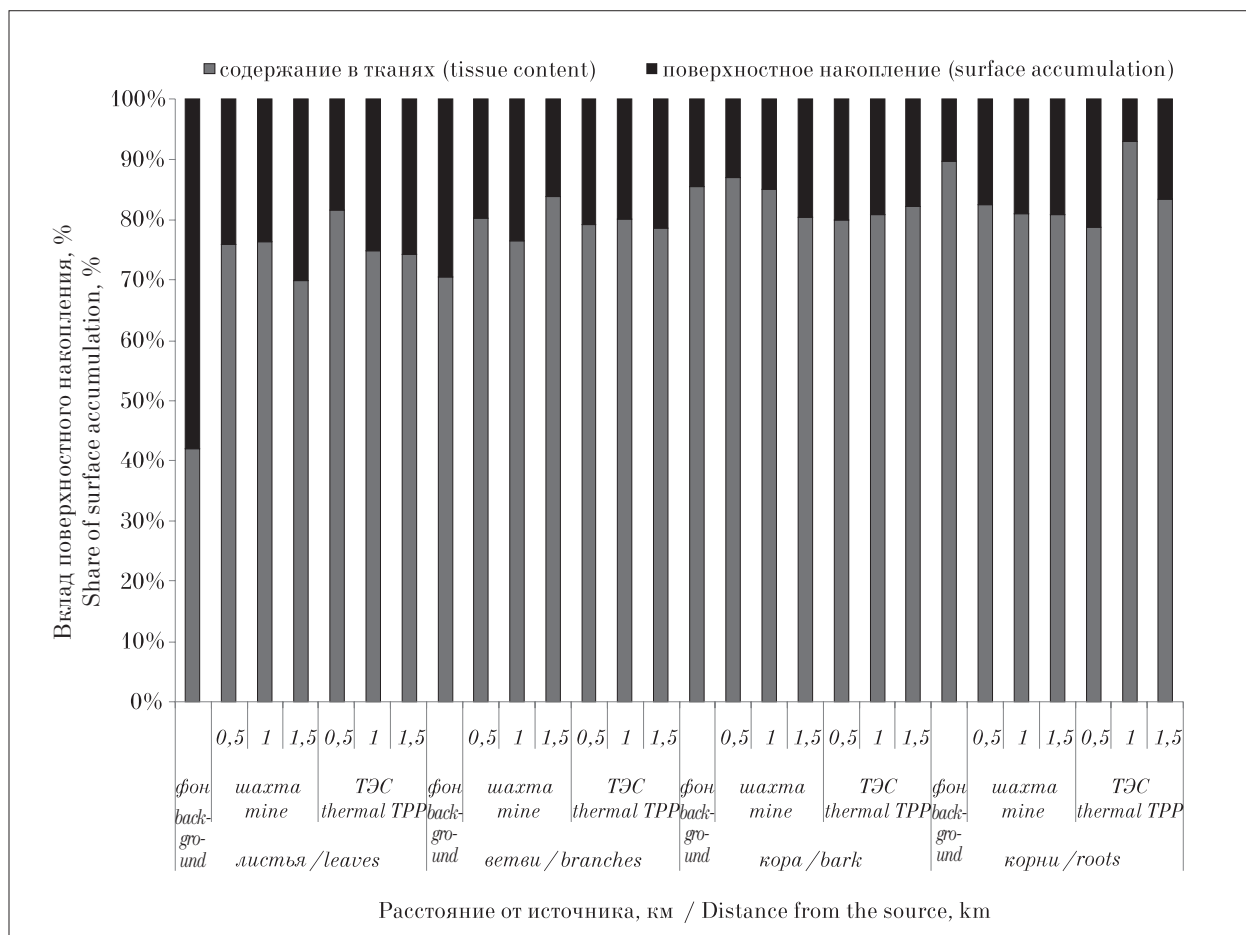


Рис. 4. Вклад поверхностного накопления в общее содержание ПАУ в *B. nana*, %
 Fig. 4. Contribution of surface accumulation to total PAH content in *B. nana*, %

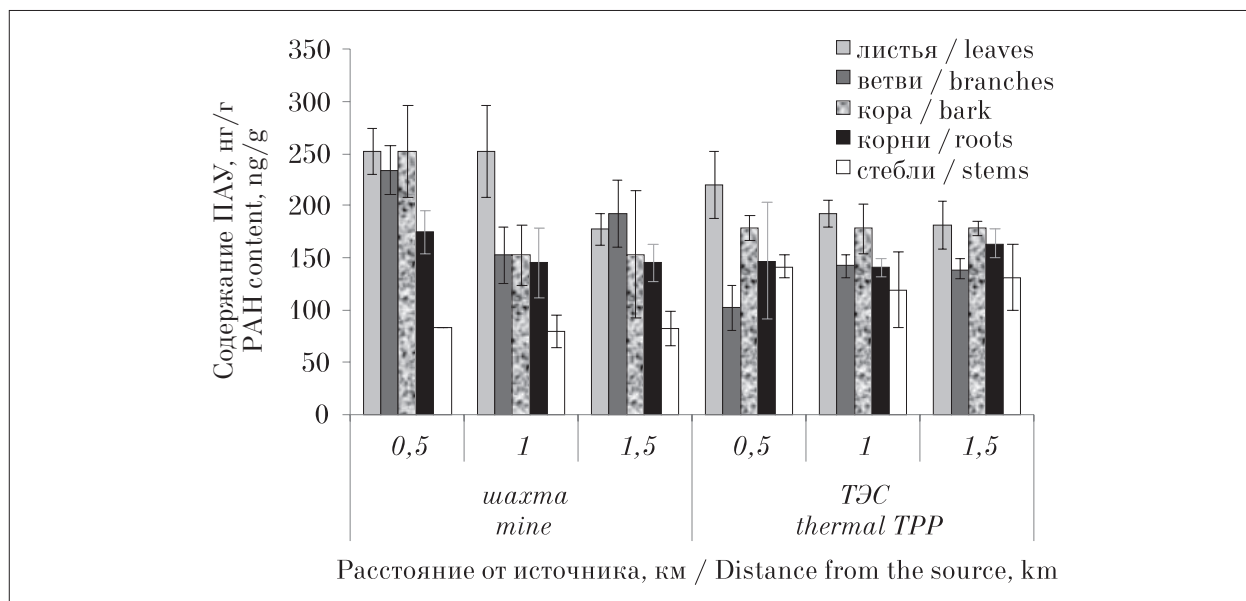


Рис. 5. Содержание ПАУ в органах *V. nana*, нг/г
 Fig. 5. The content of polyarenes in the organs of the *V. nana*, ng/g

Абсолютное содержание ПАУ на поверхности листьев и ветвей не значимо снижалось на расстоянии в 0,5 км по сравнению с большим удалением, при этом общее содержание ПАУ в 0,5 км было выше. ПАУ, попавшие на поверхность листьев и ветвей, активно транспортировались внутрь растения. По мере удаления от источника поступление ПАУ на поверхность снижалось, что привело к снижению интенсивности накопления и росту содержания ПАУ на поверхности наряду со снижением общего содержания ПАУ. Для коры и корней *V. nana* выявлена противоположная тенденция. Доля поверхностного содержания ПАУ для данных органов на фоновом участке была ниже по сравнению с загрязнёнными. Выявлено снижение вклада поверхностного накопления с удалением от источника, его приближение к фоновым значениям.

Сравнение накопления ПАУ различными видами растений в разных зонах аэротехногенного воздействия показало, что наивысшая способность к биоаккумуляции для обоих предприятий была характерна для *P. schreberi*, минимальным накоплением отличалась *V. nana* (рис. 2). Такой факт связан с коротким вегетационным периодом кустарников. Кроме того, известно, что мхи активно поглощают ПАУ всей поверхностью. Суммарное содержание полиаренов во мхе в условиях загрязнения ТЭС превышало массовую долю ПАУ в лишайнике в 1,3–2,5 раза, в кустарниках – в 3–4 раза. Для шахты «Воркутинская» эти значения составляют 2–3 и 6–14 раз соответственно.

Сравнение накопления ПАУ разными органами *V. nana* в условиях воздействия процессов добычи и сжигания угля показало, что на содержание ПАУ в органах не сказался источник выбросов, содержание ПАУ в одном и том же органе на одном расстоянии от ТЭС и шахты было примерно одинаковым. Значимое превышение содержания ПАУ вблизи шахты, над ТЭС было выявлено лишь в ветвях на расстоянии в 0,5 км от источников. Для поверхностного накопления ПАУ отдельными органами характерны сходные закономерности. Среди органов *V. nana* фоновых и загрязнённых участков наивысшая способность к биоаккумуляции была характерна для листьев.

Выявлено незначимое превышение содержания ПАУ в живой части *P. schreberi* на фоновом участке, и в отмершей части на загрязнённых. Для мха шахты «Воркутинской» максимальные кратности превышения содержания ПАУ в мёртвой части растения (1,5 раза) были выявлены в 0,5 км от источника, для ТЭС – в 1 и 1,5 км (1,2 раза), то есть на наиболее загрязнённых участках.

Заключение

Закономерности накопления ПАУ в почвах и растениях исследованных видов схожи в условиях загрязнения от добычи и сжигания угля, разница выражается в основном в количественных показателях уровня загрязнения, который был выше в зоне действия шахты для органогенных горизонтов почв, мхов и лишай-

ников. Сходный качественный состав ПАУ почв и растений на загрязнённых участках может быть связан с использованием угля шахты «Воркутинская» для функционирования ТЭС.

Значительная высота трубы ТЭС и более мелкие частицы, образующиеся при сжигании угольного топлива, на которых распространились полиарены, приводили к смещению максимального накопления ПАУ в почвах и растениях на расстояние в 1 км от ТЭС, по сравнению с 0,5 км вблизи шахты.

Мох *P. schreberi* представляется наиболее выгодным индикатором загрязнения тундровых фитоценозов ПАУ по ряду причин. *P. schreberi* является широко распространённым видом в тундровой зоне. Для мхов и органогенных горизонтов почв – основных депо ПАУ, выявлены сходные тенденции изменения содержания ПАУ. Мош *P. schreberi* активно аккумулирует полиарены, его применение даёт возможность проследить изменения уровня поступления ПАУ с удалением от источника выбросов. При мониторинге можно использовать как живую, так и отмершую часть мха, ввиду близкого содержания в них ПАУ. Использование *P. schreberi* при этом не позволяет проследить краткосрочные изменения в содержании ПАУ. В данном случае для оценки уровня загрязнения предлагается использовать листья *V. nana*.

Работа выполнена при финансовой поддержке госбюджетной темы № АААА–А17–117122290011–5.

References

1. Sushkova S.N., Minkina T.M., Mandzhieva S.S., Tyurina I.G., Vasil'eva G.K., Kizilkaya R. Monitoring of benzo[a]pyrene content in soils affected by the long-term technogenic contamination // Eurasian Soil Science. 2017. V. 50. No. 1. P. 95–105. doi: 10.1134/S1064229317010148
2. Hamid N., Syed J.H., Junaid M., Zhang G., Malik R.N. Elucidating the urban levels, sources and health risks of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Pakistan: Implications for changing energy demand // Science of the Total Environment. 2017. V. 619–620. P. 165–175. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.11.080
3. Aniskina M.V., Yakovleva E.V. Benz[a]pyrene destruction by *Elodea canadensis* L. in water // Theoretical and Applied Ecology. 2016. No. 3. P. 82–88 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2016-3-082-088
4. Li W., Chen B., Ding X. Environment and reproductive health in China: challenges and opportunities // Environmental Health Perspectives. 2012. V. 120. No. 5. P. A184–A185.
5. Yakovleva E.V., Gabov D.N., Beznosikov V.A., Kondratenok B.M. Influence of benz[a]pyrene pollution on growth processes and structure of polyarenes in plants // Theoretical and Applied Ecology. 2015. No. 4. P. 45–51 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2015-4-045-051
6. Ugwu K.E., Ukoah P.O. Analysis and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil and plant samples of a coal mining area in Nigeria // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2016. V. 96. P. 383–387. doi: 10.1007/s00128-016-1727-5
7. Gennadiev A.N., Zhidkin A.P., Pikovskii Y.I., Kovach R.G., Koshovskii T.S., Khlynina N.I. Hydrocarbon status of soils under atmospheric pollution from a local industrial source // Eurasian Soil Science. 2016. V. 49. No. 9. P. 1003–1012. doi: 10.1134/S1064229316090052
8. Doegowska S., Migaszewski Z.M. PAH concentration in the moss species *Hylocomium splendens* (Hedw.) B.S.G. and *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. from the Kielce area (south-central Poland) // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2011. V. 74. P. 1636–1644. doi: 10.1016/j.ecoenv.2011.05.011
9. Demin B.N., Graevskii A.P., Demeshkin A.S., Vlasov S.V. Pollution of soil-vegetation complex around Barentsburg Mine by polycyclic aromatic hydrocarbons // Arktika: Ecology and economics. 2012. No. 3 (7). P. 62–73 (in Russian).
10. Radic S., Meduni G., Kuhari Z., Roje V., Maldini K., Vujcic V., Krivohlavek A. The effect of hazardous pollutants from coal combustion activity: Phytotoxicity assessment of aqueous soil extracts // Chemosphere. 2018. V. 199. P. 191–200. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.02.008
11. Tyurina I.G., Sushkova S.N., Minkina T.M., Nazarenko O.G., Mandzhieva S.S., Bauer T.V., Gimp A.V. Benzo[a]pyrene content in natural grassy vegetation in the affected zone of the Novochebarkassk power station // Plodorodie. 2015. No. 6. P. 46–48 (in Russian).
12. Yakovleva E.V., Gabov D.N., Beznosikov V.A. Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in plants of the tundra zone at open coal mine // Vestnik instituta biologii Komi nauchnogo tsentra UrO RAN. 2016. No. 4. P. 24–33 (in Russian).
13. Yakovleva E.V., Gabov D.N. Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in plants of tundra affected by thermal power station in the vicinities of Vorkuta // Arktika: Ecology and economics. 2018. No. 2 (30). P. 18–30 (in Russian). doi: 10.25283/2223-4594-2018-2-18-30
14. Makovskaya T.I., Dyachkova S.G. Organic pollutants in soil-vegetative cover of the zone of sleeper industry influence // Vestnik Kras. GAU. 2009. No. 6. C. 67–72 (in Russian).
15. Mizwar A., Trihadiningrum Y. PAH contamination in soils adjacent to a coal-transporting facility in Tapin District, South Kalimantan, Indonesia // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2015. V. 69. P. 62–68.

Экофизиология дыхания растений *Heracleum sosnowskyi* в условиях севера

© 2020. И. В. Далькэ, к. б. н., врио зав. лабораторией,
Р. В. Малышев, к. б. н., н. с.,
С. П. Маслова, д. б. н., в. н. с.,

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,
e-mail: dalke@ib.komisc.ru

Изучали скорость дыхания проростков, всходов и почек возобновления борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.), произрастающего в условиях среднетаёжной подзоны Республики Коми. Дыхательная способность (интенсивность дыхания при 20 °С) проростков, извлечённых из-под снега в марте, была низкой, около 0,7 мг CO₂/(г сухой массы · ч). В апреле-мае всходы, формирующие первый настоящий лист, характеризовались более высокой дыхательной способностью, около 2 мг CO₂/(г сухой массы · ч). Сравнительный анализ температурной зависимости скорости дыхания выявил сдвиг температурного оптимума роста растений на ранних стадиях развития в соответствии с изменениями термических условий среды. Экспоненциальный рост скорости дыхания всходов был при более высоких температурах (20–35 °С), чем у проростков под снегом (5–20 °С). Фазовый переход вода-лёд в тканях проростков отмечен при снижении температуры до -8 °С, что говорит об их устойчивости к низким температурам ранней весной. Почки возобновления растений *H. sosnowskyi*, сформированные к осени на стеблекорне, характеризовались высокой дыхательной способностью, до 5 мг CO₂/(г сухой массы · ч). Анализ температурной зависимости скорости дыхания выявил сравнительно высокую эффективность дыхания терминальных почек, около 2 мг CO₂/(г сухой массы · ч), при низких и умеренных температурах (5–15 °С). Это может быть обусловлено поддержанием морфогенетических процессов в тканях почек в осенне-зимний период при промерзании почвы до -2 °С. Метаболическая активность молодых тканей растений *H. sosnowskyi* соответствует температурному режиму почвы и воздуха, что обеспечивает растениям адаптацию к низким температурам в зимний период и высокие темпы роста ранней весной.

Ключевые слова: *Heracleum sosnowskyi* Manden., дыхание, метаболизм, молодые ткани растений, функциональная адаптация.

Ecophysiology of *Heracleum sosnowskyi* plant respiration in the north

© 2020. I. V. Dalke ORCID: 0000-0001-5711-9916[†]
R. V. Malyshev ORCID: 0000-0001-6716-6118[†]
S. P. Maslova ORCID: 0000-0002-5269-5129[†]

Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the RAS,
28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,
e-mail: dalke@ib.komisc.ru

Giant hogweeds are included in the invasive species blacklist and significantly affect the structure and diversity of plant and soil communities. The aim of the study was revealing the giant hogweed (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) plants adaptive capacity by investigation of seedlings and buds respiration rate. All measurements were performed in typical *H. sosnowskyi* population in the middle taiga subzone (Northeast Russia, 61°38'46"N, 50°45'33"E).

Plant seedlings begin to appear under the snow cover, in March (in the condition of study area), when the average air temperature is still negative (a multi-year average -7 °C). The seedlings (with radicles) respiration rate at 20 °C collected under the snow cover in March was near 0.7 mg CO₂/(g dry weight · h). The seedlings with the first true leaf had a significantly higher respiration rate (about 2 mg CO₂/(g dry weight · h) at 20 °C). We determined the shift in the temperature optimum for plant growth at the early stages of development in accordance with changes of environmental temperature conditions. The seedlings with first true leaf had respiration rate exponential phase at higher temperature (range 20–35 °C) than that of seedlings collected under snow (5–20 °C). The water-ice phase transition in the seedlings tissues was observed at the temperature minus 8 °C. Thus, seedlings are resistant to low temperatures in early spring. The buds of *H. sosnowskyi* plant formed by autumn on caudex, had a high rate of respiration of about 5 mg CO₂/(g dry weight · h). Analysis of the rate respiration – temperature dependence revealed a high efficiency of buds

respiration at low and moderate temperatures (5–15 °C). It may be associated with the morphogenetic processes in the bud tissues in the autumn-winter period when the soil freezes to minus 2 °C. It was shown that the young *H. sosnowskyi* tissues metabolism activity was in accordance with the soil and air temperature regime. This accordance allows the plants to adapt to the low temperatures in winter and provides a high growth rate in early spring.

Keywords: *Heracleum sosnowskyi* Manden., respiration, metabolism, young plant tissue, functional adaptation.

Антропогенная трансформация территорий оказывает сильное влияние на биоразнообразие природной флоры и способствует вселению чужеродных видов [1, 2]. Инвазионный потенциал таких видов в значительной степени определяется их физиолого-биохимическими свойствами. Естественный ареал *Heracleum sosnowskyi* Manden., многолетнего монокарпического растения сем. Зонтичные, охватывает Восточную часть Большого Кавказа, Восточного и Юго-Восточного Закавказья, северо-востока Турции [2, 3]. Гигантский борщевик широко культивировали как высокопродуктивное силосное растение на северо-западе Европейской России [4]. В настоящее время в условиях подзоны средней тайги Республики Коми заросли *H. sosnowskyi* встречаются повсеместно вдоль дорог, на заброшенных землях сельскохозяйственного назначения [5]. Растение включено в список агрессивных инвазионных видов, существенно влияющих на структуру и разнообразие растительных и почвенных сообществ [6]. Успех вторжения *H. sosnowskyi* обусловлен способностью формировать моновидовые заросли, быстрым возобновлением роста после скашивания и эффективным размножением [2, 7, 8].

Мы предположили, что важную роль в натурализации *H. sosnowskyi* сыграло соответствие метаболических свойств вида климату среднетаёжной зоны. Чтобы разобраться в этом вопросе, были предприняты исследования дыхания растений. Дыхание является ключевым показателем метаболической активности растений, тесно связано с ростом, вносит существенный вклад в углеродный баланс и биоэнергетику, отражает адаптивный потенциал растений [9–11]. Изучение дыхательного метаболизма *H. sosnowskyi* на ранних стадиях развития растений (всходы, проростки, почки возобновления) является важным с позиций формирования инвазионного синдрома вида, обеспечивающего его расселение и эффективное использование ресурсов среды.

Целью исследований было изучение дыхания проростков, всходов и почек возобновления растений *H. sosnowskyi* в связи с оценкой адаптивного потенциала вида в условиях инвазионного ареала.

Материалы и методы

Объектом исследования был борщевик Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) – многолетнее монокарпическое растение, гемикриптофит из сем. Зонтичные. В 2016 и 2017 гг. изучали растения, формирующие моновидовые заросли вблизи г. Сыктывкара (61°38'46" с. ш., 50°45'33" в. д.) Вегетационный сезон 2016 г. характеризовался холодным мартом и тёплым апрелем, в летний период температура воздуха составляла в среднем 15–20 °C (табл. 1). Осенний период отличался сравнительно тёплыми погодными условиями, среднемесячная температура октября была около 2 °C. Погодные условия 2017 г. были схожими, за исключением весеннего периода, который отличался тёплым мартом с температурой около -1 °C.

Изучали скорость дыхания молодых тканей растений *H. sosnowskyi*: проростков, всходов и почек возобновления (рис. 1). Проростки с корешком отбирали из-под снега в конце марта – начале апреля при высоте снежного покрова около 70 см. Всходы с первым настоящим листом отбирали после схода снега, в третьей декаде апреля – начале мая. Терминальные почки возобновления *H. sosnowskyi*, которые закладываются на стеблекорнях, изучали в октябре. Температурную зависимость скорости дыхания растений определяли с помощью газометрической системы Li-7000 (LI-COR, Inc., США) с термостатируемой камерой в диапазоне от -8 до +45 °C. Использовали 4–7 проб проростков, 4–8 проб всходов и 4–16 проб почек растений *H. sosnowskyi* для каждой температуры. Для охлаждения проб ниже 0 °C использовали льдосолевою смесь. Изменение скорости дыхания оценивали по температурному коэффициенту (Q_{10}), рассчитанному согласно правилу Вант-Гоффа:

$$Q_{10} = \left(\frac{K_2}{K_1} \right)^{\frac{10}{(T_2 - T_1)}}$$

где K_1 и K_2 – скорости дыхания при температурах T_1 и T_2 соответственно.

Статистический анализ проводили с помощью Statistica 10 (StatSoft Inc., США). На

рисунках представлены среднеарифметические значения с ошибкой среднего значения.

Результаты и обсуждение

Проростки растений *H. sosnowskyi* появляются под снегом в марте – начале апреля при отрицательной среднесуточной температуре воздуха (табл. 1). Начальные этапы роста проростков связаны с формированием корешка, гипокотыля и семядолей. Проростки небольшие, их длина составляет 3–3,5 см [4]. Всходы появляются в конце апреля – начале мая, разворачивается первый настоящий лист, отмечено ветвление главного корня (рис. 1, см. цв. вкладку). В третьей декаде апреля в моновидовых зарослях *H. sosnowskyi* насчитывалось около 500 шт/м² проростков [7], что характерно для зарослей гигантского борщевика в условиях Европейской части России и Западной Европы [2, 7, 12].

Растения *H. sosnowskyi* характеризуются хорошей зимостойкостью, проростки способны выдерживать понижение температуры воздуха весной до -5 °С [13]. Согласно нашим данным, дыхание проростков в диапазоне температуры -5–+5 °С очень низкое, не более 0,25 мг СО₂ / (г сухой массы · ч). Скорость дыхания возрастала экспоненциально с повышением температуры от 5 до 20 °С, а дыхательная способность (ДС) при 20 °С составляла 0,7 мг СО₂ / (г сухой массы · ч) (рис. 2). Величина температурного коэффициента дыхания Q₁₀ в диапазоне температуры 0–10 °С была близка к единице, при повышении температуры до 20 °С значение коэффициента возрастало в 3,8 раза (табл. 2). Температуры выше 25 °С заметно снижали скорость темного дыхания проростков.

Следует отметить, что проростки *H. sosnowskyi* ранней весной значительно оводнены,

содержание воды в них составляло 87±2%. Судя по данным, полученным с помощью калориметрии, фазовый переход вода-лёд в тканях проростков происходил при снижении температуры до -8,2±0,4 °С [14]. Эти результаты свидетельствуют об устойчивости проростков *H. sosnowskyi* к низким температурам в ранневесенний период в условиях севера.

Как и следовало ожидать, всходы отличались от проростков более высокой дыхательной активностью. При низких положительных температурах (ниже +10 °С) дыхание всходов на порядок превышало дыхание проростков и составляло около 2 мг СО₂ / (г сухой массы · ч). Всходы поддерживали этот уровень дыхания при повышении температуры вплоть до 20 °С, ДС всходов была в 2–3 раза выше, чем у проростков. Экспоненциальный рост дыхания наблюдали в диапазоне температуры 20–35 °С. Максимум скорости выделения СО₂, около 8 мг / (г · ч), отмечали при 35 °С. Анализ температурной зависимости скорости дыхания всходов выявил сдвиг оптимума роста в сторону более высоких температур по сравнению с проростками. Величина температурного коэффициента дыхания Q₁₀ в диапазоне температуры 5–15 °С была меньше единицы и возрастала втрое при температурах 20–30 и 25–35 °С (табл. 2). Температуры выше 35 °С приводили к снижению скорости темного дыхания всходов.

В условиях среднетаёжной зоны отмечено сокращение длительности органогенеза растений *H. sosnowskyi* по сравнению с более южными регионами: развитие репродуктивных структур происходит в один вегетационный период года цветения. Закладка зимующих почек осуществляется в августе, а заложение генеративных органов происходит в конце мая [4]. Терминальная и латераль-

Таблица 1 / Table 1
Среднемесячная температура воздуха (°С) в окрестностях г. Сыктывкара
Average monthly air temperature (°C) near Syktyvkar

Месяц Month	Год / Year		Среднемноголетнее значение* The multi-year average*
	2016	2017	
Март / March	-4,7	-1,2	-7,0
Апрель / April	4,9	1,1	0,9
Май / May	11,6	5,0	7,4
Июнь / June	14,6	12,4	13,9
Июль / July	19,8	18,3	16,7
Август / August	18,1	16,0	13,8
Сентябрь / September	9,0	7,5	7,8
Октябрь / October	1,8	2,3	0,6

Примечание / Note: по данным Кому ЦГМС / according to the data <http://meteork.ru/climate/sykt.shtml>, * – www.rp5.ru

И. В. Далькэ, Р. В. Малышев, С. П. Маслова
«Экофизиология дыхания растений
Heracleum sosnowskyi в условиях севера». С. 77



Рис. 1. Проростки *Heracleum sosnowskyi* с корешком (А, март),
всходы с первым настоящим листом (В, апрель-май),
стеблекорень (С, октябрь), отделённая терминальная почка (D, октябрь):
1 – терминальная почка, 2 – латеральная почка
Fig. 1. The seedlings of *Heracleum sosnowskyi* with radicles (A, March),
seedlings with the first true leaf (B, April-May),
caudex with roots (C, October), and terminal buds (D, October):
1 – terminal bud, 2 – lateral buds

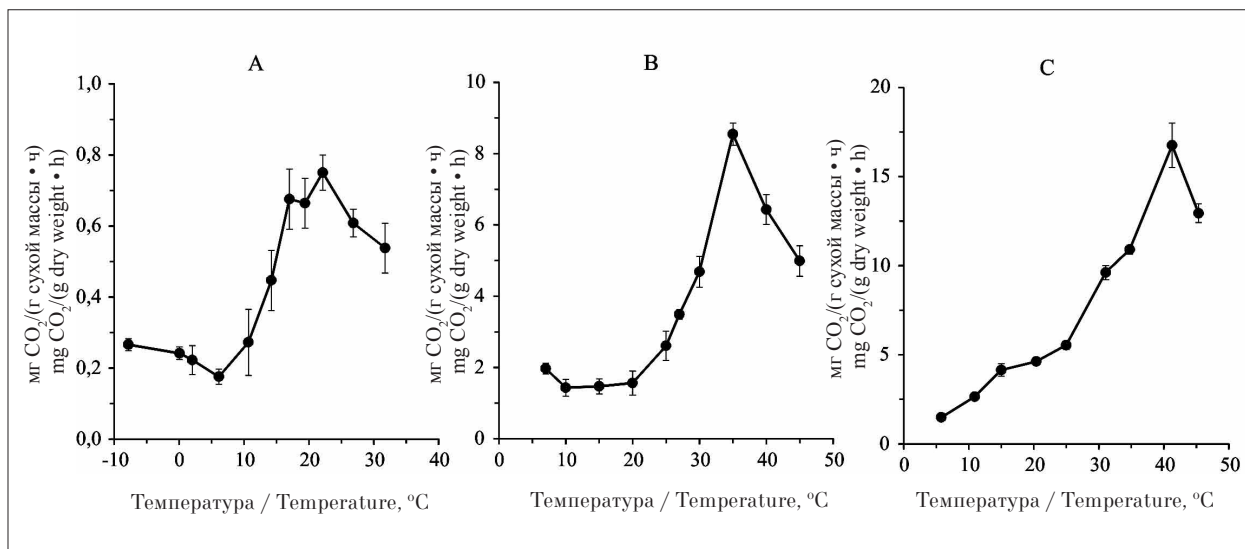


Рис. 2. Температурная зависимость скорости дыхания проростков (А, март), всходов (В, апрель-май) и терминальной почки (С, октябрь) *Heracleum sosnowskyi*
Fig. 2. Temperature dependence of respiration rate of seedlings with radicles (A, March), seedlings with the first true leaf (B, April-May), and tissues of the terminal bud (C, October) of *Heracleum sosnowskyi*

Таблица 2 / Table 2

Величина температурного коэффициента Q_{10} дыхания проростков и терминальных почек растений *H. sosnowskyi* / The temperature coefficient of respiration (Q_{10}) of seedlings and buds of *H. sosnowskyi* plants

Температурный коэффициент Temperature coefficient	Проростки с корешками Seedlings with radicles	Всходы с первым настоящим листом Seedlings with the first true leaf	Почки Buds
Q_{0-10}	1,0	—	—
Q_{5-15}	3,8	0,6	2,7
Q_{10-20}	2,9	1,1	1,6
Q_{15-25}	0,9	1,8	1,3
Q_{20-30}	0,7	3,0	2,3
Q_{25-35}	—	3,3	1,9
Q_{30-40}	—	1,4	1,8
Q_{35-45}	—	0,6	1,4

Примечание: прочерк обозначает, что определений не было; образцы тканей проростков и всходов отобраны с конца апреля по начало мая, почек – в октябре.

Note: the dash indicates that there was no measurement; samples of seedling tissues were selected in April, buds in October.

ные почки (рис. 1, см. цв. вкладку) обеспечивают быстрое возобновление роста и формирование монокарпических побегов растений *H. sosnowskyi*.

Дыхание терминальной почки возрастало от 2 до 15 мг CO₂/(г сухой массы · ч) с повышением температуры от 5 до 40 °С. Заметное снижение скорости выделения CO₂ зарегистрировали при дальнейшем повышении температуры до 45 °С (рис. 2). Сравнительно высокая эффективность дыхания отмечена при низких и умеренных температурах, 5–15 °С, величина Q_{10} в этом

интервале составляла 2,7 (табл. 2). Дыхательная способность терминальной почки осенью, во время подготовки растений к перезимовке, была около 5 мг CO₂/(г сухой массы · ч). Это вдвое выше ДС листьев дикорастущих видов в период их активного роста в условиях севера [11, 15, 16].

Полученные результаты свидетельствуют о высокой интенсивности метаболизма и адаптированности почек возобновления *H. sosnowskyi* к низким температурам в зимний период в условиях среднетаёжной подзоны. В осенне-зимний период промерзание почвы

начинается с ноября, а минимальная температура на глубине узла кущения в декабре-январе составляет -1 – (-2) °С [17]. Эффективный метаболизм почек возобновления при низких температурах необходим для поддержания морфогенетических процессов, связанных с делением и дифференциацией клеток и тканей в осенне-зимний период. Наши наблюдения показали, что почки возобновления *H. sosnowskyi* не имеют глубокого покоя и при благоприятных условиях могут отрастать [18]. В условиях аномальной зимы, при повышении температуры воздуха в декабре до $+2,5$ °С, было отмечено возобновление ростовых процессов растений *H. sosnowskyi* [19].

Заключение

Таким образом, установлены закономерности влияния температуры на дыхание у проростков, всходов и почек возобновления растений *H. sosnowskyi*. В апреле проростки под снегом дышат слабо при низких положительных и околонулевых температурах. Это адаптивная реакция, позволяющая им экономно расходовать питательные вещества семени. Интенсивный рост проростков после схода снега и формирование всходов сопровождается существенным повышением уровня метаболической активности. Экспоненциальный рост скорости дыхания всходов отмечен при более высоких температурах (20 – 35 °С), чем у проростков под снегом (5 – 20 °С). Это свидетельствует о пластичности и запасе прочности метаболизма *H. sosnowskyi* на ранних стадиях развития растений. Выявлена высокая, около 5 мг CO_2 /(г сухой массы · ч), дыхательная способность терминальной почки в осенний период. Эти результаты говорят об эффективном метаболизме осенних почек возобновления, у которых отсутствует глубокий покой. В этот период осуществляются морфогенетические процессы, связанные с делением и дифференциацией клеток и тканей, происходит адаптация меристематических тканей к температурному режиму при перезимовке. В совокупности полученные данные свидетельствуют об адаптированности дыхательного метаболизма проростков, всходов и почек *H. sosnowskyi* к климатическим условиям таёжной зоны. Характер температурной зависимости дыхания отражает жизненную стратегию растений. Изучение дыхательной активности позволяет полнее оценить инвазивный потенциал чужеродных растений.

Авторы благодарят профессора, д. б. н. Т. К. Головки за рекомендации при подготовке статьи. Работа выполнена в рамках НИР «Фототрофные организмы как компонент живой природы и индикатор климатических изменений» (18-4-4-20) и «Физиология и стресс-устойчивость фотосинтеза растений и пойкилодрических фотоавтотрофов в условиях Севера» (АААА-А17-117033010038-7).

Литература

1. Pimentel D., McNair S., Janecka J., Wightman J., Simmonds C., O'Connell C., Wong E., Russel L., Zern J., Aquino T., Tsomondo T. Economic and environmental threats of alien plant, animal, and microbe invasions // Agriculture, Ecosystems and Environment. 2001. V. 84. No. 1. P. 1–20.
2. Ecology and management of giant hogweed (*Heracleum mantegazzianum*) / Eds. P. Pyšek, M.J.W. Cock, W. Nentwig, H.P. Ravn. CAB International, Wallingford, UK, 2007. P. 324.
3. Сацыперова И.Ф. Борщевики флоры СССР – новые кормовые растения. Л.: Наука, 1984. 223 с.
4. Скупченко Л.А. Семеноведение борщевика на Севере. Л.: Наука. 1989. 119 с.
5. Chadin I., Dalke I., Zakhzhiziy I., Malyshev R., Madi E., Kuzivanova O., Kirillov D., Elsakov V. Distribution of the invasive plant species *Heracleum sosnowskyi* Manden. in the Komi Republic (Russia) // PhytoKeys. 2017. V. 77. P. 71–80.
6. Товстик Е.В., Широких И.Г., Соловьёва Е.С., Широких А.А., Ашихмина Т.Я., Савиных В.П. Изменение почвенной актинобиоты под влиянием инвазии борщевика Сосновского // Теоретическая и прикладная экология. 2018. № 4. С. 114–118.
7. Dalke I.V., Chadin I.F., Zakhzhiziy I.G., Malyshev R.V., Maslova S.P., Tabalenkova G.N., Golovko T.K. Traits of *Heracleum sosnowskyi* plants in monostand on invaded area // PLOS ONE. 2015. No. 10 (11). P. e0142833.
8. Веселкин Д.В., Иванова Л.А., Иванов Л.А., Микрюкова М.А., Большаков В.Н., Бетехтина А.А. Способность к быстрому использованию ресурсов как основа инвазивного синдрома *Heracleum sosnowskyi* // Доклады Академии наук. 2017. Т. 473. № 1. С. 114–117.
9. Кридл Р.С., Брайденбах Р.В., Фонтана А.Дж., Генри Дж.-М., Смит Б.Н., Хансен Л.Д. Реакция дыхания растений на климат определяет их географическое распространение // Физиология растений. 1996. Т. 43. С. 813–821.
10. Семихатова О.А. Оценка адаптационной способности растения на основании исследований темнового дыхания // Физиология растений. 1998. Т. 43. № 3. С. 142–148.
11. Головки Т.Г., Далькэ И.В., Табаленкова Г.Н., Гармаш Е.В. Дыхание растений Приполярного Урала // Ботанический журнал. 2009. Т. 94. № 8. С. 1216–1226.

12. Gudžinskas Z., Žalneravičius E. Seedling dynamics and population structure of invasive *Heracleum sosnowskyi* (Apiaceae) in Lithuania // *Annales Botanici Fennici*. 2018. V. 55. No. 4–6. P. 309–321.

13. Черняк Д.М. Борщевик Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) и борщевик Меллендорфа (*Heracleum moellendorffii* Hance) на юге Приморского края (биологические особенности, перспективы использования и биологическая активность) // Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Владивосток, 2013. 27 с.

14. Malyshev R.V. Freezing point of water, water content and proportion of freezing water in *Heracleum sosnowskyi* seedlings with radicles // Zenodo. 2019. doi: 10.5281/zenodo.2636095

15. Головки Т.К. Дыхание растений (физиологические аспекты). СПб.: Наука, 1999. 204 с.

16. Далькэ И.В., Головки Т.К. Фотосинтез и дыхание растений бореальной зоны // Вестник Института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. 2011. № 7–8 (165–166). С. 5–9.

17. Маслова С.П., Табаленкова Г.Н., Малышев Р.В., Головки Т.К. Сезонные изменения роста и метаболической активности подземных побегов тысячелистника обыкновенного // Физиология растений. 2013. Т. 60. № 6. С. 865–873.

18. Dalke I., Malyshev R., Maslova S. Growth of *Heracleum sosnowskyi* Manden. plant in indoor conditions after end of vegetation period (Version 0.1) // Zenodo. 2018. doi: 10.5281/zenodo.1244757

19. Александрова М.И. Некоторые виды борщевика в среднетаёжной зоне Коми АССР: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Киров, 1971. 26 с.

References

1. Pimentel D., McNair S., Janecka J., Wightman J., Simmonds C., O'Connell C., Wong E., Russel L., Zern J., Aquino T., Tsomondo T. Economic and environmental threats of alien plant, animal, and microbe invasions // *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 2001. V. 84. No. 1. P. 1–20. doi: 10.1016/S0167-8809(00)00178-X

2. Ecology and management of giant hogweed (*Heracleum mantegazzianum*) / Eds. P. Pyšek, M.J.W. Cock, W. Nentwig, H.P. Ravn. CAB International, Wallingford, UK, 2007. P. 324. doi: 10.1079/9781845932060.0000

3. Satsyperova I.F. Hogweeds of flora of the USSR – new fodder plants. Leningrad: Nauka, 1984. 223 p. (in Russian).

4. Skupchenko L.A. Hogweed seed science in the North. Leningrad: Nauka, 1989. 119 p. (in Russian).

5. Chadin I., Dalke I., Zakhochiy I., Malyshev R., Madi E., Kuzivanova O., Kirillov D., Elsakov V. Distribution of the invasive plant species *Heracleum sosnowskyi* Manden. in the Komi Republic (Russia) // *PhytoKeys*. 2017. V. 77. P. 71–80. doi: 10.3897/phytokeys.77.11186

6. Tovstik E.V., Shirokikh I.G., Soloveva E.S., Shirokikh A.A., Ashikhmina T.Ya., Savinykh V.P. The change in soil actinobiote under the influence of *Heracleum*

sosnowskyi invasion // *Theoretical and Applied Ecology*. 2018. No. 4. P. 114–118 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2018-4-114-118

7. Dalke I.V., Chadin I.F., Zakhochiy I.G., Malyshev R.V., Maslova S.P., Tabalenkova G.N., Golovko T.K. Traits of *Heracleum sosnowskyi* plants in monostand on invaded area // *PLOS ONE*. 2015. No. 10 (11). P. e0142833. doi: 10.1371/journal.pone.0142833

8. Veselkin D.V., Ivanova L.A., Ivanov L.A., Mikryukova M.A., Bolshakov V.N., Betekhtina A.A. Rapid use of resources as a basis of the *Heracleum sosnowskyi* invasive syndrome // *Doklady Akademii nauk*. 2017. V. 473. No. 1. P. 53–56 (in Russian). doi: 10.1134/S0012496617020041

9. Criddle R.S., Breidenbach R.W., Fontana A.J., Henry J.M., Smith B.N., Hansen L.D. Plant respiration responses to climate determine geographic distribution // *Russian Journal of Plant Physiology*. 1996. V. 43. No. 6. P. 698–704.

10. Semikhatova O.A. Evaluation of plant adaptation potential by assessing dark respiration // *Russian Journal of Plant Physiology*. 1998. V. 45. No. 1. P. 122–128 (in Russian).

11. Golovko T.K., Dalke I.V., Tabalenkova G.N., Garmash E.V. Respiration of the Subpolar Ural plants // *Botanicheskiy Zhurnal*. 2009. V. 94. No. 8. P. 1216–1226 (in Russian).

12. Gudžinskas Z., Žalneravičius E. Seedling dynamics and population structure of invasive *Heracleum sosnowskyi* (Apiaceae) in Lithuania // *Annales Botanici Fennici*. 2018. V. 55. No. 4–6. P. 309–321. doi: 10.5735/085.055.0412

13. Chernyak D.M. The Hogweed of Sosnowski (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) and the Hogweed of Mellendorf (*Heracleum moellendorffii* Hance) in the south of Primorsky Krai (biological traits, use prospects and biological activity) // *Avtoref. diss. ... kand. biol. nauk. Vladivostok*, 2013. 27 p. (in Russian).

14. Malyshev R.V. Freezing point of water, water content and proportion of freezing water in *Heracleum sosnowskyi* seedlings with radicles // Zenodo. 2019. doi: 10.5281/zenodo.2636095

15. Golovko T.K. Respiration of plants (physiological aspects). Sankt-Peterburg: Nauka, 1999. 204 p. (in Russian).

16. Dalke I.V., Golovko T.K. Photosynthesis and respiration of the boreal zone plants // *Vestnik Insituta Biologii Komi NC UrO RAN*. 2011. No. 7–8 (165–166). P. 5–9 (in Russian).

17. Maslova S.P., Tabalenkova G.N., Malyshev R.V., Golovko T.K. Seasonal changes in growth and metabolic activity of underground shoots of yarrow // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2013. V. 60. No. 6. P. 821–829 (in Russian). doi: 10.1134/S1021443713060071

18. Dalke I., Malyshev R., Maslova S. Growth of *Heracleum sosnowskyi* Manden. plant in indoor conditions after end of vegetation period (Version 0.1) // Zenodo. 2018. doi: 10.5281/zenodo.1244757

19. Aleksandrova M.I. Some species of hogweed in the middle taiga zone of the Komi ASSR. *Avtoref. diss. ... kand. s-kh. nauk. Kirov*, 1971. 26 p. (in Russian).

Эффекты последствия в хронически облучаемых экспериментальных популяциях *Drosophila melanogaster*

© 2020. И. Н. Юранёва¹, к. б. н., директор,

В. Г. Зайнуллин^{1,2}, д. б. н., профессор, г. н. с.,

¹Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, 167001, Россия, г. Сыктывкар, Октябрьский проспект, д. 55,

²Институт агробιοтехнологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,

167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Ручейная, д. 27,
e-mail: yuraneva@mail.ru, zainullin@frc.komisc.ru

В настоящей работе приведены результаты оценки последствий хронического, на протяжении 30 поколений, облучения (0,25 мГр/ч) для генотипа «перекрывающихся» модельных популяций *Drosophila melanogaster*, созданных из лабораторных линий *Canton-S* и *Oregon-R*. Показано, что показатели жизнеспособности особей из хронически облучаемых особей, достоверно выше ($p < 0,05$), чем у потомков контрольных популяций после острого облучения в дозах 3 и 30 Гр. Данный факт позволяет предположить, что хроническое облучение низкой интенсивности на протяжении 30 поколений приводит к изменениям, направленным на повышение общей жизнеспособности. Реакцию на острое облучение в разных дозах можно объяснить как отличиями в эффективности облучения в дозах 3 и 30 Гр, так и особенностями генотипов изучаемых популяций.

Ключевые слова: дрозофила, экспериментальные популяции, хроническое облучение, жизнеспособность.

Aftereffects in chronically irradiated experimental populations of *Drosophila melanogaster*

© 2020. I. N. Yuraneva¹ ORCID: 0000-0001-8287-81005¹

V. G. Zainullin^{1,2} ORCID: 0000-0003-3343-9012²

¹Pitirim Sorokin Syktyvkar State University, 55, Oktyabrskiy Prospekt, Syktyvkar, Russia, 167001,

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

27, Rucheynaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,
e-mail: yuraneva@mail.ru, zainullin@frc.komisc.ru

This article presents the results of the evaluation of the effects of chronic, over 30 generations, irradiation (0.25 mGy/h), for the genotype of “overlapping” model populations of *Drosophila melanogaster*, created from laboratory lines of wild type *Canton-S* and *Oregon-R*. The fertility, viability at the stage of eggs, larvae, pupae, frequency of dominant letals and recessive lethal mutations were taken into account. It was found that the cessation of irradiation exposure of 0.25 mGy/h after 20 generations led to a decrease in the level of viability, defined as the ratio of eggs laid to the number of emitted adults – for the *Canton-S* genotype from 81.0±1.0 to 67.6±0.6%; for the *Oregon-R* line C 88.7±0.8 to 71.2±0.7%. Acute exposure at a dose of 30 Gy resulted in a drop in viability in the irradiated *Canton-S* population to 25.4±0.44% versus 22.0±0.6 in the control, and in the irradiated *Oregon-R* population to 36.4±0.6 and 30.8±0.5%, respectively. A similar reaction of the studied genotypes was revealed after acute doses of 3 Gy and 30 Gy in the 30th generation of the experiment. It is shown that the viability of individuals from chronically irradiated over 30 generations of individuals is significantly higher ($p < 0.05$) than in the descendants of control populations after acute exposure at doses of 3 and 30 Gy. This suggests that chronic low-intensity exposure over 30 generations leads to changes aimed at increasing overall viability. The differences in the response to acute exposure at different doses can be explained by both the differences in the efficacy of radiation at doses of 3 and 30 Gy and the differences in the genotypes of the studied populations.

Keywords: *Drosophila*, experimental populations, chronic exposure, acute exposure, viability.

Установлено, что низкоинтенсивное рентгеновское облучение лабораторных и природных популяций *Drosophila melanogaster* приводит к увеличению их радиорезистентности, что может быть результатом отбора в облучаемых популяциях радиорезистентных форм, возникших спонтанно или в результате облучения и реализующихся во множестве фенотипов [1–3]. В 50-х гг. прошлого века было показано, что под влиянием ионизирующей радиации в популяциях появляется большое количество мутаций, способных изменять жизнеспособность организмов [4–7]. После прекращения облучения уровень мутаций, снижающих жизнеспособность, за несколько поколений достигал контрольных значений. Остальные типы мутаций, которые меньше влияют на жизнеспособность, могут оставаться в популяциях на протяжении большого числа поколений, незначительно сказываясь на уровне общей приспособленности [4, 5]. Исследования уровня приспособленности природных популяций дрозофилы, обитавших на радиоактивно загрязнённых территориях, хронически облучаемых популяций, показали, что хронически облучаемые популяции более радиоустойчивы, чем контрольные [8–11]. В нашей работе мы оценили эффекты последствия хронического, на протяжении 30 поколений, облучения (0,25 мГр/ч) для генотипа экспериментальных популяций *D. melanogaster*, созданных из лабораторных линий *Canton-S* и *Oregon-R*.

Материалы и методы исследования

В эксперименте использовали «перекрывающиеся» модельные популяции линий дикого типа *D. melanogaster*, различающихся по цитотипу (содержанию мобильных генетических элементов). Исходные «перекрывающиеся» модельные популяции *Canton-S* и *Oregon-R* были получены от пары особей соответствующих линий на 20 поколении (1 поколение 14 дней). На 20 поколении популяции разделены на «контрольные» и «облучаемые» по 3 каждого варианта. Контрольные и опытные популяции дрозофилы поддерживали в одинаковых, стандартных условиях.

Опытные популяции подвергались хроническому гамма-излучению от источника ^{226}Ra (5,6 с Гр/ч) при мощности экспозиционной дозы 0,25 мГр/ч на протяжении всего эксперимента. Поглощённая доза за одно поколение составила 8 сГр. На разных поколениях из опытных и контрольных популяций отби-

рались до 100 особей разных полов в возрасте 3–5 дней для проведения экспериментов с дополнительным воздействием. Дополнительное, провокационное облучение в дозах 3 и 30 Гр проводили на гамма-установке Рокус-М (^{60}Co) при мощности 30 Гр/ч. Анализ плодовитости, жизнеспособности, уровня смертности на эмбриональной стадии, на стадиях личинки и куколки, учёт доминантных леталей, рецессивных летальных мутаций проводили по стандартным методикам [12]. В работе использовали стандартные методы статистики и обрабатывали с использованием пакета Statistica v.8.

Результаты и обсуждение

Ранее нами было показано, что хроническое облучение популяций *D. melanogaster* в малых дозах приводит к дестабилизации генома, проявляющейся в изменении показателей приспособленности и мутабельности [13–15], в том числе может привести к формированию устойчивых генотипов [2, 16].

Результаты по оценке жизнеспособности особей из экспериментальных популяций после снятия на 20 поколении с хронического облучения и после провокационного облучения в дозе 30 Гр показали, что снятие с облучения особей линии *Canton-S* привело к снижению уровня жизнеспособности с $81,0 \pm 1,0$ до $67,6 \pm 0,6\%$; для линии *Oregon-R* с $88,7 \pm 0,8$ до $71,2 \pm 0,7\%$. Облучение в дозе 30 Гр привело к снижению жизнеспособности у облучаемой популяции *Canton-S* до $25,4 \pm 0,4\%$ против $22,0 \pm 0,6$ у контрольной, а в облучаемой популяции *Oregon-R* до величин $36,4 \pm 0,6$ и $30,8 \pm 0,5\%$, соответственно. Анализ величин показателей их жизнеспособности в онтогенезе выявил, что облучение в дозе 30 Гр приводит к снижению показателя общей жизнеспособности за счёт резкого увеличения гибели на более ранних стадиях развития имаго (до стадии куколки). Необходимо отметить, что восстановление показателей жизнеспособности фиксировалось уже на следующем (после острого воздействия) поколении наблюдений.

Как видно из таблицы 1, уровень смертности на стадии куколок в хронически облучаемых популяциях выше, чем у интактных генотипов ($p < 0,05$), что сказывается и на уровне жизнеспособности особей – величина жизнеспособности ниже у облучаемых популяций. При облучении в дозах 3 и 30 Гр уровень смертности на стадии куколки в храни-

Таблица 1 / Table 1

Уровень смертности на стадии куколки и жизнеспособности контрольных и хронически облучаемых популяций *Canton-S* и *Oregon-R* после дополнительного острого облучения, проведённого на 30-м поколении / Mortality at the pupal stage and the viability of the control and chronically irradiated populations of *Canton-S* and *Oregon-R* after additional acute irradiation was carried out on 30 th generation

Вариант эксперимента The variant of the experiment	N	Смертность на стадии куколки, % Mortality at the pupal stage, %	Жизнеспособность, % Viability, %
<i>Canton-S</i> (k)	753	2,7±0,6	87,9±1,2
<i>Canton-S</i> (o)	4897	3,9±0,3	75,8±0,6
<i>Canton-S</i> (k*)	3249	1,8±0,2	38,6±0,9
<i>Canton-S</i> (o*)	5349	0,6±0,1	43,9±0,7
<i>Canton-S</i> (k**)	2256	1,6±0,3	62,4±1,0
<i>Canton-S</i> (o**)	2045	1,7±0,3	66,3±1,1
<i>Oregon-R</i> (k)	879	3,0±0,6	86,1±1,2
<i>Oregon-R</i> (o)	4985	5,2±0,3	78,3±0,6
<i>Oregon-R</i> (k*)	1846	0,8±0,2	36,8±1,1
<i>Oregon-R</i> (o*)	4532	0,8±0,1	40,7±0,7
<i>Oregon-R</i> (k**)	1673	0,7±0,2	52,2±1,2
<i>Oregon-R</i> (o**)	4735	4,6±0,3	66,9±0,7

Примечание: N – количество отложенных яиц, (k) – контрольная популяция, (o) – хронически облучаемая популяция, * – облучение в дозе 30 Гр, ** – облучение в дозе 3 Гр.

Note: N – number of eggs laid, (k) – control population, (o) – chronically irradiated population, * – irradiation at a dose of 30 Gy, ** – irradiation at a dose of 3 Gy.

Таблица 2 / Table 2

Уровень доминантных леталей в контрольных и хронически облучаемых (0,25 мГр/ч) популяциях *Canton-S* и *Oregon-R* после острого облучения (3 и 30 Гр), проведённого на 30 поколении
The level of dominant lethals in control and chronically irradiated (0.25 mGy/h) populations of *Canton-S* and *Oregon-R* after acute irradiation (3 and 30 Gy) conducted on the 30th generation

Вариант эксперимента The variant of the experiment	N	Доминантные летали, % The dominant lethality, %		Всего, % In total, %
		ранние early	поздние late	
<i>Canton-S</i> (k)	544	0	1,1±0,5	1,1±0,5
<i>Canton-S</i> (o)	496	0,8±0,4	1,6±0,6	2,4±0,7
<i>Canton-S</i> (k*)	621	0,6±0,3	11,9±1,3	12,6±1,3
<i>Canton-S</i> (o*)	701	0,6±0,3	7,7±1,0	8,3±1,0
<i>Canton-S</i> (k**)	637	0,6±0,3	1,1±0,4	1,7±0,5
<i>Canton-S</i> (o**)	502	0,6±0,3	0,8±0,4	1,4±0,5
<i>Oregon-R</i> (k)	646	0,5±0,3	0,9±0,4	1,4±0,5
<i>Oregon-R</i> (o)	546	0,7±0,4	1,8±0,6	2,6±0,7
<i>Oregon-R</i> (k*)	581	0,7±0,3	8,8±1,2	9,5±1,2
<i>Oregon-R</i> (o*)	472	0,9±0,4	15,0±1,7	15,9±1,7
<i>Oregon-R</i> (k**)	583	0,7±0,3	1,2±0,5	1,9±0,6
<i>Oregon-R</i> (o**)	516	0,8±0,4	0,8±0,4	1,6±0,5

Примечание: N – количество отложенных яиц, (k) – контрольная популяция, (o) – хронически облучаемая популяция, * – облучение в дозе 30 Гр, ** – облучение в дозе 3 Гр.

Note: N – number of eggs laid, (k) – control population, (o) – chronically irradiated population, * – irradiation at a dose of 30 Gy, ** – irradiation at a dose of 3 Gy.

чески облучаемых и контрольных популяциях обеих линий ниже ($p < 0,05$) чем у интактных. У облучаемой популяции *Canton-S* облучение в дозе 30 Гр снижает уровень гибели куколок в сравнении с контрольной и не изменяется

после облучения в дозе 3 Гр. В облучаемой популяции *Oregon-R* облучение в дозе 30 Гр не изменило частоту гибели куколок, в отличие от реакции на облучение в дозе 3 Гр – выявлено достоверно значимое увеличение у облучаемой

популяции. Показатели жизнеспособности особей из хронически облучаемых популяций достоверно выше ($p < 0,05$), чем у контрольных после острого облучения в дозах 3 и 30 Гр. Данный факт позволяет предположить, что хроническое облучение приводит к изменениям, направленным на повышение общей жизнеспособности.

Выявлено, что дополнительное облучение особей в дозе 3 Гр на 30 поколении не приводит к изменению уровня доминантных деталей. При остром гамма-облучении в дозе 30 Гр уровень доминантных деталей в хронически облучаемой популяции *Canton-S* (8,3%) достоверно ($p < 0,05$) ниже, а в хронически облучаемой популяции *Oregon-R* (15,9%) достоверно ($p < 0,05$) выше данного показателя исходных популяций (12,6 и 9,5% соответственно) (табл. 2).

В таблице 3 представлены результаты анализа частоты рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций (РСПЛМ) у изучаемых генотипов. Как видно из таблицы, хроническое облучение приводит, на первых поколениях учёта, к повышению частоты летальных мутаций. У обеих линий частота мутантных событий восстанавливается к 10 поколению и соответствует фоновым уровням частоты РСПЛМ (до 2%) [13]. Учитывая, что в поколениях частота мутаций достоверно не различалась, мы сочли возможным объеди-

нить данные анализа частоты РСПЛМ полученных с 1 по 25 поколение.

Оказалось, что хроническое облучение не изменяет РСПЛМ у линии *Canton-S*, но увеличивает (недостоверно) уровень летальных мутаций в популяции *Oregon-R* ($t_{\text{факт}} = 1,89$). Была выявлена тенденция к увеличению частоты РСПЛМ у контрольных популяций *Canton-S* ($t_{\text{факт}} = 1,0$), причём облучение самцов из хронически облучаемых популяций *Canton-S* привело к достоверно значимому увеличению частоты ($t_{\text{факт}} = 2,27$), в сравнении с исходным вариантом. Для *Oregon-R* показано увеличение частоты летальных мутаций в хромосоме 1 в контрольной популяции ($t_{\text{факт}} = 2,06$).

Острое облучение в дозе 30 Гр выступает в роли мощного стрессорного фактора, вызывая в контрольных и хронически облучаемых популяциях *Canton-S* и *Oregon-R* достоверное ($p < 0,05$) повышение уровня доминантных и рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций и снижение уровня жизнеспособности.

Из литературы известно, что в хронически облучаемых природных популяциях наблюдается постепенное возрастание радиорезистентности, что является основной адаптивной реакцией популяций на хроническое воздействие излучений [17]. Возможны несколько путей увеличения радиорезистентности популяций. Во-первых, это может быть результатом отбора в облучаемой популяции радиорези-

Таблица 3 / Table 3

Уровень рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций мух из контрольных и хронически облучаемых (0,25 мГр/ч) популяций *Canton-S* и *Oregon-R* после острого облучения (30 Гр), проведённого на 20 поколении / The level of recessive sex-linked lethal mutations of flies from control and chronically irradiated (0.25 mGy/h) populations of *Canton-S* and *Oregon-R* after acute exposure (30 Gy) conducted on the 20th generation

Поколение Generations	<i>Canton-S</i>				<i>Oregon-R</i>			
	контроль control		облучение irradiation		контроль control		облучение irradiation	
	N/L	x±m	N	x±m	N	x±m	N	x±m
1	114/2	1,8±1,23	71/3	4,2±2,34	100/2	2,0±1,40	124/4	3,2±1,59
3	187/2	1,1±0,97	145/4	2,8±1,36	163/2	1,2±0,86	216/6	2,8±1,12
5	252/3	1,2±0,68	311/7	2,3±0,84	331/5	1,5±0,67	234/8	3,4±1,19
10	156/2	1,3±0,90	126/1	0,8±0,79	189/3	1,6±0,91	154/5	3,6±1,43
15	48/1	1,1±0,90	35/0	0	74/1	1,4±1,34	43/1	2,3±2,30
20	250/3	1,2±0,69	140/0	0	332/5	1,5±0,67	143/2	1,4±0,98
25	165/2	1,2±0,85	131/0	0	189/3	1,6±0,91	184/2	1,1±0,76
1–25	1172/15	1,28±0,33	959/15	1,56±0,40	1378/21	1,5±0,33	1098/28	2,6±0,48
+30 Гр*	101/3	3,0±1,69	113/8	7,1±2,41	95/8	7,4±2,85	88/3	3,4±1,93
Снятие** Removal**	–	–	92/0	0	–	–	132/2	1,5±1,06

Примечание: N/L – число хромосом/из них с летальными мутациями; * – провокационное облучение в дозе 30 Гр; ** – снятие с хронического облучения.

Note: N/L – number of chromosomes/of them with lethal mutations; * – acute exposure at a dose of 30 G; ** – removal from chronic irradiation.

стентных форм, возникших спонтанно или в результате облучения. Такой путь увеличения радиорезистентности популяций доказан для природных популяций хлореллы [17]. Вторых, возрастание радиорезистентных форм может осуществляться за счёт отбора форм, характеризующихся более эффективной работой репарационных систем [18]. В-третьих, путём радиоадаптации может быть компенсация летального поражения части популяции за счёт увеличения плодовитости [17]. В результате этих преобразований популяции восстанавливают уровень мутабельности до его оптимального значения.

При этом возрастание радиорезистентности может сопровождаться как снижением уровня индуцированных мутаций, что показано на примере уровня аббераций хромосом в делящихся клетках растений ячменя и некоторых дикорастущих травянистых растений, произрастающих в течение нескольких лет в условиях хронического облучения [17], так и большим мутационным грузом в хронически облучаемых популяциях по сравнению с контрольными популяциями [8, 19, 20].

Итак, длительное, на протяжении многих поколений, облучение в малых дозах индуцирует преобразования генетической структуры популяций, приводящие к формированию оптимальных генотипов, обладающих более высокой устойчивостью к радиационному воздействию и обеспечивающих, тем самым, выживание популяций в новых экологических условиях.

Литература

1. Шевченко В.А., Померанцева М.Д. Генетические последствия действия ионизирующих излучений. М.: Наука, 1985. 279 с.
2. Моссэ И.Б. Радиация и наследственность: Генетические аспекты противорадиационной защиты. Минск: Университетское, 1990. 208 с.
3. Сарапульцев Б.И., Гераськин С.А. Генетические основы радиорезистентности и эволюции. М.: Энергоатомиздат, 1993. 209 с.
4. Wallace B. Genetic changes within populations after X-irradiations // *Genetics*. 1951. V. 51. P. 612–618.
5. Wallace B. Studies of populations exposed to radiation // *Science*. 1952. No. 115. P. 487–492.
6. Wallace B., King J.C. A genetic analysis of the adaptive values of populations // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1958. V. 38. P. 706.
7. Wallace B., King J.C. Genetic changes in populations under irradiation // *Am. Naturalist*. 1951. V. 85. P. 209–223.
8. Cordiero A.R., Marques E.K., Veiga-Neto A.J. Radioresistance of natural population of *Drosophila willistoni* living in a radioactive environment // *Mutat. Res*. 1973. V. 19. P. 325–329.
9. Nothel H. Investigations on radiosensitive and radioresistant populations of *Drosophila melanogaster*. I.: Decreased radiosensitivity in stage-7 oocytes of irradiated population Ro-1 // *Mutat. Res*. 1970. V. 10. P. 463–474.
10. Nothel H. Investigations on radiosensitive and radioresistant populations of *Drosophila melanogaster*. II.: Restriction of the decrease in radiosensitivity of the irradiated population Ro-1 to stage-7 oocytes // *Mutat. Res*. 1972. V. 15. P. 277–286.
11. Nothel H. Investigations on radiosensitive and radioresistant populations of *Drosophila melanogaster*. VII.: High relative radioresistant to the induction of sex-linked recessive lethal in stage-7 oocytes of Ro-I₄ // *Mutat. Res*. 1976. V. 36. P. 245–248.
12. Тихомирова М.М. Генетический анализ. Л.: ЛГУ, 1990. 280 с.
13. Зайнуллин В.Г. Генетические эффекты хронического облучения в малых дозах ионизирующего излучения. СПб.: Наука, 1998. 100 с.
14. Yushkova E., Zainullin V. Interaction between gene repair and mobile elements-induced activity systems after low-dose irradiation // *International Journal of Radiation Biology*. 2016. V. 92. № 9. С. 485–492.
15. Юшкова Е.А., Зайнуллин В.Г. Особенности формирования радиационных эффектов у инбредных особей *Drosophila melanogaster*, различающихся по цитотипу // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2014. Т. 54. № 1. С. 27–34.
16. Шевченко В.А., Печкуренок В.Л., Абрамов В.И. Радиационная генетика природных популяций: Генетические последствия Кыштымской аварии. М.: Наука, 1992. 221 с.
17. Шевченко В.А. Радиационная генетика природных популяций // *Генетические механизмы селекции и эволюции* / Под ред. В.А. Шевченко. М.: Наука, 1986. С. 131–141.
18. Сергеева С.А., Семов А.Б., Абрамов В.И., Шевченко В.А. Изучение репарации радиационных повреждений у растений, произрастающих в условиях гамма-облучения // *Радиобиология*. 1985. Т. 25. Вып. 6. С. 774–777.
19. Kratz F.L. Radioresistance in natural populations of *Drosophila nebulosa* from a Brazilian area of high background radiation // *Mutat. Res*. 1975. V. 27. P. 347–355.
20. Моссэ И.Б., Савченко В.К., Лях И.П. Генетический мониторинг экспериментальных популяций дрозофилы при облучении и воздействии антимутагеном меланином. Динамика мутационного груза // *Радиобиология*. 1986. Т. 26. Вып. 1. С. 47–50.

References

1. Shevchenko V.A., Pomerantseva M.D. Genetic effects of ionizing radiation. Moskva: Nauka, 1985. 279 p. (in Russian).
2. Mosse I.B. Radiation and heredity: Genetic aspects of radiation protection. Minsk: Universitetskoye, 1990. 208 p. (in Russian).
3. Sarapultsev B.I., Geraskin S.A. Genetic basis of radioresistance and evolution. Moskva: Energoatomizdat, 1993. 209 p. (in Russian).
4. Wallace B. Genetic changes within populations after X-irradiations // Genetics. 1951. V. 51. P. 612–618.
5. Wallace B. Studies of populations exposed to radiation // Science. 1952. No. 115. P. 487–492.
6. Wallace B., King J.C. A genetic analysis of the adaptive values of populations // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1958. V. 38. P. 706.
7. Wallace B., King J.C. Genetic changes in populations under irradiation // Am. Naturalist. 1951. V. 85. P. 209–223.
8. Cordiero A.R., Marques E.K., Veiga-Neto A.J. Radioresistance of natural population of *Drosophila willistoni* living in a radioactive environment // Mutat. Res. 1973. V. 19. P. 325–329. doi: 10.1016/0027-5107(73)90233-9
9. Nöthel H. Investigations on radiosensitive and radioresistant populations of *Drosophila melanogaster*. I: Decreased radiosensitivity in stage-7 oocytes of irradiated population Ro-1 // Mutat. Res. 1970. V. 10. P. 463–474. doi: 10.1016/0027-5107(70)90006-0
10. Nöthel H. Investigations on radiosensitive and radioresistant populations of *Drosophila melanogaster*. II: Restriction of the decrease in radiosensitivity of the irradiated population Ro-1 to stage-7 oocytes // Mutat. Res. 1972. V. 15. P. 277–286. doi: 10.1016/0027-5107(72)90075-9
11. Nöthel H., Weber M. Investigations on radiosensitive and radioresistant populations of *Drosophila melanogaster*. VII: High relative radioresistant to the induction of sex-linked recessive lethal in stage-7 oocytes of Ro-1₄ // Mutat. Res. 1976. V. 36. No. 2. P. 245–248. doi: 10.1016/0027-5107(76)90012-9
12. Tikhomirova M.M. Genetic analysis. Leningrad: LSU, 1990. 280 p (in Russian).
13. Zainullin V.G. Genetic effects of chronic irradiation in small doses of ionizing radiation. Sankt-Peterburg: Nauka, 1998. 100 p. (in Russian).
14. Yushkova E., Zainullin V. Interaction between gene repair and mobile elements-induced activity systems after low-dose irradiation // International Journal of Radiation Biology. 2016. V. 92. No. 9. P. 485–492. doi: 10.1080/09553002.2016.1206221
15. Yushkova E.A., Zainullin V.G. Features of formation of radiation effects in inbred *Drosophila melanogaster* individuals differing in cytotype // Radiation biology. Radioecology. 2014. V. 54. No. 1. P. 27–34 (in Russian). doi: 10.7868/s0869803114010196
16. Shevchenko V.A., Pechkurenkov V.L., Abramov V.I. Radiation genetics of natural populations: Genetic consequences of the Kyshtym accident. Moskva: Nauka, 1992. 221 p. (in Russian).
17. Shevchenko V.A. Radiation genetics of natural populations // Genetic mechanisms of selection and evolution. Moskva: Nauka, 1986. P. 131–141 (in Russian).
18. Sergeeva S.A., Semov A.B., Abramov V.I., Shevchenko V.A. Study of repair of radiation damages in plants growing under gamma irradiation // Radiobiology. 1985. V. 25. No. 6. P. 774–777 (in Russian).
19. Kratz F.L. Radioresistance in natural populations of *Drosophila nebulosa* from a Brazilian area of high background radiation // Mutat. Res. 1975. V. 27. P. 347–355. doi: 10.1016/0027-5107(75)90292-4
20. Mosse I.B., Savchenko V.K., Lyakh I.P. Genetic monitoring of experimental populations of *Drosophila* under irradiation and exposure to antimutagen melanin. Dynamics of mutation load // Radiobiology. 1986. V. 26. No. 1. P. 47–50 (in Russian).

Изменчивость морфологических признаков и состояние популяции ручьевых форелей (*Salmo trutta morpha fario* Linnaeus, 1758) в верховьях рек Сулак и Самур

© 2020. Н. И. Рабазанов^{1,2}, д. б. н., профессор, г. н. с.,
 Р. М. Бархалов^{1,2,3}, к. б. н., доцент, зав. лабораторией,
 А. М. Орлов^{1,2,4}, д. б. н., профессор, г. н. с.,
 Г. Н. Маркевич⁵, к. б. н., с. н. с., Д. А. Устарбекова², к. б. н., с. н. с.,
¹Дагестанский государственный университет,
 367000, Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Гаджиева, д. 43-а,
²Прикаспийский институт биологических ресурсов
 Дагестанского федерального исследовательского центра
 Российской академии наук,
 367000, Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Гаджиева, д. 45,
³Государственный природный заповедник «Дагестанский»,
 367010, Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Гагарина, д. 120,
⁴Всероссийский научно-исследовательский
 институт рыбного хозяйства и океанографии,
 107140, Россия, г. Москва, ул. В. Красносельская, д. 17,
⁵Кроноцкий государственный природный биосферный заповедник,
 684000, Россия, Камчатский край, г. Елизово, ул. Рябикова, д. 48,
 e-mail: rnuh@mail.ru, barkhalov.ruslan@yandex.ru

В высокогорных притоках бассейнов рек Сулак и Самур исследована изменчивость морфологических признаков ручьевых форелей и дана оценка плотности форелевого населения. Облов ручьевых форелей осуществлялся методом сгона, с помощью сачка-ловушки, бредня и специально разработанного орудия лова. В бассейне р. Сулак в качестве модельных выбрано 18 средних и малых притоков, а в бассейне р. Самур – 13 притоков. Проведённые исследования показали, что во всех водотоках ручьевая форель совершала непротяжённые миграции внутри рек между местами нереста и нагула. Сравнительные данные ручьевых форелей высокогорных рек свидетельствуют о чрезвычайно высокой пластичности, при этом каждая популяция форелей в рассматриваемых реках по ряду признаков отличается друг от друга. Колебания морфометрических признаков не выходят за пределы видовой специфики, и характеризуют эти группы как экологические формы единой таксономической категории. В последние годы в связи с антропогенными воздействиями наблюдается сокращение нерестилищ и численности ручьевых форелей горных рек. Ручьевая форель представляет пресноводную форму предкавказской кумжи, поэтому популяции ручьевых форелей могут служить важным резервом восстановления проходной популяции – предкавказской кумжи. В связи с этим для увеличения запасов, как форелей, так и кумжи рекомендуем в высокогорных притоках рек Сулак и Самур организовать искусственное разведение ручьевых форелей, а молодь их выпускать в родниковые источники, при этом необходимо расширить охранную зону государственного природного заказника федерального значения «Тляратинский» путём включения в него ряда ключевых водотоков, что создаст перспективный форелевый участок.

Ключевые слова: ручьевая форель, горные реки, морфометрические показатели, численность, природный заказник «Тляратинский».

Variability of morphological characteristics and the population status of brook trout (*Salmo trutta morpha fario* Linnaeus, 1758) at the headwaters of the rivers Samur and Sulak

© 2020. N. I. Rabazanov^{1,2} ORCID: 0000-0001-7664-6308[†]
 R. M. Barkhalov^{1,2,3} ORCID: 0000-0003-0210-4236[†] A. M. Orlov^{1,2,4} ORCID: 0000-0002-0877-2553[†]
 G. N. Markevich⁵ ORCID: 0000-0002-6893-4286[†] J. A. Ustarbekova² ORCID: 0000-0003-4237-7909[†]
¹Dagestan State University,
 43a, Gadghieva St., Makhachkala, Russia, 367000,

²Caspian Institute of Biological Resources
of the Dagestan Federal Research Center of Russian Academy of Sciences,
45, Gadghieva St., Makhachkala, Russia, 367000,

³Dagestan State Nature Reserve,
120, Gagarina St., Makhachkala, Russia, 367010,

⁴Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography,
17, V. Krasnoselskaya St., Moscow, Russia, 107140,

⁵Kronocky State Nature Biosphere Reserve,
48, Ryabikova St., Yelizovo, Russia, 684000,
e-mail: rnuh@mail.ru, barkhalov.ruslan@yandex.ru

In the high-mountain tributaries of the Sulak and Samur river basins, the variability of the morphological characteristics of brook trout was studied and the density of the trout population was estimated. Trapping of brook trout was carried out by the method of rut with the help of a net trap, dragnet and specially designed fishing gear. In the basin of the Sulak river 18 medium and small tributaries were chosen as a model ones, and 13 tributaries in the basin of the Samur river. The conducted studies showed that in all the streams under consideration the brook trout made non-extended migrations inside the rivers between spawning and feeding grounds. Comparative data on brook trout of mountain rivers testifies to the extraordinary plasticity of this fish, while each of the studied populations of trout on a number of grounds different from each other. The fluctuations in morphometric traits do not extend beyond the species specificity because they are ecological forms of single taxonomic category. In recent years due to anthropogenic impacts a decrease in spawning grounds and the number of brook trout of mountain rivers has been occur. Brook trout is a freshwater form of the Ciscaucasian trout, so the populations of brook trout can serve as an important reserve for the recovery of the migratory population – the Ciscaucasian trout. In this regard, to increase the reserves of both brook trout and Ciscaucasian trout, we recommend in the high-mountain tributaries of the Sulak and Samur rivers to organize artificial breeding of brook trout, and fry them to be released into spring sources, while it is necessary to expand the protective zone of the state nature reserve of Federal importance “Tlyaratinsky” by including a number of key watercourses in it, which will create a promising trout site.

Keywords: brook trout, mountain rivers, morphometric indicators, number, nature reserve “Tlyaratinsky”.

Высокогорные речные бассейны рек Кавказа и Закавказья в основном населены ручьевой форелью (*Salmo trutta morpha fario* Linnaeus, 1758), которые представляют собой вариант реализации ручьевой стратегии предкавказской кумжи (*Salmo trutta ciscaucasicus* Dorofeeva, 1967). Доказано, что нерест проходной и жилой кумжи (ручьевой форели) может происходить совместно [1, 2]. В случае исчезновения проходного экотипа в силу антропогенных или природных факторов самовоспроизводящиеся популяции жилой кумжи могут существовать в течение длительного времени, реализуя жизненный потенциал вида [3]. В условиях разорванного ареала, каждая популяция консервирует определённый набор уникальных признаков, которые, в случае восстановления проходного стада, могут послужить основой для реставрирования экологической пластичности проходной формы.

Исследования по ихтиофауне в горных реках всегда носили эпизодический характер, в связи с этим полученные нами данные представляют несомненный интерес. Особенно, это касается ручьевых форелей горных рек Кавказа, которые изучены явно недостаточно,

несмотря на ключевую роль их в поддержании устойчивого состояния экосистем. В конце XIX в. отдельные упоминания о ручьевой форели встречаются в работах [4] и [5]. Относительно подробно морфология ручьевых форелей Закавказья описана в работах [6–8]. В работе [8] приводятся сведения не только о морфологии, но и о питании, составе паразитов у различных речных группировок. В работе [9] показан ряд морфологических признаков, отличающий проходного предкавказской кумжи от форелей, населяющих реки Дагестана, которые свидетельствуют о частичной или полной репродуктивной изоляции проходной и жилой группировок. Ряд аспектов биологии и распределение ручьевых форелей отдельных районов Центрального Кавказа приводятся и в других работах [10–14]. Сравнение некоторых меристических параметров ручьевых форелей рек Джурмут, Дюльтычай и системы родниковых речек Кара-Су представлены в работе [15].

Из всех районов Кавказа и Закавказья наименее изучены форели северного макросклона Главного Кавказского хребта, в частности, двух наиболее крупных рек, дренирующих этот высокогорный район – рр. Сулак и Самур. Сведения о состоянии ихтиофауны

горных участков обоих бассейнов крайне скудны и разрознены. При этом, постоянно возрастающие антропогенные нагрузки, в первую очередь трансформация природных комплексов, могут нанести невосполнимый вред экосистемам, привести к исчезновению ценных рыб и, в частности, ручьевых форелей, а мы знаем, что популяцию ручьевых форелей горных рек можно рассматривать как важный резервный объект восстановления ценных проходных популяций – предкавказской кумжи. В связи с этим цель нашего исследования – описание современного состояния популяции ручьевых форелей бассейнов рек Сулак и Самур, и характеристика их морфометрических показателей.

Объекты и методы

В 2012–2017 гг. в верховьях рр. Сулак и Самур летне-осенние обловы проводили методом сгона, с использованием сачка-ловушки, бредня и специально нами разработанного орудия ловушечного типа, которое представляет собой цилиндрическую капроновую сеть, расправленную на железный обруч, с диаметром входного отверстия 90 см и кутцом длиной 1,5 м. Всего в верхних притоках бассейна р. Сулак отловлено 95 экз., а в верховьях р. Самур – 108 экз.

В бассейне р. Сулак в качестве модельных выбрано 18 средних и малых притоков II–III порядка длиной от 10 до 56 км, удалённых от устья примерно на 50–120 км, а в бассейне р. Самур обследовано 12 притоков I–III порядка длиной от 5 до 36 км, удалённых от устья примерно на 4–173 км (рис.). Суммарная протяжённость «форелевых» участков в обоих бассейнах составила 665 км.

Для сравнения популяции ручьевых форелей нами проводился анализ изменчивости морфометрических показателей по сокращённой схеме [16], включающий 5 счётных признаков – число чешуй в боковой линии (*ll*), жаберных тычинок (*sp.br*), ветвистых лучей в спинном (*D*) и анальном (*A*) плавниках, пилорических придатков (*pc*) и 14 измерительных признаков – длина головы (*C*), максимальная (*H*) и минимальная (*h*) высота тела, длина хвостового стебля (*cp*), антедорсальное расстояние (*aD*), длина грудного плавника (*lp*), высота (*hD*) и длина основания (*ld*) спинного плавника, высота анального (*hA*) плавника, горизонтальный диаметр глаза (*o*), длина рыла (*ac*), ширина лба (*io*), длина верхней (*lmx*) и нижней (*lmd*) челюстей. Пластические индексы параметров тела рассчитывали в % от длины тела по Смиту, а параметры головы – от длины головы.

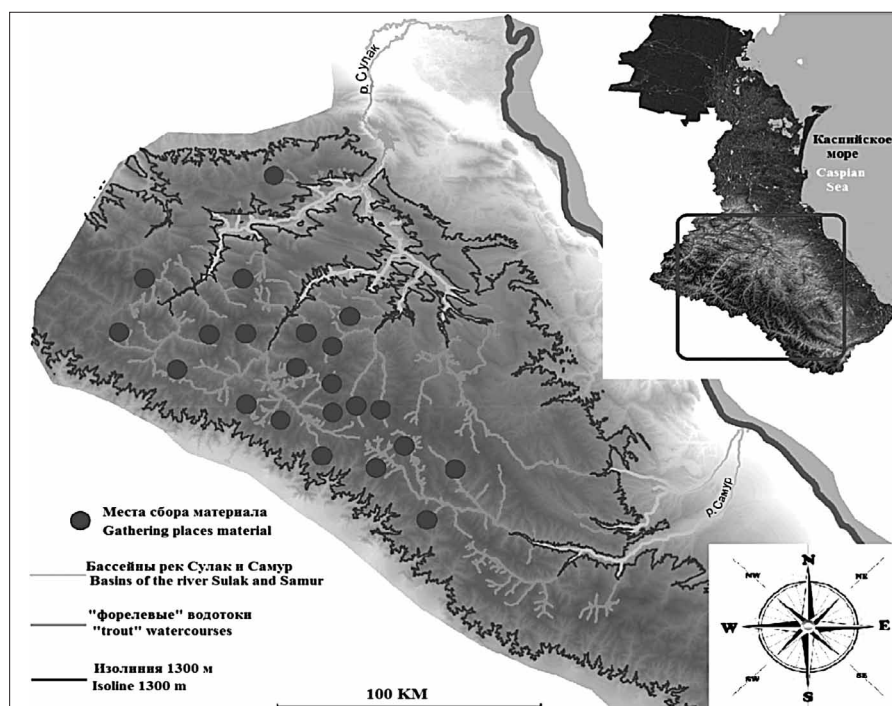


Рис. Картографическое ранжирование мест обитания ручьевых форелей и сбора ихтиологического материала
 Fig. Cartographic ranking of habitats of brook trout and gathering of ichthyological material

Нами проведены исследования также по оценке плотности населения ручьевой форели (N) на участках рек Кара-Койсу и Аварское Койсу бассейна реки Сулак, которая рассчитывалась по индексу численности (среднему улову на усилие) – (\bar{x}) , площади его распространения, равной 1 га (S), площади облова (g) и коэффициентам уловистости ловушки (бредня и разработанного нами орудия лова) ($K = 0,33\%$) по формуле:

$$N = S \cdot \frac{\bar{x}}{g} \cdot K$$

Результаты и обсуждение

Ихтиофауна модельных водотоков бассейна р. Сулак была представлена двумя видами рыб: ручьевой форелью (*Salmo trutta morpha fario* Linnaeus, 1758) из семейства Salmonidae и терским усечём (*Barbus ciscaucasicus* Kessler, 1877) из семейства Cyprinidae. Притоки II и III порядка бассейна р. Сулак были населены исключительно ручьевой форелью, которые встречались по всей длине водотоков от места впадения до истоков, особенно держались в ямах-омутах около подмываемых берегов, а также за крупными камнями и на участках обратного течения, тяготели к местам выхода ключей. При этом плотность форелевого населения увеличивалась по мере удаления от устья впадения реки. В бассейне р. Сулак в уловах терский усач нами отмечен в месте впадения рр. Темирор–Гохма в р. Аварское Койсу и рр. Тлейсерух–Каралазурор в р. Кара-Койсу.

В притоках верхнего порядка бассейна р. Самур был отмечен единственный жилой вид – ручьевая форель. Рыбы занимали стации, аналогичные описанным выше для притоков р. Сулак. Главным образом форель встречалась на геоморфологически идентичных участках порожисто-водопадного русла.

На основе картографического ранжирования нами были выделены участки рек, населённых исключительно ручьевой форелью (рис.). Проведённые исследования показали, что во всех высокогорных водотоках ручьевая форель совершала непротяжённые миграции внутри бассейнов рек между местами нереста и нагула. Распределение на участках рек, в первую очередь, определялось высотой над уровнем моря и связанными параметрами – скоростью течения и температурой воды. Исследования показали, что участки рек, расположенные в пределах 1200–1460 м над

уровнем моря служат верхней границей расселения терского усача. По течению рек выше 1500 м обитала только ручьевая форель.

В предыдущих исследованиях [15], проведённых в 2012–2013 гг., было представлено сравнение некоторых биометрических показателей ручьевой форели рек Джурмут (бассейн р. Сулак), Дюльтычай (бассейн р. Самур), а также родниковых речек системы Кара-Су. Эти исследования носили сугубо узкий характер. Поэтому в 2015–2017 гг. работы впервые с широким охватом были проведены во всех форелевых притоках рр. Андийское Койсу, Аварское Койсу, Кара-Койсу и в верховьях реки Самур.

Биологические характеристики ручьевой форели в притоках р. Андийское Койсу показали, что длина тела (по Смиту) колебалась от 8,1 до 18,8 см (в среднем $15,77 \pm 0,26$), а масса тела от 6,5 до 87,4 г (в среднем $55,4 \pm 0,2$). Тело форели сравнительно невысокое, наибольшая высота составила 19,2%, а длина головы – 23,2% к длине тела. Отношение длины нижней челюсти к длине тела составило 12,4%, а к длине головы – 53,6%. Хвостовой стебель короткий – 16,2% и высокий – 8,8% длины тела. В спинном плавнике (D) было III 8–10 лучей (в среднем $9,1 \pm 0,11$), а в анальном плавнике (A) – III 7–9 лучей (в среднем $7,6 \pm 0,04$). Количество чешуй в боковой линии составило 116–137 шт. (в среднем $125,9 \pm 0,19$), а число жаберных тычинок – 13–18 шт. (в среднем $15,8 \pm 0,33$) (табл.).

Ручьевая форель в притоках р. Аварское Койсу в наших сборах характеризовалась следующими признаками: длина тела (по Смиту) варьировала от 7,9 до 19,9 см (в среднем $14,10 \pm 0,22$), а масса тела от 6,2 до 93,7 г (в среднем $47,8 \pm 0,22$). Наибольшая высота тела составила 19,8%, а наименьшая – 8,8% длины тела. Длина нижней челюсти к длине головы составила 55,1%. Число лучей в D было III 9–11 (в среднем $9,3 \pm 0,13$), а в A – III 7–9 лучей (в среднем $7,8 \pm 0,07$). Чешуй в боковой линии составило 117–132 шт. (в среднем $121,9 \pm 0,20$), а количество жаберных тычинок – 18–22 шт. (в среднем $18,8 \pm 0,14$) (табл.).

Ручьевая форель в притоках р. Кара-Койсу имела следующие признаки: длина тела (по Смиту) колебалась от 8,3 до 21,5 см (в среднем $13,47 \pm 0,26$), а масса тела от 7,8 до 134,0 г ($49,7 \pm 0,22$). Хвостовой стебель был коротким – 15,3% и высоким – 8,8%. Наибольшая высота тела составила 20,9%, а длина головы – 22,7% к длине тела. Нижняя челюсть к длине тела составила 12,3%, а к длине головы –

Биометрические параметры ручьевых форелей горных рек Дагестана
Biometric parameters of brook trout of Dagestan mountain rivers

Признаки Trappings	Р. Андийское Койсу R. Andis Koisu	Р. Аварское Койсу R. Avar Koisu	Р. Кара- Койсу R. Kara- Koisu	Верховья р. Самур Upper reaches of Samur river
Длина тела по Смиуту, мм Length of the body by Smith, mm	157,7±2,6	141,0±2,2	134,7±2,6	134,1±1,8
Масса тела, г / Body weight, g	55,4±0,2	47,8±0,22	49,7±0,22	44,6±0,2
Число чешуй в боковой линии Number of scales in the lateral line, <i>ll</i>	125,9±0,19	121,9±0,20	119,5±0,16	122,7±0,12
Число жаберных тычинок Number of gill rakers, <i>sp.br</i>	15,8±0,33	18,8±0,14	18,1±0,16	19,7±0,12
Число ветвистых лучей в <i>D</i> Number of branched rays in <i>D</i>	8–10 9,1±0,11	9–11 9,3±0,13	8–10 9,1±0,17	8–9 8,4±0,10
Число ветвистых лучей в <i>A</i> Number of branched rays in <i>A</i>	7–9 7,6±0,04	7–9 7,8±0,07	7–9 7,7±0,14	7–9 7,6±0,10
Число пилорических придатков Number of pyloric appendages, <i>pc</i>	34–42 36,0±0,18	30–40 34,6±0,62	30–42 34,5±0,12	32–43 35,0±0,34
В % длины тела (по Смиуту) / In % of body length (Smith)				
<i>C</i>	23,2	22,9	22,7	24,1
<i>H</i>	19,2	19,8	20,9	20,0
<i>h</i>	8,8	8,8	8,8	9,1
<i>cp</i>	16,2	15,6	15,3	19,8
<i>aD</i>	39,4	39,5	39,3	40,6
<i>P</i>	16,0	16,9	16,6	16,3
<i>hD</i>	14,1	15,6	15,4	15,5
<i>lD</i>	12,6	12,4	12,1	10,8
<i>hA</i>	12,2	12,8	12,4	12,2
В % длины головы / In % of head length				
<i>o</i>	19,6	20,2	21,3	23,8
<i>ac</i>	27,9	23,4	23,7	23,8
<i>io</i>	31,5	30,5	28,0	26,2
<i>lmx</i>	46,6	47,8	46,6	46,3
<i>lmd</i>	53,6	55,1	54,1	55,6

54,1%, а верхняя челюсть – 10,6% к длине тела, и к длине головы – 46,6%. Число лучей в *D* составило III 8–10 (в среднем 9,1±0,17), а в *A* – III 7–9 лучей (7,7±0,14). Чешуй в боковой линии было 117–127 шт. (119,0±0,16), а жаберных тычинок на первой дуге – 16–20 шт. (18,1±0,16) (табл.).

У ручьевой форели в верховьях р. Самур отмечены следующие морфометрические признаки: длина тела (по Смиуту) колебалась от 8,8 до 19,4 см (в среднем 13,41±0,18), а масса тела от 7,3 до 93,4 г (44,6±0,2). Наибольшая высота тела (*H*) составила 20,0% его длины. Длина головы в % к длине тела составила 24,1%, а длина верхней челюсти к длине головы – 46,3%. Количество лучей в *D* составило III 8–9 (в среднем 8,4±0,1); а в *A* – III 7–9 лучей (7,6±0,1). Чешуй в боковой линии

было в пределах 118–128 шт. (122,7±0,12), а тычинок на первой жаберной дуге – 17–21 шт. (19,7±0,12) (табл.).

Приведённые сравнительные данные ручьевых форелей высокогорных рек Дагестана показали, что каждая из исследованных популяций по некоторым биометрическим параметрам отличается друг от друга. Так, наибольшее количество чешуй в боковой линии (*ll*) имела ручьевая форель из притоков р. Андийское Койсу, а наименьшее – форель из притоков р. Кара-Койсу. Количество жаберных тычинок (*sp.br*) меньше у форели из притоков р. Андийское Койсу, а наибольшее – у форели в верховьях р. Самур, при этом форели из притоков рек Аварское Койсу и Кара-Койсу по этому признаку были довольно близки между собой. Наибольшее количество ветвистых лучей

в спинном плавнике (*D*) имеет форель из притоков р. Аварское Койсу, а наименьшее в верховьях р. Самур. Количество ветвистых лучей в анальном плавнике (*A*) у всех форелей одинаковое. Наибольшим числом пилорических придатков (*pc*) обладали форели из притоков р. Андийское Койсу, а наименьшим – форели из притоков рек Аварское Койсу и Кара-Койсу.

Сравнение пластических признаков показало, что наибольшую длину головы (*C*) имела ручьевая форель из верховьев р. Самур, а форели из притоков р.и Аварское Койсу и р. Кара-Койсу, по этому признаку были довольно близки между собой. Кроме того, у форели из верховьев р. Самур антедорсальное расстояние (*aD*) и длина хвостового стебля (*cp*) были также значительно больше, чем у остальных форелей. По такому признаку, как длина рыла в % к длине головы (*ac*), особенно выделялись ручьевые форели из притоков р. Андийское Койсу, у которых она значительно больше, чем у других. Диаметр глаза (*o*) у форели из притоков р. Андийское Койсу меньше, но ширина лба (*io*) больше, а у форели в верховьях р. Самур по этим показателям всё наоборот. Длина верхней (*lmx*) и нижней (*lmd*) челюстей в % к длине головы больше у ручьевой форели из верховьев р. Самур.

В настоящее время ихтиофауна горных рек находится под воздействием зарегулирования стока плотинами (особенно бассейн р. Сулак), роста безвозвратного водопотребления (на орошение), загрязнения бытовыми и сельскохозяйственными стоками азотосодержащих веществ, бесконтрольного отлова, вырубки береговой древесной растительности и другими негативными антропогенными факторами, которые влияют не только на потери нерестилищ и нарушение миграционных путей рыб, но и сказываются на снижении численности и биомассы ценных рыб. Сохранение и восстановление естественного разнообразия всех таксономических видов, в том числе и рыб, обитающих в высокогорных притоках бассейнов рек Сулак и Самур возможна только в особо охраняемых природных (заповедных) территориях. В связи с этим нами дана оценка плотности населения ручьевой форели, особенно для участка рр. Кара-Койсу и Аварское Койсу. В рассматриваемых реках, при коэффициенте уловистости разработанной ловушки 0,33%, на площади облова 20 м² вылов ручьевой форели на усилие составило 3,0 экз. По проведённым нами расчётам абсолютная численность ручьевой форели составила – 495 экз. или 25,24 кг/га. Представленная

величина плотности населения может быть использована в качестве исходной при планировании природоохранной деятельности представителей ихтиофауны в условиях горных районов Дагестана, в частности, при возможном включении ряда ключевых водных объектов в состав заказника федерального значения «Тляртинский», расположенного на склонах Главного Кавказского и Бокового хребтов, в долине р. Джурмут. Это позволит провести инвентаризацию нерестилищ обитающих рыб, а в период нереста – ограничить любительское рыболовство, начиная от истока до устья впадения малых рек.

Заключение

Средние размерно-весовые показатели сравниваемых популяций форелей из разных горных рек были весьма близки друг к другу, при этом наблюдается снижение размерной изменчивости пластических признаков. Морфометрические особенности ручьевой форели подтверждают вывод о её способности образовывать отдельные экологические формы в разных по условиям обитания участках ареала.

В общем, популяции ручьевых форелей из верховьев рек могут служить важным резервом для восстановления проходных популяций предкавказской кумжи, как одного из наиболее ценных видов рыб Каспия. В связи с этим для поддержания популяций ручьевых форелей, сохранения их генофонда в рассматриваемых горных реках, необходимо оценить плотность и распределение численности, осуществить охрану нерестилищ и улучшить условия естественного воспроизводства. Важно создать вблизи мест размножения ручьевых форелей специализированный рыбоводный форелево-лососёвый завод и, возможно, несколько рыбопитомников, что позволит выпускать подращенную молодь в родниковые реки. Также, предлагаем в качестве форелевого участка включить все горные притоки III–IV порядка бассейнов рр. Сулак и Самур в состав федерального природного заказника «Тляртинский».

Литература

1. Савваитова К.А. О неоднородности роста кумжи *Salmo trutta* L. в пределах одной популяции // Научные доклады высшей школы биологических наук. 1968. № 2. С. 23–29.
2. Kuzishchin K.V., Malyutina A.M., Gruzdeva M.A. Seasonal dynamics of feeding and food relationships of

juveniles of Salmonidae in the basin of the Kol River (Western Kamchatka) // Journal of Ichthyology. 2015. V. 55. No. 3. P. 397–424.

3. MacCrimmon H.R., Marshall T.L., Gots B.L. World distribution of brown trout, *Salmo trutta*: further observations // Journal of the Fisheries Board of Canada. 1970. V. 27. No. 4. P. 811–818.

4. Кесслер К.Ф. Рыбы, входящие и встречающиеся в Арало-Каспийско-Понтийской ихтиологической области // Труды Арало-Каспийской экспедиции. Санкт-Петербург, 1877. Т. 4. С. 13–360.

5. Каврайский Ф.Ф. Лососевые Кавказа. Ч. 2. Тифлис, 1897. 91 с.

6. Фортунатова К.Р. Форели озера Гек-гель // Труды Севанской озерной станции. Ереван, 1929. Т. 2. С. 5–68.

7. Владимиров В.И. Ручьевая форель Армении и её отношение к другим представителям рода *Salmo* // Труды Севанской гидробиологической станции. Ереван. 1948. Т. 10. С. 87–178.

8. Эланидзе Р.Ф. Ихтиофауна рек и озёр Грузии. Тбилиси: Мецниереба, 1983. 318 с.

9. Саидов Ю.С., Магомедов Г.М. Сравнительно-морфологические основы систематики форелей и каспийского лосося. М.: Наука, 1989. 108 с.

10. Белорыбица и кумжа Каспийского бассейна / Под ред. Г.Г. Матишова. Ростов: Изд-во ЮНЦ РАН, 2010. 84 с.

11. Бербекова И.А., Якимов А.В., Шахмурзов М.М., Львов В.Д. Состав и структура уловов рыбиков из естественных водоёмов Кабардино-Балкарии // Austrian Journal of Technical and Natural Sciences. 2014. No. 11–12. Section 1. Biology. P. 5–9 [Электронный ресурс] <https://elibrary.ru/item.asp?id=24185335> (Дата обращения: 12.07.2018).

12. Каимов М.Г., Гайрабеков М.Х. Трофические особенности и связанные с ними миграции ручьевой форели на территории Чеченской республики // Юг России: экология, развитие. 2009. Т. 4. № 4. С. 114–117.

13. Каимов М.Г. Экология и биологические особенности ручьевой (*Salmo trutta morpha fario* (Linnaeus, 1758) и эйзенамской (*Salmo trutta ezenami* Berg, 1948) форелей Терско-Каспийского района: Автореферат дис. ... канд. биол. наук. Махачкала, 2013. 23 с.

14. Абдусаматов А.С., Абдурахманов Г.М., Дохтукаева А.М., Дудурханова Л.А. Ихтиофауна верхнего Терека и его бассейна // Юг России: экология, развитие. 2011. Т. 6. № 3. С. 49–65.

15. Бархалов Р.М. Сравнительные данные меристических показателей ручьевой форели рек Джурмут (приток р. Аварское Койсу), Дюльтычай (приток р. Самур) и системы Кара-Су (бассейн р. Самур) // Труды государственного природного заповедника «Дагестанский». Махачкала, 2013. № 5. С. 66–69.

16. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищевая промышленность, 1966. С. 32–53.

References

1. Savvaitova K.A. On the heterogeneity of the growth of *Salmo trutta* L. salmon within a single population // Nauch-

nyye doklady vysshey shkoly biologicheskikh nauk. 1968. No. 2. P. 23–29 (in Russian).

2. Kuzishchin K.V., Maljutina A.M., Gruzdeva M.A. Seasonal dynamics of feeding and food relationships of juveniles of Salmonidae in the basin of the Kol River (Western Kamchatka) // Journal of Ichthyology. 2015. V. 55. No. 3. P. 397–424. doi: 10.1134/S0032945215020125

3. MacCrimmon H.R., Marshall T.L., Gots B.L. World distribution of brown trout, *Salmo trutta*: further observations // Journal of the Fisheries Board of Canada. 1970. V. 27. No. 4. P. 811–818.

4. Kessler K.F. Fish included and found in the Aral-Caspian-Pontic ichthyological region // Trudy Aralo-Kaspiyskoy ekspeditsii. Sankt-Peterburg, 1877. V. 4. P. 13–360 (in Russian).

5. Kavrayskiy F.F. Salmon Caucasus. Part 2. Tiflis, 1897. 91 p. (in Russian).

6. Fortunatova K.R. Trout lake Gek-gel // Trudy Sevanskoj ozernoy stantsii. Yerevan, 1929. V. 2. P. 5–68 (in Russian).

7. Vladimirov V.I. Brook trout of Armenia and its attitude to other members of the genus *Salmo* // Trudy Sevanskoj gidrobiologicheskoy stantsii. Yerevan. 1948. V. 10. P. 87–178 (in Russian).

8. Elanidze R.F. Ichthyofauna of rivers and lakes of Georgia. Tbilisi: Metsniereba, 1983. 318 p. (in Russian).

9. Saidov Yu.S., Magomedov G.M. Comparative morphological basis of systematics of trout and Caspian salmon. Moskva: Nauka, 1989. 108 p. (in Russian).

10. The white fish and trout of the Caspian basin / Ed. G.G. Matishov. Rostov: YuNC RAN, 2010. 84 p. (in Russian).

11. Berbekova I.A., Yakimov A.V., Shakhmurzov M.M., L'vov V.D. The composition and structure of catches anglers from natural reservoirs of the Kabardino-Balkaria // Austrian Journal of Technical and Natural Sciences. 2014. No. 11–12. P. 5–9 [Internet resource] <https://elibrary.ru/item.asp?id=24185335> (Accessed: 12.07.2018) (in Russian).

12. Kaimov M.G., Gayrabekov M.Kh. Food particularity and sprey trout migrations on the territory of the Chechen Republic // Yug Rossii: ekologiya, razvitie. 2009. V. 4. No. 4, P. 114–117 (in Russian). doi: 10.18470/1992-1098-2009-4-114-117

13. Kaimov M. G. Ecology and biological features of brook (*Salmo trutta morpha fario* (Linnaeus, 1758) and eisenam (*Salmo trutta ezenami* Berg, 1948) trout of the Terek-Caspian region : Avtoref. diss. ... kand. biol. nauk. Makhachkala, 2013. 23 p. (in Russian).

14. Abdusamadov A.S., Abdurakhmanov G.M., Dokhtukaeva A.M., Dudurkhanova L.A. The ichthyofauna of the Upper Terek and its basin // Yug Rossii: ekologiya, razvitie. 2011. V. 6. No. 3. P. 49–65 (in Russian).

15. Barkhalov R.M. Comparative data of meristic indicators of brook trout of the Dzhurmut river (tributary of the Avar Koisu), Dyul'tychay (a tributary of the river Samur) and the system of the Kara-Su (the basin of the Samur) // Trudy gosudarstvennogo prirodnogo zapovednika "Dagestanskiy". Makhachkala, 2013. No. 5. P. 66–69 (in Russian).

16. Pravdin I.F. Fish study guide-book. Moskva: Pishchevaya promyshlennost, 1966. P. 32–53 (in Russian).

Снижение выбросов в окружающую среду при производстве нефтяного кокса на установках замедленного коксования

© 2020. И. Ю. Шлёкова, к. б. н., доцент,
А. И. Кныш, к. с.-х. н., доцент, заведующий кафедрой,
Омский государственный аграрный университет им. П. А. Столыпина,
644008, Россия, г. Омск, Институтская площадь, д. 1,
e-mail: iyu.shljokova@omgau.org

Проанализированы источники выбросов в окружающую среду (ОС) с установки замедленного коксования, работающей на смесевом сырье – гудрон в смеси с тяжёлым газойлем крекинга. Определён вклад технологических блоков в суммарный выброс производственного объекта и установлен основной источник выбросов в ОС. Наибольшее количество выбросов возникает при работе реакторного блока установки. Разработаны мероприятия по снижению выбросов с реакторного блока. Определён фракционный состав и плотность сконденсировавшихся продуктов из коксовых камер в различные периоды цикла коксования. Установлена возможность их вовлечения в основной поток лёгкого газойля коксования, используемый в качестве компонента товарного дизельного топлива. Несконденсировавшиеся продукты из коксовых камер представляют собой углеводородный газ с частицами кокса и следами воды. Разработаны мероприятия по повышению качества газообразных продуктов для направления их на установки газодифракционирования и исключения выбросов в атмосферу. Предложена схема блока утилизации продуктов прогрева камер, пропарки и охлаждения кокса. При реализации мероприятий количество выбросов в ОС с установки снизится более, чем на 50% при одновременном увеличении выпуска высокомаржинальных нефтепродуктов.

Ключевые слова: замедленное коксование, промышленные выбросы, утилизация газообразных продуктов коксования, кокс.

Reducing emissions to the environment in the production of petroleum coke on delayed coking units

© 2020. I. Yu. Shlekova ORCID: 0000-0002-0257-7976
A. I. Knysh ORCID: 0000-0003-1050-4504
Omsk State Agrarian University named after P. A. Stolypin,
1, Institutskaya Ploshchad, Omsk, Russia, 644008,
e-mail: iyu.shljokova@omgau.org

The sources of emissions to the environment from the delayed coking unit operating on the mixed raw material (tar mixed with heavy cracking gas oil) have been analyzed. The contribution of technological units to the total emissions of the production facility has been determined and the main source of emissions to the environment has been established. The greatest amount of emissions occurs during the reactor unit operation. The technological scheme of the delayed coking unit is analyzed. The measures to reduce emissions from the reactor unit are developed. The fractional composition and density of condensed products from the coke oven chambers were determined at various times during the coking cycle. The products studied are a mixture of gasoline and gas oil (diesel) fractions. When preparing and studying a mixture of light gas oil coking with condensed oil products from the coke ovens, the possibility of their involvement in the main stream of light gas oil coking used as a component of commercial diesel fuel has been established. Non-condensed products from coke oven chambers are hydrocarbon gas with particles of coke and traces of water. Measures have been developed to improve the quality of gaseous products for directing them to gas fractionation units and to eliminate emissions into the atmosphere. The environmentally safe and economically feasible scheme of the block utilization of the products of heating chambers, steaming and cooling of coke is proposed. After the implementation of measures, the amount of emissions to the environment from the installation will decrease by more than 50% while simultaneously increasing the output of high margin oil products.

Keywords: delayed coking, industrial emissions, utilization of gaseous coking products, coke.

Нефтяной кокс – востребованный продукт переработки нефти, применяемый в качестве сырья для изготовления электродов, восстановителя при выплавке алюминия из руд, топлива для металлургических заводов, а также для получения карбидов, изготовления проводников и огнеупоров. Кокс получают в процессе коксования тяжёлых нефтяных остатков при температуре 450–520 °С. Процесс коксования является одним из экономически целесообразных путей переработки тяжёлых остатков, позволяющих при минимуме затрат дополнительно получать ценные нефтепродукты и, тем самым, увеличивать глубину переработки нефти [1–3].

Выбор способа коксования зависит от конечной цели процесса. В настоящее время на 95% установок получения кокса реализуется технология замедленного коксования, при которой основной целью процесса является получение кокса. Применение технологии замедленного коксования позволяет получить различные марки нефтяного кокса, значительно увеличить глубину переработки нефти и повысить экологическую безопасность производства при вовлечении в сырьё отходов нефтепереработки [4–6].

При этом установки замедленного коксования (УЗК) являются серьёзным источником загрязнения окружающей среды (ОС). В результате деятельности установки регистрируются выбросы углеводородных газов и коксовых частиц в атмосферу, а также образование сточных вод с высоким содержанием нефтепродуктов, механических примесей и соединений серы (сульфиды, сульфаты). Это связано, прежде всего, с особенностями реализации процесса замедленного коксования в промышленном масштабе. Безусловно, существует техногенная нагрузка, возникающая при работе любого технологического оборудования, печей, которая постоянно снижается при применении новых технологий и газообразного печного топлива. Стандартные приёмы повышения экологической безопасности в настоящее время активно реализуются на всех установках нефтеперерабатывающих заводов. Но каждая установка и процесс имеют свои особенности и УЗК – не исключение. На УЗК основным продуктом является кокс, частички которого попадают во все жидкие и газообразные продукты установки, ухудшая их качество, а также образуют отложения кокса в аппаратах и оборудовании [7, 8].

Работа установки осуществляется в циклическом режиме. Процесс замедленного кок-

сования является непрерывным по способу подачи сырья и по выходу газообразных и дистиллятных продуктов, но периодическим – по способу выгрузки кокса из камер. На УЗК вторичное сырьё для коксования получают в ректификационной колонне. С блока ректификации отводится углеводородный газ, бензин, лёгкий и тяжёлый газойль. Кубовый продукт колонны через блок печей направляется в реакторный блок. Коксовые камеры работают по циклическому графику и в них последовательно чередуются циклы коксования, охлаждения и пропарки кокса, его выгрузки и прогрева камер. При заполнении камеры сырьём на 70–80% по высоте поток сырья переводится в другую камеру. При коксовании пары продуктов непрерывно отводятся из камер в сырьевую ректификационную колонну, а утяжелённый остаток остаётся в необогреваемой камере и превращается в кокс. Заполненную коксом камеру продувают водяным паром для удаления жидких продуктов и нефтяных паров. Удаляемые продукты направляются в сырьевую ректификационную колонну пока кокс не охладится до 400 °С, после чего поток паров отключают и направляют в скруббер. Водяным паром кокс охлаждается до 200 °С, после чего в камеру подаётся вода. После бурения и извлечения кокса камера ставится на пропарку и далее на прогрев [9, 10].

Типичный цикл работы коксовой камеры реакторного блока составляет 48 ч, 24 из которых отводится на заполнение камеры сырьём и коксование и около 15 ч на прогрев, пропарку камер и охлаждение кокса [11]. Нефтепродукты, образующиеся в течение 15 ч, имеют непостоянный состав и достаточно низкое качество. При прогреве коксовых камер, пропарке и охлаждении кокса возникают значительные потери нефтепродуктов (2–9% масс. на сырьё), нерационально с экономической точки зрения используются углеводородные потоки и оборотная вода, загрязняются атмосферный воздух и сточные воды [7, 8].

В связи с этим весьма актуальна разработка мероприятий по утилизации жидких и газообразных нефтепродуктов, образующихся при прогреве камер, пропарке и охлаждении кокса УЗК.

Объекты и методы исследований

Состав и количество выбросов с различных УЗК существенно отличается в зависимости от вида сырья, перерабатываемого на установке. В статье рассмотрена двухблочная УЗК, ра-

ботающая на сырье, представляющем смесь гудрона установок атмосферно-вакуумной трубчатки, гудрона и тяжёлого газойля каталитического крекинга. Основным источником выбросов с установки определён расчётным методом.

Для разработки схемы блока утилизации выбросов была учтена цикличность работы установки и исследованы сконденсировавшиеся нефтепродукты (образцы № 1–3), образующиеся при прогреве камер, пропарке и охлаждении кокса УЗК нефтеперерабатывающего завода: образец № 1 – охлаждение коксовых камер, образец № 2 – прогрев коксовых камер, образец № 3 – пропарка кокса. За период исследования (в течение 5 месяцев) было отобрано 30 проб нефтепродуктов (по 10 проб в каждый цикл работы коксовых камер).

Для оценки возможности вовлечения сконденсировавшихся продуктов прогрева в поток лёгкого газойля коксования в лабораторных условиях была приготовлена смесь лёгкого газойля коксования со сконденсировавшимися продуктами из коксовых камер в соотношении 4:1 (согласно расчётам): образец № 4 – лёгкий газойль коксования из ректификационной колонны, образец № 5 – смесь лёгкого газойля коксования со сконденсировавшимися продуктами из коксовых камер.

Определение плотности и фракционного состава сконденсировавшихся продуктов из коксовых камер осуществлялось по стандартным методам испытания нефтепродуктов, регламентируемых ГОСТ, ASTM. Плотность нефтепродуктов определялась по ASTM D 1298

[12]. Фракционный состав лёгкого газойля и продуктов из коксовых камер определялся на автоматизированном аппарате для определения фракционного состава нефтепродуктов для лёгких нефтепродуктов согласно ASTM D86 [13].

Статистическую обработку проводили с помощью пакетов прикладных программ «Statistica» и «Microsoft Office Excel». Достоверность различий определяли по t-критерию Стьюдента.

По полученным экспериментальным данным, с учётом качества потоков УЗК разработана модель блока утилизации продуктов прогрева коксовых камер, пропарки и охлаждения кокса в среде Hysys. Программный пакет Aspen Hysys широко применяется в нефтегазовой отрасли для создания стационарных моделей на этапе эскизного проектирования технологических систем, анализа состояния аппаратов и предупреждения неисправностей, оптимизации режимов функционирования системы, планирования и управления предприятием.

Результаты и обсуждение

На каждом блоке установки присутствуют один или несколько источников выбросов. При анализе работы исследуемой УЗК и литературных данных установлено, что основными источниками загрязнения ОС являются газообразные продукты реакторного блока (при отсутствии эффективной схемы их утилизации), дымовые газы блока печей, вещества, выделяемые вентиляционными системами насосных станций и резервуарами,

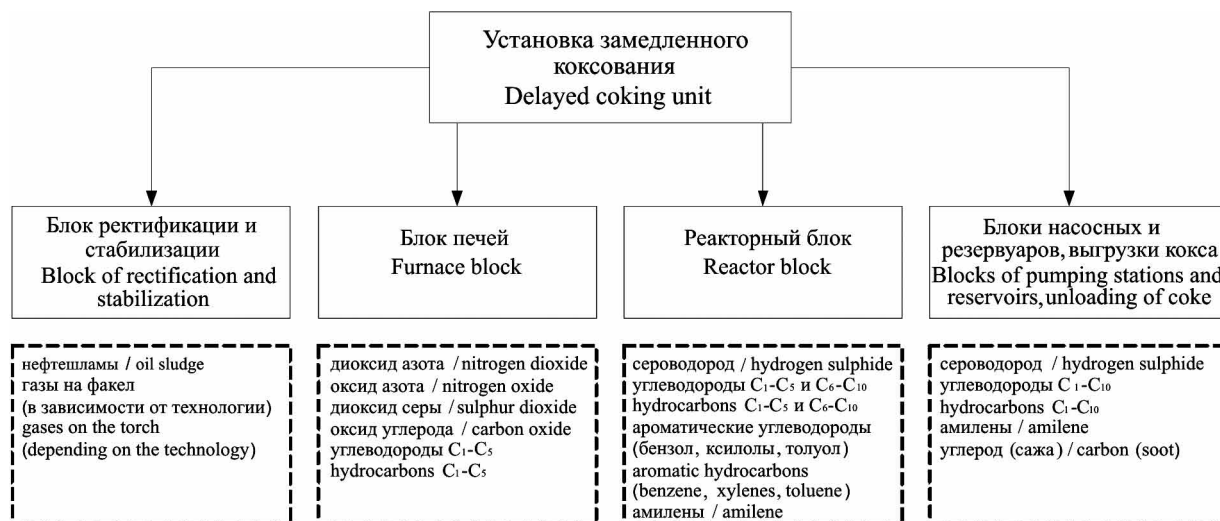


Рис. 1. Основные группы загрязняющих веществ, попадающих в окружающую среду с установки замедленного коксования
 Fig. 1. The main groups of pollutants entering the environment from the delayed coking plant

Таблица / Table

Фракционный состав и плотность исследуемых продуктов и смеси
Fractional composition and density of the studied products and mixtures

Показатель / Parameter	Образец / Sample				
	1	2	3	4	5
Плотность при 20 °С, г/см ³ Density at 20 °C, g/cm ³	0,8655 ±0,0232	0,8656 ±0,0168	0,8657 ±0,0405	0,8587 ±0,0837	0,8601 ±0,1012
Температура начала кипения, °С Initial boiling point, °C	101±2	104±3	106±1	158±2	154±4
50% отгона получено при температуре, °С 50% distillate obtained at a temperature of, °C	247±3	249±4	253±7	241±1	244±6
95% отгона получено при температуре, °С 95% distillate obtained at a temperature of, °C	348±2	351±1	350±4	334±3	342±7
Температура конца кипения, °С The temperature of the end boiling point, °C	360	360	360	348±2	352±8
Получено отгона при температуре 360 °С, % The obtained distillate at a temperature of 360 °C, %	97,5±1,5	97±1,1	97±1,9	–	–

Примечание / Note: $p \leq 0,05$. Прочерки в таблице обозначают, что измерение не проводилось / Dashes in the table indicate that the measurement was not performed.

а также сажа с блока выгрузки и транспортирования кокса [9, 14].

Основные группы загрязняющих веществ исследуемой УЗК представлены на рисунке 1.

При работе УЗК по типовой распространённой схеме не осуществляется квалифицированная утилизация продуктов прогрева камер, пропарки и охлаждения кокса и в атмосферный воздух направляется сероводород, углеводороды C_1-C_{10} , ароматические углеводороды (бензол, толуол, ксилолы) и амилены. При направлении продуктов прогрева на свечу возникает вторичное загрязнение атмосферы в результате сжигания указанных выше соединений.

По произведённым расчётам установлено, что наибольший вклад в суммарный выброс вносят выбросы с реакторного блока – 56,7%. Выбросы с блока печей составляют 29,5% от общего количества и 13,8% выбросов приходится на блок ректификации, выгрузки, насосные станции и резервуары.

Результаты определения фракционного состава и плотности сконденсировавшихся (жидких) продуктов из коксовых камер в различные периоды цикла коксования, лёгкого газойля коксования, а также смеси газойля со сконденсировавшимися продуктами из камер коксования представлены в таблице.

Очевидно, что нефтепродукты (образцы № 1–3) представляют собой смесь бензиновой и газойлевой (дизельной) фракций.

Для оценки возможности вовлечения сконденсировавшихся продуктов в поток лёгкого газойля коксования в лабораторных

условиях была проанализирована смесь лёгкого газойля коксования с продуктом из камер. Фракционный состав и плотность смеси соответствуют требованиям к компонентам дизельного топлива, следовательно, полученную смесь можно направлять на установки гидроочистки. В сконденсировавшемся продукте содержится вода и частицы кокса. Вода может быть отделена в резервуарном парке установок гидроочистки, а частицы кокса устранены с помощью специальных технических решений моделируемого блока утилизации (необходимо предусмотреть использование циклонов).

Несконденсировавшиеся продукты представляют собой углеводородный газ с частицами кокса и некоторым количеством воды. Данный поток без очистки и осушки применять в качестве топлива или направлять на фракционирование невозможно, так как это негативно скажется на работе оборудования. Именно поэтому он направляется на свечу или в атмосферный воздух. Подобное решение является нецелесообразным как с экологической, так и с экономической точки зрения.

Для получения газа удовлетворительного качества и отказа от его направления в атмосферу/на свечу, рационального использования сконденсировавшихся продуктов (направление светлых нефтепродуктов на приготовление котельного топлива) необходима организация блока утилизации выбросов.

Модель блока утилизации продуктов прогрева коксовых камер, пропарки и охлаждения кокса разработана авторами в среде Hysys. В модели предусмотрены мероприятия по

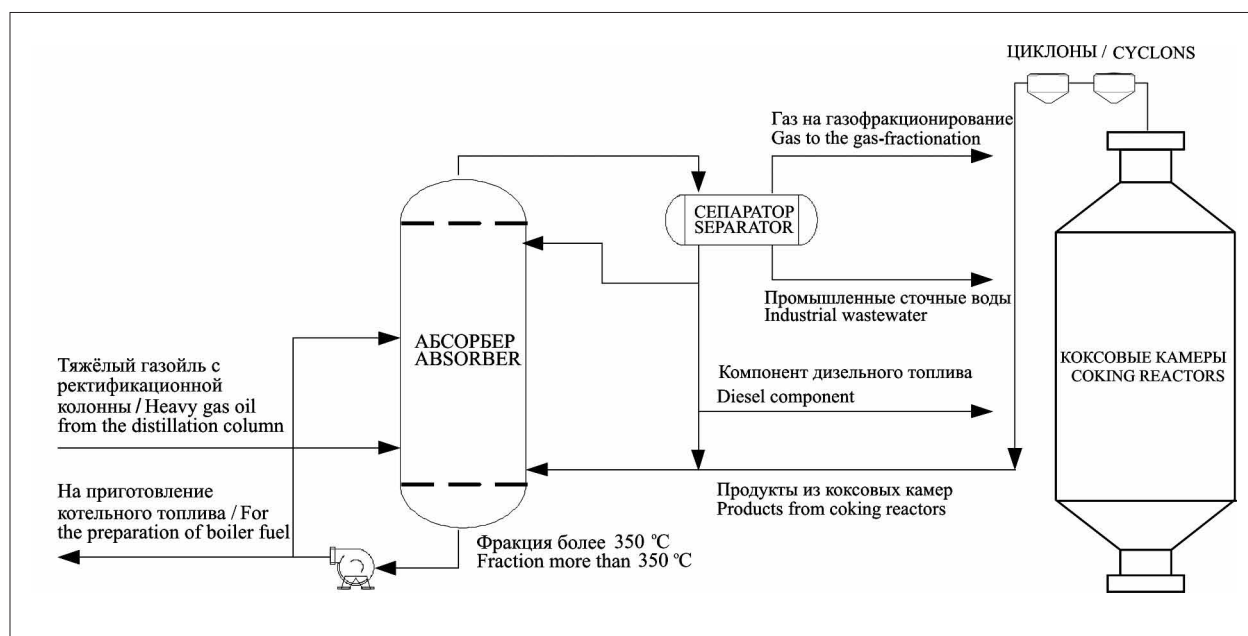


Рис. 2. Принципиальная технологическая схема блока утилизации продуктов прогрева камер, пропарки и охлаждения кокса
 Fig. 2. Schematic flow diagram of the unit recycling products heating chambers, steaming and cooling coke

повышению качества газа для перехода его из категории «выбросы» в категорию «товарные нефтепродукты» или «технологическое печное топливо». Температурный режим работы блока и технология утилизации в целом разработаны с учётом качества нефтепродуктов и применяемой технологической схемы исследуемой УЗК.

В блоке утилизации предусмотрена колонна-абсорбер с каскадными, клапанными и ситчатыми тарелками, ёмкость-сепаратор и циклонные сепараторы на выходе с коксовых камер. Принципиальная технологическая схема предлагаемого блока утилизации приведена на рисунке 2.

Продукты прогрева с температурой менее 400 °C направляются под нижнюю тарелку колонны-абсорбера через циклонные фильтры для удаления основной массы коксовых частиц. В абсорбер также направляется расчётное количество тяжёлого газойля коксования с ректификационной колонны. Температура тяжёлого газойля коксования составляет 300–350 °C, что позволит поддерживать оптимальный режим в нижней части колонны (с учётом периодичности поступления продуктов из камер).

Лёгкие фракции с верха абсорбера направляются в ёмкость-сепаратор для разделения на газ, воду и нефтепродукт (фракция до 350 °C). Для регулирования температуры верха колонны-абсорбера предусмотрено острое

орошение продуктом из ёмкости-сепаратора. Также полученная фракция направляется в линию продуктов прогрева из камер для снижения температуры и создания восходящего потока паров в абсорбере. Избыток фракции до 350 °C направляется через абсорбер жирных газов в сырьевую ректификационную колонну и выводится с установки совместно с лёгким газойлем коксования для дальнейшей гидроочистки и приготовления товарных дизельных топлив. Газ из ёмкости-сепаратора направляется на газофракционирование после осушки.

Контактные устройства в абсорбер подобраны, исходя из того, что для достижения нашей цели необходимо уменьшение гидравлического сопротивления в колонне и увеличение поверхности массообмена для более чёткого разделения. В нижней части колонны предложено установить несколько каскадных тарелок, в верхней – клапанные тарелки для более чёткой ректификации, в средней – ситчатые тарелки, что позволит не только интенсифицировать процесс ректификации, но и создать отмывочно-сепарационную зону. На установках каталитического крекинга успешно используют ситчатые тарелки, составляющие отмывочно-сепарационную секцию колонны, для отмыва от каталитической пыли. Аналогично на ситчатых тарелках будет происходить отмыв от коксовой пыли, особенно при наличии достаточного количества циркуляционного орошения. В качестве

циркуляционного орошения предлагается подавать кубовый продукт абсорбера.

Предложенная схема блока утилизации является универсальной и может быть применена на различных УЗК (в зависимости от сырья установки). Выбор оптимальных технологических параметров блока утилизации может быть выполнен в среде Hysys после исследования качества продуктов прогрева коксовых камер, пропарки и охлаждения кокса конкретной УЗК.

Технические решения по организации эффективной утилизации продуктов прогрева коксовых камер, пропарки и охлаждения кокса в специализированной литературе не представлены [5, 8, 9, 11, 14, 15]. По классической технологии продукты прогрева камер, пропарки и охлаждения кокса направляются в скруббер, в который подаётся вода для охлаждения и конденсации. Сконденсировавшиеся углеводороды вместе с водой (соляровая фракция) отводятся, несконденсировавшиеся сбрасываются на свечу. Газ сжигается или сбрасывается в атмосферу, так как содержит примеси кокса и воды, что не позволяет направлять его на газофракционирование. Сброс углеводородного газа в атмосферу осуществляется через ёмкость с организованной подачей оборотной воды. Продукт из скруббера из-за низкого качества совместно с тяжёлым газойлем коксования обычно направляется на приготовление котельных топлив [5]. Вода из скруббера с высоким содержанием нефтепродуктов и механических примесей отводится с общим потоком сточных вод установки и значительно осложняет работу очистных сооружений предприятия. Производственные сточные воды представляют собой сложную многокомпонентную смесь переменного состава, вследствие чего должны подвергаться многоступенчатой очистке. Недостаточно эффективная очистка сточных вод нефтеперерабатывающих заводов может быть причиной биогенного загрязнения водоёмов. В настоящее время антропогенная эвтрофикация рассматривается как один из важнейших факторов негативного воздействия человеческой деятельности на водные объекты. При эвтрофикации наблюдается «цветение» воды и массовое развитие высших водных растений, в результате чего снижается рыбохозяйственный и рекреационный потенциалы водоёмов [16, 17].

Заключение

В рамках исследования установлен основной источник выбросов в атмосферу при про-

изводстве нефтяного кокса на УЗК – реакторный блок установки. Разработана схема блока утилизации выбросов для снижения нагрузки на ОС и получение дополнительного количества светлых нефтепродуктов.

В разработанной схеме вместо традиционного скруббера предложена колонна-абсорбер с отмывочно-сепарационной зоной для разделения продуктов из коксовых камер и одновременно их дополнительным отмывом от коксовой пыли. Для уменьшения отложений кокса в колонне на выходе из коксовых камер предусмотрены циклоны. Для качественного разделения продуктов, отводимых с верха абсорбера на газ, воду и компонент дизельного топлива (фракцию до 350 °С) предусмотрена ёмкость-сепаратор. При применении данной схемы утилизации и переработки продуктов прогрева камер, пропарки и охлаждения кокса будут уловлены выбросы реакторного блока, уменьшены потери, появится возможность использовать выделенные газообразные продукты и увеличить выход светлых – получить дополнительное количество компонента дизельных топлив при снижении выработки котельного топлива. Снижение объёмов выпуска котельного топлива, в свою очередь, благоприятно скажется на состоянии ОС в связи со снижением выбросов соединений серы в атмосферу при его сжигании.

Применение предложенных мероприятий позволит снизить на 57% выбросы в атмосферу с установки замедленного коксования и одновременно получить качественные и более маргинальные продукты коксования.

References

1. Kapustin V.M., Glagoleva V.F. Physicochemical aspects of petroleum coke formation (review) // *Petroleum Chemistry*. 2016. V. 56. No. 1. P. 1–9. doi: 10.1134/S0965544116010035
2. Vartivarian D., Andrawis H. Delayed coking schemes are most economical for heavy-oil upgrading // *Oil & Gas Journal*. 2006. V. 104. No. 6. P. 52–56.
3. Kapustin V.M. New petrochemical complexes of Russia // *World Petroleum Congress Proceedings*. 2014. No. 1. P. 267–274.
4. Kapustin V.M. New technologies of oil feedstock deep conversion // *World Petroleum Congress Proceedings*. 2014. No. 3. P. 1900–1905.
5. Manovyan A.K. Technology for processing natural energy. Moskva: Khimiya, KolosS, 2004. 456 p. (in Russian).
6. Kapustin V.M., Chernyisheva E.A., Timin E.N., Khakimov R.V. New processes and technologies com-

mercialized at the refineries of the Russian Federation // AIP Conference Proceedings "Oil and Gas Engineering, OGE 2018". 2018. Article number 020013. doi: 10.1063/1.5051852

7. Sharov S.A., Ashikhmina T.Ya. Monitoring the effective operation of the emission cleaning system by waste composition // Theoretical and Applied Ecology. 2017. No. 4. P. 39–43 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2017-4-039-043

8. Valyavin G.G. Reduction of losses of oil products and reduction of environmental pollution on DCU. Moskva: TsNIITEnftekhim, 1982. 52 p. (in Russian).

9. Doshlov O.I., Matreninskiy K.E. Ecological problems of the delayed coking unit (DCU) in unheated chambers in the production of carbonaceous reducing agents for non-ferrous metallurgy // Vestnik Irkutskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. 2014. No. 12 (95). P. 195–199 (in Russian).

10. Gabbasov R.G., Valyavin G.G., Zaporin V.P., Kalimullin T.I. Directions for the development of the delayed coking process in the schemes of domestic oil refineries // Neftegazovoe delo. 2010. T. 8. No. 2. P. 90–93 (in Russian).

11. Kapustin V.M., Gureev A.A. Oil refining technology. Part 2. Destructive processes. Moskva: Khimiya, KolosS, 2007. 334 p. (in Russian).

12. ASTM D 1298. Standard test method for density, relative density or API gravity of crude petroleum and liquid petroleum products by hydrometer method. West Conshohocken USA: ASTM International, 1999. 8 p.

13. ASTM D 86. Standard test method for distillation of petroleum products at atmospheric pressure. West Conshohocken USA: ASTM International, 2007. 28 p.

14. Valyavin G.G., Zheleznikov N.A., Yurchenko N.F., Vetoshkin N.I., Sukhov S.V., Zaporin V.P. Reconstruction of a 21-10/6M coking plant at the Turkmenbashinsk complex of oil refineries // Chemistry and Technology of Fuels and Oils. 2009. V. 45. No. 6. P. 402–408. doi: 10.1007/s10553-010-0164-0

15. ITS 30-2017. Information and technical reference on the best available technologies. Oil refining. Moskva: Byuro NTD, 2017. 635 p. (in Russian).

16. Shlekova I.Yu., Knysh A.I. Intensification of biological treatment of industrial wastewater in aerotanks using adsorbents // Ecology and industry of Russia. 2018. V. 22. No. 6. P. 20–25 (in Russian). doi: 10.18412/1816-0395-2018-6-20-25

17. Kutyavina T.I., Rutman V.V., Ashikhmina T.Ya., Savinykh V.P. The use of satellite images to determine the boundaries of water bodies and study the processes of eutrophication // Theoretical and Applied Ecology. 2019. No. 3. P. 28–33 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-3-028-033

Трансформация табака по гену синтеза глицинбетаина не ослабила чувствительность растений к токсичности алюминия в кислой почве

© 2020. И. Г. Широких^{1,2}, д. б. н., зав. лабораторией, в. н. с.,

Я. И. Назарова¹, к. б. н., н. с.,

С. Ю. Огородникова², к. б. н., с. н. с., О. Н. Шуплецова¹, д. б. н., с. н. с.,

А. Л. Блинова¹, м. н. с., Г. Н. Ралдугина³, к. б. н., с. н. с.,

С. В. Евсюков³, аспирант, Е. Н. Баранова⁴, к. б. н., в. н. с.,

¹Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого, 610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, д. 166а,

²Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, 167892, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,

³Институт физиологии растений РАН имени К. А. Тимирязева, 127276, Россия, г. Москва, ул. Россия, ул. Ботаническая, д. 35,

⁴Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, 127550, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 42, e-mail: irgenal@mail.ru

В работе использовали растения табака (*Nicotiana tabacum* L.) с геном холиноксидазы (*codA*), отвечающим за синтез глицинбетаина – осмолита, способствующего стабилизации клеток при абиотических стрессах. Растения исходного сорта Самсун и независимых трансгенных линий CodA7 и CodA17, различающихся по экспрессии целевого гена, выращивали в горшечной культуре на торфяно-перегнойной почвенной смеси (контроль) и на естественной кислой дерново-подзолистой почве с алюминием (стресс). Сравнительная оценка реакции исходного сорта и трансгенных линий по морфометрическим показателям, характеристикам антиоксидантной защиты, содержанию фотосинтетических пигментов не выявила защитное действие гетерологичной вставки в отношении эдафического стресса, обусловленного повышенной кислотностью и токсичностью алюминия.

Ключевые слова: *codA*, растение-трансформант, глицинбетаин, кислотность, токсичность алюминия, перекисное окисление липидов, супероксиддисмутаза, пигменты.

Transformation with a bacterial gene for choline oxidase doesn't lower tobacco sensitivity to aluminum in acidic soil

© 2020. I. G. Shirokikh^{1,2}

ORCID: 0000-0002-3319-2729¹

Ya. I. Nazarova¹

ORCID: 0000-0002-2945-5282²

S. Yu. Ogorodnikova²

ORCID: 0000-0001-8865-4743³

O. N. Shupletsova¹

ORCID: 0000-0003-4679-0717⁴

A. L. Blinova¹

ORCID: 0000-0002-8912-1081⁵

G. N. Raldugina³

ORCID: 0000-0002-3349-8461⁶

S. V. Evsukov³

ORCID: 0000-0003-0106-8317⁷

E. N. Baranova⁴

ORCID: 0000-0001-9832-3948⁸

¹Federal Scientific Agricultural Center of the North-East named N. V. Rudnitsky, 166a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,

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

³Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences named after K. A. Timiryazev, 35, Botanicheskaya St., Moscow, Russia, 127276,

⁴All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, 42, Timiryazevskaya St., Moscow, Russia, 127550, e-mail: irgenal@mail.ru

The resistance of economically important crops to abiotic environmental stresses can be increased by overexpression of genes associated with the adaptation of plants to adverse factors. Most adaptive reactions in plants are aimed at stabilizing and protecting cellular structures by synthesizing compounds with osmoprotective properties. Metabolic adaptation through the accumulation of compatible osmolytes is considered as one of the main strategies for the protection and survival of plants in extreme conditions. The purpose of the work is an experimental verification of the hypothesis of the ability of the bacterial *codA* cholineoxidase gene to weaken the sensitivity of plants to the toxic effect of aluminum in acidic soil. The object of the study is tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.) with the *codA* gene responsible for the synthesis of glycine betaine, a compatible osmolyte that helps stabilize cells under abiotic stresses. Samsun tobacco and the independent transgenic lines CodA7 (*codA*⁻) and CodA17 (*codA*⁺) were grown in a pot culture on a peat-humus soil mixture (control) and on natural acidic sod-podzolic soil with aluminum (stress). A comparative assessment of the reaction of the initial variety and transgenic lines was carried out according to morphometric indicators, characteristics of antioxidant protection, and the content of photosynthetic pigments. There was no decrease in CodA17 sensitivity to increased soil acidity and aluminum toxicity. The lack of a protective effect of the introduced construct with the *codA* gene can be explained by the accumulation of glycine betaine in the leaves, while the oxidative stress caused by aluminum is associated mainly with the roots of the plant.

Keywords: *codA*, transforming plant, glycine betaine, acidity, aluminum toxicity, lipid peroxidation, superoxide dismutase, pigments.

Успехи современной молекулярной биологии позволяют не только исследовать физиологические и биохимические механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям окружающей среды, но и выявить, а затем и клонировать связанные с адаптацией гены для использования в генно-инженерных технологиях [1]. За счёт сверхэкспрессии генов, ассоциированных с адаптацией растений к абиотическим стрессам, может быть повышена устойчивость к ним экономически важных сельскохозяйственных культур, но первоначальное изучение биохимических и физиологических механизмов адаптации удобно проводить на модельных культурах, таких, как табак обыкновенный (*Nicotiana tabacum* L.).

Эффекты воздействия на растения различных абиотических стрессовых факторов имеют между собой много общего. Так, следствием многих из них является снижение в клетках содержания воды. Поэтому большинство адаптационных реакций у растений направлено на стабилизацию и защиту клеточных структур путём синтеза соединений с осмопротекторными свойствами [2]. Метаболическую адаптацию через накопление совместимых осмолитов, рассматривают сегодня в качестве одной из основных стратегий защиты и выживания растений в экстремальных условиях [1, 2]. Одним из эффективных осмолитов с протекторными свойствами является глицинбетаин (ГБ) (триметилглицин) – совместимый четвертичный амин, который при стрессе участвует в защите макрокомпонентов растительных клеток [3]. Некоторые растения накапливают значительные количества этого соединения в ответ на повышенное содержание солей, холод и засуху.

В генно-инженерных попытках превратить растения с дефицитом ГБ в его аккумуля-

торы ранее уже были использованы гены, связанные с различными путями биосинтеза ГБ [4]. Сверхэкспрессия гена, кодирующего бетаин-альдегиддегидрогеназу из *Prunella asiatica* Nakai, привела к сверхнакоплению ГБ у пшеницы и ослаблению вредного действия солевого стресса [5]. Накопление ГБ в трансгенном *Arabidopsis thaliana* в результате экспрессии бактериального гена холиноксидазы (*codA*) повышало толерантность к воздействию соли, холода, жары и света высокой интенсивности [6, 7]. Трансгенные по гену *codA* растения риса (*Oryza sativa* L.) продемонстрировали повышенную устойчивость к подавлению фотосинтеза, вызываемому солью или холодом [8]. Растения *Brassica juncea* (L.) Czern с экспрессией гена *codA* превосходили по интенсивности роста растения исходного (дикого) типа в условиях солевого стресса [9]. Усиление транскрипции бактериального гена холиноксидазы А с помощью терминатора HSP повышало продукцию ГБ и устойчивость к засолению деревьев *Eucalyptus camaldulensis* [10]. Накопление ГБ в транспластомных растениях картофеля (*Solanum tuberosum* L.), экспрессирующих холиноксидазу, обеспечивало растениям повышенную устойчивость к засухе [11].

Среди сообщений о том, что экспрессия гена холиноксидазы обеспечивает растениям-трансформантам повышение устойчивости к ряду неблагоприятных факторов окружающей среды, отсутствует информация о реакции трансформантов на токсичность алюминия в кислых почвах, вызывающая у растений окислительный стресс. При продолжительном воздействии ионной токсичности антиоксидантные системы растений перестают справляться с возрастающим уровнем активных форм кислорода (АФК), что приводит к серьёз-

ным нарушениям клеточного метаболизма: фотоокислению хлорофилла, перекисному окислению липидов (ПОЛ), деградации белков [12]. И хотя у растений описано несколько механизмов противодействия вызываемому ионами алюминия стрессу [13, 14], о действии ГБ в этих условиях, насколько нам известно, ранее не сообщалось.

Цель работы – экспериментальная проверка предположения о способности гетерологичной вставки *codA* ослаблять у табака чувствительность к токсическому действию алюминия в кислой почве.

Объекты и методы

В работе использовали табак обыкновенный (*Nicotiana tabacum* L.) сорта Самсун и полученные на его основе генетически модифицированные линии CodA7 и CodA17. В качестве целевого был использован ген *codA*, под контролем CaMV 35S промотора. В качестве маркерного использовали ген *NPTII* неомицин-фосфотрансферазы, дающий возможность отбирать трансгенные проростки на среде с канамицином (Кнм). Целевой ген *codA* был снабжён сигнальной последовательностью, которая обеспечивала доставку фермента холиноксидазы внутрь пластидного компартмента [15].

Для получения трансгенных растений применяли метод совместного культивирования эксплантов с агробактерией, находящейся на поверхности агаризованной среды [16]. После двух суток сокультивирования на среде для каллусогенеза (среда МС [17], 3% сахароза, 2 мг/л α -нафтилуксусной кислоты (НУК), 4 мг/л кинетина, 0,1 мг/л 2,4-дихлорфеноксиксусной кислоты (2,4-Д)) экспланты переносили на среду для морфогенеза (среда МС, 3% сахарозы, 1 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП), 0,1 мг/л НУК, дополненную антибиотиками цефотаксимом (Цфс) (800 мг/л) и Км (100 мг/л) и помещали в световую камеру с фотопериодом 16 час (день / ночь) и температурой 20–22/17–19 °С (день/ночь).

Через 5–6 недель образовавшиеся зелёные побеги отделяли от эксплантов и помещали на среду для укоренения (половинные макросоли и микросоли МС, 1% сахароза). Концентрацию Цфс с каждым последующим субкультивированием постепенно снижали до 300–200 мг/л, концентрация Км оставалась постоянной.

Для молекулярного подтверждения трансгенной природы полученных транс-

формантов использовали полимеразную цепную реакцию с праймерами: codF 5'-CGCCAACTTCTTCCAGATCAA-3' – прямой праймер, и codR 5'-GGGTGTTTCATGTCCGAACG-3' – обратный праймер, подобранными к нуклеотидной последовательности гена *codA*. Величина продукта амплификации, ограниченного данными праймерами, имела длину 507 п.о. Для гена *NPTII* использовали следующие праймеры: F 5'-GTGGAGAAGGCTATTCCGGCTA-3' и R 5'-CCACCATGATATTCGGCAAG-3' («Евроген»). ДНК выделяли из растительной ткани с использованием набора реагентов «ДНК-Экстрен» производства фирмы «Синтол» (Россия) согласно методике производителя. Реакцию ПЦР с праймерами к *codA* проводили в следующих условиях: 94 °С – 5 мин, затем 35 циклов: 94 °С – 1 мин; 59 °С – 30 сек; 72 °С – 1 мин. После циклов: 72 °С – 5 мин.

Кроме того, чтобы исключить контаминацию агробактерией, все растения проверяли также реакцией ПЦР с праймерами к агробактериальному гену *VitE2 F-5'-CGAATACATTCTCGTGCGTCAAAC-3'* и R 5'-TTTCGAGTGCATGCATAATGCCTGAC-3'.

Экспрессию гена *codA* определяли с помощью обратной цепной реакции (ОТ-ПЦР). РНК выделяли по стандартному методу с использованием набора «РНК-Экстрен» фирмы «Синтол» согласно методике производителя. Концентрацию выделенной РНК определяли спектрофотометрически, кДНК получали по методике производителя («Синтол»).

Клональное микроразмножение пробирочных растений исходного сорта и линий CodA7 и CodA17 проводили на среде МС без гормонов и витаминов. Пробирочные растения после образования развитой корневой системы высаживали в вегетационные сосуды с почвой (2 растения на сосуд, 3 сосуда в каждом варианте). Для создания эдафического стресса, обусловленного токсичностью алюминия в кислых почвах, использовали природную дерново-подзолистую почву с $pH_{\text{сол.}}$ 3,6 ед. и содержанием подвижного алюминия 12,8 мг/100 г. Контролем служили растения, выращенные в сосудах, заполненных торфяно-перегнойной смесью с pH 6,0 ед. без алюминия. Растения выращивали при освещённости 4000 кЛк, фотопериоде 16 час, температуре 25/18 °С день/ночь. Морфометрические показатели измеряли спустя 10 недель со времени высадки растений в почву. Для определения биохимических показателей смешанные пробы листьев отбирали по вари-

антам три раза, начиная с седьмой недели выращивания растений. Временные промежутки между отбором проб составляли две недели.

Для тестирования у растений симптомов окислительного стресса определяли активность супероксиддисмутазы (СОД) методом, основанном на способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление п-нитротетразолиевого синего [18] и интенсивность ПОЛ по содержанию малонового диальдегида (МДА) в реакции с тиобарбитуровой кислотой [19].

Содержание фотосинтетических пигментов определяли на спектрофотометре «Spectol» (Германия) в ацетоновой вытяжке [20] при длинах волн 662, 644 (хлорофиллы) и 440,5 нм (каротиноиды).

Статистическую обработку результатов проводили стандартными методами с использованием пакета программ EXCEL.

Результаты и обсуждение

Среди растений табака, подвергнутых агробактериальной трансформации с использованием экспрессионного вектора pVICodA [15], трансгенные линии были отобраны на селективной среде с антибиотиком Км. Для последующей работы были отобраны две линии CodA17 и CodA7, для которых молекулярно-генетический анализ посредством ПЦР показал наличие интегрированного гена *codA*. Далее методом ОТ-ПЦР было получено подтверждение экспрессии интродуцированного гена *codA*

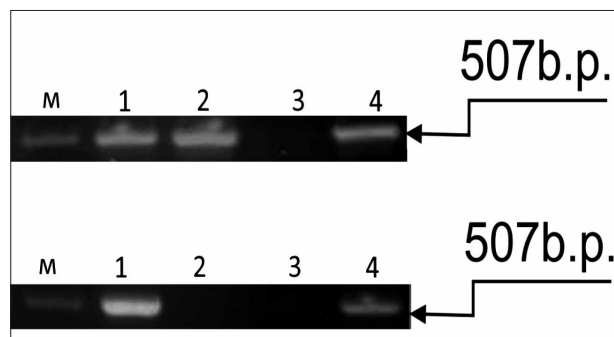


Рис. 1. Электрофореграммы продуктов ПЦР (вверху) и ОТ-ПЦР (внизу). Дорожки слева направо: М – маркер молекулярных весов; 1 – трансгенная линия CodA17; 2 – трансгенная линия CodA7; 3 – контрольное нетрансформированное растение; 4 – плазмидная ДНК
Fig. 1. Electrophoregrams of PCR (above) and RT-PCR products (below). Lanes from left to right: M – molecular weight marker; 1 – transgenic line CodA17; 2 – transgenic line CodA7; 3 – control non-transformed plant; 4 – plasmid DNA

у линии CodA17, тогда как у линии CodA7 экспрессия целевого гена не наблюдалась (рис. 1).

Обусловленный токсичностью ионов водорода и алюминия стресс проявляется у растений, в первую очередь, угнетением линейного роста корневой системы [21]. Табак исходного сорта Самсун при выращивании на кислом фоне с алюминием характеризовался по сравнению с контролем достоверно более низкими показателями длины корня и, соответственно, более широким соотношением линейных размеров надземной и подземной части (h/l) (табл. 1).

Таблица 1/ Table 1

Морфометрические показатели растений табака исходного сорта и трансгенных линий в зависимости от почвенного фона / Morphometric indicators of tobacco plants of the initial variety and transgenic lines depending on the soil background

Фон почвы Soil background	Высота побега, см / shoot height (h), cm	Длина корня, см / root length (l), cm	Отношение/ ratio h/l
Контроль (нейтральный) Control (neutral)	23,0±3,0	17,1±2,6	1,3
Кислый с алюминием Sour with aluminum	20,8±0,8	11,5±1,3*	1,8
CodA7			
Контроль (нейтральный) Control (neutral)	24,9±0,9	16,2±1,9	1,5
Кислый с алюминием Sour with aluminum	19,3±1,4*	13,1±2,1	1,5
CodA17			
Контроль (нейтральный) Control (neutral)	18,1±4,1	15,3±1,8	1,2
Кислый с алюминием Sour with aluminum	17,0±3,0	8,0±2,0*	2,1

Примечание: * – различие с контролем достоверно при $p \leq 0,05$.
 Note: * – the difference with control is significant at $p \leq 0,05$.

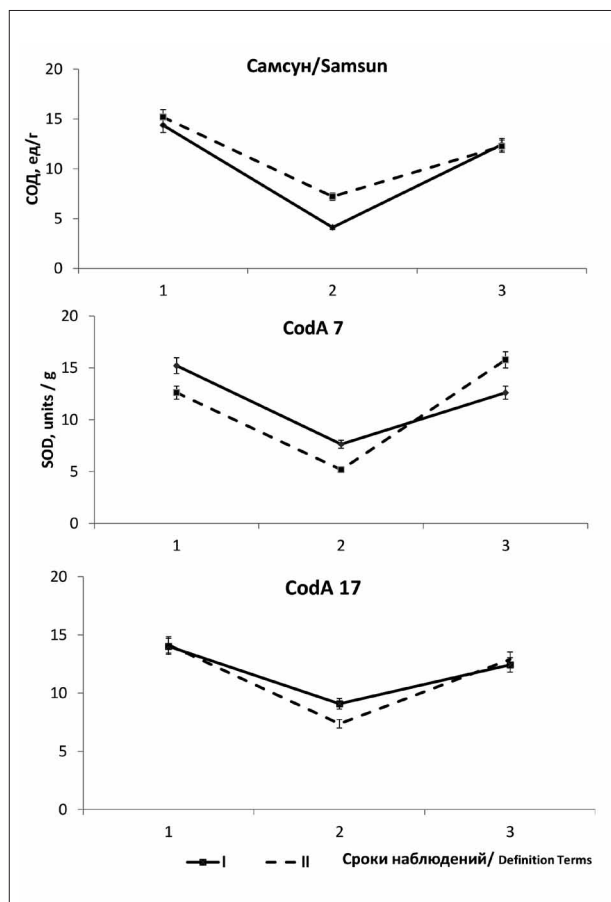


Рис. 2. Динамика активности СОД в листьях табака исходного сорта Самсун и трансгенных линий в зависимости от фона почвы: I – контроль (нейтральный), II – кислый с алюминием
Fig. 2. Dynamics of SOD activity in tobacco leaves of the original Samsun variety and transgenic lines depending on the soil background: I – control (neutral), II – acidic with aluminum

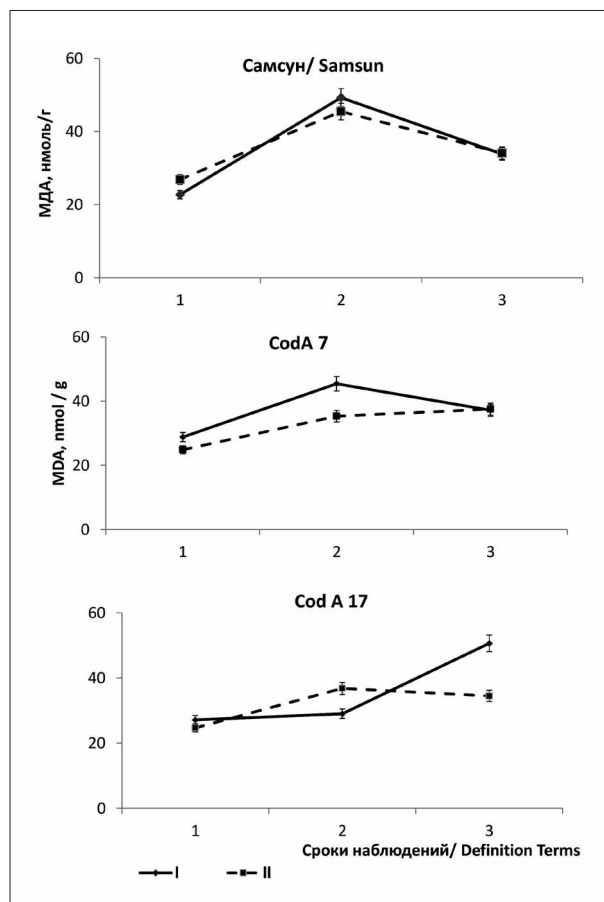


Рис. 3. Динамика ПОЛ в листьях табака исходного сорта Самсун и трансгенных линий в зависимости от фона почвы: I – контроль (нейтральный), II – кислый с алюминием
Fig. 3. Dynamics of lipid peroxidation in tobacco leaves of the original Samsun cultivar and transgenic lines depending on soil background: I – control (neutral), II – acidic with aluminum

Линии CodA7 и CodA17 в обычных условиях несущественно различались между собой по морфометрическим показателям и не уступали исходному сорту. На кислом фоне с алюминием линия CodA7 практически не демонстрировала угнетение роста корня, тогда как линия CodA17, напротив, характеризовалась меньшими размерами корневой системы, чем исходный сорт. В результате соотношение h/l у табака линии CodA17, экспрессирующей целевой ген холиноксидазы, расширилось с 1,2 в контроле до 2,1 при стрессе, тогда как у растений линии CodA7, не экспрессирующей целевой ген, осталось таким же, как при росте в обычных условиях – 1,5. Этот эффект можно объяснить действием ГБ, по-видимому, в больших количествах накапливающегося в клетках побега по сравнению с клетками корня при экспрессии интродуцированного гена *codA*.

При стрессе в растениях могут происходить разнонаправленные изменения активности СОД, однако её увеличение принято связывать с развитием окислительного стресса [22]. Активность СОД у табака исходного сорта Самсун при выращивании на кислом фоне существенно увеличилась по сравнению с обычными условиями (нейтральный фон) в первые два срока измерений (рис. 2). В растениях линии CodA7 при стрессе, напротив, активность СОД была ниже, чем в обычных условиях и увеличивалась лишь к третьему сроку измерения. Кроме того, в первые два срока измерений уровень накопления МДА в растениях линии CodA7, подвергнутой действию ионной токсичности, был существенно ниже, чем на нейтральном фоне (рис. 3), что можно объяснить наличием вставки гена *NPТII*, по-видимому, способствующему ингибированию синтеза этих ферментов. Ли-

ния CodA17, хотя и характеризовалась при стрессе сходной с линией CodA7 динамикой активности СОД (рис. 2), но в отличие от неё и исходного сорта, проявила иную картину динамики ПОЛ даже в обычных условиях (рис. 3), что можно объяснить накоплением ГБ в растениях этой линии, происходящей за счёт экспрессии трансгена *codA*. Это было показано ранее исследованиями других авторов, в которых накопление ГБ повышало или стабилизовало активность антиокислительных ферментов, что приводит к нейтрализации АФК и снижению окислительного повреждения биологических мембран [5].

О функциональном состоянии растений в условиях стресса, обусловленного токсичностью алюминия в кислой почве, судили по содержанию в листьях фотосинтетических пигментов. По сравнению с исходным сортом генетически модифицированные линии табака характеризовались значительными изменениями в суммарном содержании пластидных пигментов и в соотношении хлорофиллов *a*, *b* и ка-

ротиноидов даже в обычных условиях. Линия CodA7 отличалась от сорта Самсун существенно меньшим количеством в листьях хлорофилла *b* и каротиноидов, а линия CodA17, напротив, – существенным увеличением количества всех пластидных пигментов (табл. 2). Возможно, перестройки фотосинтетического аппарата у растений, подвергнутых генетической модификации, обусловлены функционированием сигнальной последовательности, которая была включена в состав генной конструкции для обеспечения доставки ГБ в пластиды.

На кислом фоне с алюминием в листьях табака исходного сорта наблюдали резкое сокращение количества пластидных пигментов в сравнении с растениями, выращенными в обычных условиях. Так, содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов в условиях ионной токсичности было ниже соответственно на 22, 26 и 45%, чем в контроле без алюминия. У линии CodA7, экспрессирующей только маркерный ген, на кислом фоне снизилось (на 37%) содержание хлорофилла *a*, тогда

Таблица 2/ Table 2

Содержание фотосинтетических пигментов в листьях табака в зависимости от почвенного фона
The content of photosynthetic pigments in tobacco leaves depending on the soil background

Генотип Genotype	Фон почвы Soil background	Хлорофиллы, мг/г Chlorophyll, mg/g		Каротиноиды, мг/г Carotenoids, mg/g	Отношение Ratio <i>a/b</i>	Сумма (<i>a+b</i>), мг/г / total (<i>a+b</i>), mg/g	Соотношение хлорофиллы/ каротиноиды Ratio chlorophylls/ carotenoids
		<i>a</i>	<i>b</i>				
Самсун Samsun	Контроль (нейтральный) Control (neutral)	<u>2,20±0,11</u>	<u>0,53±0,02</u>	<u>1,17±0,10</u>	<u>4,17</u>	<u>2,73</u>	<u>2,33</u>
	Кислый с алюминием Sour with aluminum	1,71±0,0	0,39±0,03	0,64±0,01	4,41	2,10	3,25
CodA7	Контроль (нейтральный) Control (neutral)	<u>2,21±0,21</u>	<u>0,36±0,04</u>	<u>0,81±0,07</u>	<u>6,14</u>	<u>2,57</u>	<u>3,16</u>
	Кислый с алюминием Sour with aluminum	1,39±0,01	0,39±0,03	0,83±0,01	3,61	1,78	2,14
CodA17	Контроль (нейтральный) Control (neutral)	<u>2,64±0,02</u>	<u>0,97±0,06</u>	<u>1,37±0,00</u>	<u>2,73</u>	<u>3,61</u>	<u>2,63</u>
	Кислый с алюминием Sour with aluminum	1,34±0,11	0,39±0,05	0,78±0,04	3,51	1,73	2,21

как количество хлорофилла *b* и каротиноидов существенно не изменилось по сравнению с обычными условиями. Парадоксально, что в листьях линии CodA17, экспрессирующей целевой ген холиноксидазы, содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов при стрессе снизилось на 50, 60 и 43% соответственно. То есть окислительные повреждения фотосинтетического аппарата, обусловленные токсичностью ионов Al^{3+} у растений табака CodA7, содержащей, но не экспрессирующей ген холиноксидазы, были менее выраженными, чем у линии CodA17, экспрессирующей этот ген. Это говорит о том, что трансгенные растения, содержащие функционирующий ген холиноксидазы, не являлись устойчивыми к токсичности алюминия. Возможной тому причиной является то, что ГБ, накапливающийся в трансгенных растениях, защищает в основном клетки надземной части, способствуя сохранению воды, тогда как ионы алюминия вызывают в основном окислительный стресс, и, в первую очередь, в клетках корневой системы.

Заключение

Таким образом, в результате проведённого исследования установлено, что растения, трансформированные конструкцией, содержащей ген холиноксидазы *codA*, не снизили чувствительность к токсическому действию ионов алюминия. Вместе с тем, учитывая, что нами была исследована только одна линия трансгенных растений табака, содержащая и экспрессирующая гетерологичный ген *codA*, необходимы дальнейшие исследования с проверкой других линий таких же растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 19-016-00207 _а «Влияние изменённого окислительного и осмотического статуса клеток на морфологические особенности надземной и подземной части растений и на преобразование микробиоты, ассоциированной с корневой системой» и, частично, в рамках государственного задания № 0414-2018-0003 «Оценка и прогноз отсроченного техногенного воздействия на природные и трансформированные экосистемы подзоны южной тайги», а также государственного задания № 0574-2019-0002.

Литература

1. Agarwal P.K., Jha B. Transcription factors in plants and ABA dependent and independent abiotic stress signaling // *Biologia Plantarum*. 2010. No. 54. P. 201–212.

2. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. М.: Высшая школа, 2006. 742 с.
3. Дэвис Д., Джованелли Д., Рис Т. Биохимия растений. М.: Мир. 1966. 417 с.
4. Sakamoto A., Murata N. Genetic engineering of glycinebetaine synthesis in plants: current status and implications for enhancement of stress tolerance // *Journal of Experimental Botany*. 2000. V. 51. No. 342. P. 81–88.
5. Лян К., Чжан С.Я., Ло И., Ван Г.П., Цзо Ц., Ван В. Сверхнакопление глицинбетаина у пшеницы ослабляет вредное действие солевого стресса // *Физиология растений*. 2009. Т. 56. № 3. С. 410–417.
6. Hayashi H., Chen T.H.H., Murata N. Transformation with a gene for choline oxidase enhances the cold tolerance of *Arabidopsis* during germination and early growth // *Plant, Cell and Environment*. 1998. V. 21. No. 2. P. 232–239.
7. Hayashi H., Mustardy L., Deshnum P., Ida M., Murata N. Transformation of *Arabidopsis thaliana* with the *codA* gene for choline oxidase; accumulation of glycinebetaine and enhanced tolerance to salt and cold stress // *The Plant Journal*. 1997. V. 12. No. 1. P. 133–142.
8. Sakamoto A., Murata A.N. Metabolic engineering of rice leading to biosynthesis of glycinebetaine and tolerance to salt and cold // *Plant Molecular Biology*. 1998. V. 38. P. 1011–1019.
9. Prasad K.V.S.K., Sharmila P., Kumar P.A., Saradhi P.P. Transformation of *Brassica juncea* (L.) Czern with bacterial *codA* gene enhances its tolerance to salt stress // *Molecular Breeding*. 2000. V. 6. No. 5. P. 489–499.
10. Tran N.H.T., Oguchi T., Matsunaga E., Kawaoka A., Watanabe K.N., Kikuchi A. Transcriptional enhancement of a bacterial choline oxidase A gene by an HSP terminator improves the glycine betaine production and salinity stress tolerance of *Eucalyptus camaldulensis* trees // *Plant Biotechnology*. 2018. V. 35. No. 3. P. 215–224.
11. You L., Song Q., Wu Y., Li S., Jiang C., Chang L., Zhang J. Accumulation of glycine betaine in transplastomic potato plants expressing choline oxidase confers improved drought tolerance // *Planta*. 2019. V. 249. No. 6. P. 1963–1975.
12. Чжан Х., Ли Я.Х., Ху Л.Ю., Ван С.Х., Чжан Ф.К., Ху К.Д. Влияние обработки листьев пшеницы донором окиси азота на антиокислительный метаболизм при стрессе, вызванном алюминием // *Физиология растений*. 2008. Т. 55. № 4. С. 523–528.
13. Kinraide T.B., Parker D.R., Zobel R.W. Organic acid secretion as a mechanism of aluminium resistance: a model incorporating the root cortex, epidermis, and the external unstirred layer // *J. Exp Bot*. 2005. V. 56. P. 1853–1865.
14. Yang Z.M., Sivaguru M., Horts W.J., Matsumoto H. Aluminum tolerance is achieved by exudation of citric acid from roots of soybean (*Glycine max*) // *Physiol Plant*. 2001. V. 110. P. 72–74.
15. Гулевич А.А., Куренина Л.В., Баранова Е.Н. Использование системы таргетинга ферментов Fe-зависимой супероксиддисмутазы и холиноксидазы в хлоропласт как стратегия эффективной защиты растений от абиотических стрессов // *Российская сельскохозяйственная наука*. 2018. № 1. С. 7–12.

16. Данилова С.А., Кузнецов В.В., Долгих Ю.И. Новый эффективный метод генетической трансформации кукурузы с использованием агробактериального газона // Физиология растений. 2009. Т. 56. № 2. С. 285–290.

17. Murachige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue // Physiol. Plant. 1962. V. 15. No. 3. P. 473–497.

18. Beauchamp C., Fridovich J. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels // Anal. Biochem. 1971. V. 44. No. 1. P. 276–287.

19. Лукаткин А.С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. 208 с.

20. Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зелёных листьев // Биохимические методы в физиологии растений. 1971. Т. 19. № 1. С. 164–170.

21. Климашевский Э.Л. Генетический аспект минерального питания растений. М.: Агропромиздат, 1991. 415 с.

22. Сошинкова Т.Н., Радюкина Н.Л., Королькова Д.В., Носов А.В. Пролин и функционирование антиоксидантной системы растений и культивируемых клеток *Thellungiella salsuginea* при окислительном стрессе // Физиология растений. 2013. Т. 60. № 1. С. 47–47.

References

1. Agarwal P.K., Jha B. Transcription factors in plants and ABA dependent and independent abiotic stress signaling // Biologia Plantarum. 2010. No. 54. P. 201–212.

2. Kuznetsov V.V., Dmitrieva G.A. Plant physiology. Moskva: Vysshaya shkola, 2006. 742 p. (in Russian).

3. Davis D., Giovanelli D., Rice T. Plant biochemistry. Moskva: Mir, 1966. 417 p. (in Russian).

4. Sakamoto A., Murata N. Genetic engineering of glycinebetaine synthesis in plants: current status and implications for enhancement of stress tolerance // Journal of Experimental Botany. 2000. V. 51. No. 342. P. 81–88. doi: 10.1093/jexbot/51.342.81

5. Liang K., Zhang S.Ya., Luo I., Wang G.P., Zuo Ts., Wang V. Super accumulation of glycine betaine in wheat weakens the harmful effects of salt stress // Plant Physiology. 2009. V. 56. No. 3. P. 410–417 (in Russian).

6. Hayashi H., Chen T.H.H., Murata N. Transformation with a gene for choline oxidase enhances the cold tolerance of Arabidopsis during germination and early growth // Plant, Cell and Environment. 1998. V. 21. No. 2. P. 232–239.

7. Hayashi H., Mustardy L., Deshniem P., Ida M., Murata N. Transformation of *Arabidopsis thaliana* with the codA gene for choline oxidase; accumulation of glycinebetaine and enhanced tolerance to salt and cold stress // The Plant Journal. 1997. V. 12. No. 1. P. 133–142. doi: 10.1046/j.1365-3113.1997.12010133.x

8. Sakamoto A., Murata A.N. Metabolic engineering of rice leading to biosynthesis of glycinebetaine and tolerance to salt and cold // Plant Molecular Biology. 1998. V. 38. P. 1011–1019.

9. Prasad K.V.S.K., Sharmila P., Kumar P.A., Saradhi P.P. Transformation of *Brassica juncea* (L.) Czern with

bacterial *codA* gene enhances its tolerance to salt stress // Molecular Breeding. 2000. V. 6. No. 5. P. 489–499.

10. Tran N.H.T., Oguchi T., Matsunaga E., Kawaoka A., Watanabe K.N., Kikuchi A. Transcriptional enhancement of a bacterial choline oxidase A gene by an HSP terminator improves the glycine betaine production and salinity stress tolerance of *Eucalyptus camaldulensis* trees // Plant Biotechnology. 2018. V. 35. No. 3. P. 215–224. doi: 10.5511/plantbiotechnology.18.0510b

11. You L., Song Q., Wu Y., Li S., Jiang C., Chang L., Zhang J. Accumulation of glycine betaine in transplastomic potato plants expressing choline oxidase confers improved drought tolerance // Planta. 2019. V. 249. No 6. P. 1963–1975. doi: 10.1007/s00425-019-03153-y

12. Zhang Kh., Lee Ya.Kh., Hu L.Yu., Van S.Kh., Zhang F.K., Hu K.D. Effect of treatment of wheat leaves with a nitric oxide donor on antioxidant metabolism under stress caused by aluminum // Plant physiology. 2008. V. 55. No. 4. P. 523–528.

13. Kinraide T.B., Parker D.R., Zobel R.W. Organic acid secretion as a mechanism of aluminium resistance: a model incorporating the root cortex, epidermis, and the external unstirred layer // Journal of Experimental Botany. 2005. V. 56. P.1853–1865. doi: 10.1093/jxb/eri175

14. Yang Z.M., Sivaguru M., Horts W.J., Matsumoto H. Aluminum tolerance is achieved by exudation of citric acid from roots of soybean (*Glycine max*) // Physiol Plantarum. 2001. V.110. P. 72–74. doi: 10.1034/j.1399-3054.2000.110110.x

15. Gulevich A.A., Kurenina L.V., Baranova E.N. Application of a system for targeting Fe-dependent superoxide dismutase and choline oxidase enzymes to chloroplast as a strategy for effective plant resistance to abiotic stresses // Russian Agricultural Sciences. 2018. V. 44. No. 2. P. 118–123.

16. Danilova S.A., Kuznetsov V.V., Dolgikh Yu.I. New effective method for the genetic transformation of corn using an agrobacterial lawn // Fiziologiya rasteniy. 2009. V. 56. No. 2. P. 285–290 (in Russian).

17. Murachige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue // Physiologia plantarum. 1962. V. 15. No. 3. P. 473–497.

18. Beauchamp C., Fridovich J. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels // Analytical biochemistry. 1971. V. 44. No. 1. P. 276–287.

19. Lukatkin A.S. Cold damage to heat-loving plants and oxidative stress. Saransk: Izd-vo Mordov. un-ta, 2002. 208 p. (in Russian).

20. Shlyk A.A. Determination of chlorophylls and carotenoids in green leaf extracts // Biokhimicheskie metody v fiziologii rasteniy. Moskva: Nauka. 1971. V. 19. No. 1. P. 164–170 (in Russian).

21. Klimashevsky E.L. The genetic aspect of the mineral nutrition of plants. Moskva: Agropromizdat, 1991. 415 p. (in Russian).

22. Soshinkova T.N., Radyukina N.L., Korolkova D.V., Nosov A.V. Proline and functioning of the antioxidant system of plants and cultured cells of *Thellungiella salsuginea* under oxidative stress // Fiziologiya rasteniy. 2013. V. 60. No. 1. P. 47–47 (in Russian). doi: 10.7868/S0015330313010090

Soil *Streptomyces* sp. strain 2K1: phylogenetic position, effect on *Fusarium proliferatum* growth

© 2020. D. V. Petukhov¹ ORCID:0000-0002-7733-5250, E. V. Tovstik¹ ORCID: 0000-0003-1861-6076
 A. V. Bakulina² ORCID: 0000-0002-5171-2476, M. L. Sazanova¹ ORCID: 0000-0003-3492-8395
 A. A. Burkov¹ ORCID: 0000-0002-3627-1262
¹Vyatka State University,
 36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,
²Federal Agricultural Research Center of North-East named N. V. Rudnitsky,
 166a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,
 e-mail: tovstik2006@inbox.ru

The article presents the results of a study of the phylogenetic position of the strain 2K1 and the effect of volatile substances (VS) on the growth of *Fusarium proliferatum* AC. Strain 2K1 was isolated from Kirov region soil. The strain 2K1 identification was carried out using cultural-morphological, physiological-biochemical features, as well as on the basis of analysis of the 16S rRNA gene partial sequence. The species of the strain 2K1 has not been established by the methods used. The closest related species of strain 2K1 according to phylogenetic analysis is *Streptomyces fulvissimus* strain SS-A28 (MK611756). Reliability of clustering within a single node of the phylogenetic tree at bootstrap 1000 is 86%. In the double culture experiments, the metabolic effect of VS of the strain 2K1 on the radial growth rate of the *F. proliferatum* AC fungus was studied. The strain AC belonging to *Fusarium* genus is confirmed by molecular genetic analysis results. It was found that VS of strain 2K1 reduce the rate of radial growth of *F. proliferatum* AC culture by more than 2 times at the age of 14 days. This allows speaking about the predominant effect of VS on the development of fungal hyphae, but not spores. According to gas chromatography mass spectrometry, volatile organic compounds of strain 2K1 include substances belonging to different classes of organic compounds. Among them are derivatives of alcohols, organic acids, mercaptans and esters are present. It is assumed that the inhibitory effect of VS strain 2K1 is determined by methylhydroxylamine. Since VS are able to easily overcome phase boundaries, the strain 2K1 can be recommended as a biocontrol agent against the *F. proliferatum*. The sequences of the 16S rRNA gene of *Streptomyces* sp. strain 2K1 and the ITS region of strain *F. proliferatum* AC are deposited in GenBank (accession numbers MT280320 and MT280199 respectively).

Keywords: *Streptomyces*, molecular genetic analysis, 16S rRNA gene, double culture, gas chromatography mass spectrometry, volatile substances, radial growth rate, *Fusarium proliferatum*, ITS region, biocontrol.

УДК 579.64; 579.873.7

Почвенный штамм *Streptomyces* sp. 2K1: филогенетическое положение, влияние на рост гриба *Fusarium proliferatum*

© 2020. Д. В. Петухов¹, аспирант, м. н. с.,
 Е. В. Товстик¹, к. б. н., с. н. с., доцент,
 А. В. Бакулина², к. б. н., зав. лабораторией, М. Л. Сазанова¹, к. б. н., доцент,
 А. А. Бурков¹, к. х. н., доцент,
¹Вятский государственный университет,
 610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,
²Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого,
 610007, Россия, Киров, ул. Ленина, д. 166а,
 e-mail: tovstik2006@inbox.ru

В статье приведены результаты исследования филогенетического положения штамма 2K1 и влияния летучих веществ на рост *Fusarium proliferatum* AC. Штамм 2K1 выделен из почвы Кировской области. Идентификацию штамма 2K1 проводили с использованием культурально-морфологических, физиолого-биохимических признаков, а также

на основе анализа фрагмента гена 16S рРНК. Видовая принадлежность штамма 2К1 использованными методами не установлена. Наиболее близким (достоверность кластеризации в пределах одного узла филогенетического дерева при bootstrap 1000 – 86%) родственным видом штамма 2К1 по данным филогенетического анализа является *Streptomyces fulvissimus* strain SS-A28. В опытах с двойной культурой исследовано метаболическое действие летучих веществ (ЛВ) штамма 2К1 на радиальную скорость роста гриба *F. proliferatum* AC. Принадлежность штамма AC к роду *Fusarium* подтверждена результатами молекулярно-генетического анализа. Установлено, что ЛВ штамма 2К1 снижают более чем в 2 раза скорость радиального роста культуры *F. proliferatum* AC в возрасте 14 суток, что позволяет говорить о преимущественном влиянии ЛВ на развитие грибных гиф, но не спор. По данным газовой хромато-масс-спектрометрии, в состав летучих органических соединений штамма 2К1 входят вещества, относящиеся к разным классам органических соединений. Среди них производные спиртов, органических кислот, меркаптанов и сложных эфиров. Предполагается, что ингибирующее действие ЛВ штамма 2К1 определяется метилгидроксиламином. Поскольку ЛВ способны легко преодолевать границы раздела фаз, штамм 2К1 может быть рекомендован в качестве агента для биоконтроля гриба *F. proliferatum*. Последовательности фрагмента гена 16S рРНК *Streptomyces* sp. strain 2К1 (MT280320) и участка ITS штамма *F. proliferatum* AC (MT280199) депонированы в GenBank.

Ключевые слова: *Streptomyces*, молекулярно-генетический анализ, 16S рРНК, участок ITS, двойная культура, газовая хромато-масс-спектрометрия, летучие вещества, скорость радиального роста, *Fusarium proliferatum*, биоконтроль.

Currently, increasing attention is being paid to microbial producers of biologically active substances that improve the growth of various plant species, including through biocontrol action [1, 2]. The members of the *Fusarium* genus are among the most famous fungal pathogens. Species capable of producing mycotoxins dangerous to humans and animals are of particular concern [3]. These include *F. proliferatum*, which in various countries causes damage to economically important crops such as wheat, cotton, onions, tomato [4–7].

It is possible to reduce damage from fusarioses by using biocontrol agents based on microbial strains [8–12]. The members of the genera *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Lysobacter* and *Streptomyces* are among of these bacteria [13, 14]. Despite the wide range described in the literature of fungal antagonists of the genus *Fusarium*, the search for new biocontrol agents does not lose its relevance due to the formation of resistance in pathogens.

The aim of this work was to study the composition of volatile substances (VS) of a new bacterial strain 2K1 and the effect of these metabolites on the growth of the fungus *F. proliferatum* AC.

Objects and methods

Strain 2K1 was isolated from the soil using selective isolation techniques – pre-sowing warming of the soil sample at 70 °C for four hours. The location of the soil sampling site is Kirov, Russia (N 58°30.380', E 49°36.683'). Strain 2K1 was isolated by spreading soil suspensions on casein glycerin agar [15].

To characterize the strain at the species level, conventional methods of studying cultural, morphological, as well as physio-biochemical features were used in accordance with the manu-

als [15–17]. *Streptomyces* isolate was cultured on diagnostic media (oatmeal agar (ISP 3), glycerin-nitrate agar, organic agar 2, and mineral agar 1). Melanoid pigment production was tested on peptone-yeast extract iron agar (ISP 6). The use of carbon sources was evaluated on the 10th day of cultivation on Pridham and Gottlieb's medium (ISP 9) with the carbohydrates addition (1%): D-glucose (positive control), L-arabinose, sucrose, D-mannitol, D-fructose, ramnose, glycerol and no carbon source (negative control).

The morphology of the reproductive structures of the streptomycete strain was studied on the Micromed-1 light microscope (China) at a magnification of ×100. The spore surface was studied with a JSM-6510 LV scanning electron microscope (Japan) with an accelerating voltage of up to 30 kV, without spraying. Preparation for microscopy consisted of formalin fixing the spores of a 21-day streptomycete culture grown on mineral agar 1.

The strain 2K1 was identified by molecular genetic analysis. Sequencing of the partial 16S rRNA gene sequence was carried out at the Research and Production Company “Synthol” (Moscow, Russia). To search for related species, the received sequence was compared to the sequences available in the Genbank database [18] via BLAST service. To study the taxonomic position of the strain, phylogenetic analysis was performed using the MEGA-X program [19]. Multiple alignment of nucleotide sequences was performed using the ClustalW algorithm. Phylogenetic trees were constructed using two different methods: neighbor-joining (NJ) and minimum evolution (ME). A bootstrap test (1000 replicates) was used to evaluate the tree topology [20]. The *Rhodococcus rhodochrous* strain DSM43274T was used as the outgroup.

In order to determine the sequence similarity 16S rRNA gene of the strain 2K1 and the reference strain *S. globosus* LMG 19896 (the species most corresponding to the test strain according to the cultural and morphological characteristics), pairwise sequence alignment was performed using the LALIGN program [21].

The fungus *F. proliferatum* AC was isolated from the soil of the Kirov region. The taxonomic affiliation of the strain AC was determined on the basis of cultural and morphological features [22], as well as the analysis of the nucleotide sequence of the ITS region by BLAST.

The VS's effect of strain 2K1 on the growth of the fungus *F. proliferatum* AC was studied by a double culture, creating a physical separation between them. Streptomycete was seeded with a "strip" on mineral agar 1, *F. proliferatum* AC – with a "injection" on the Czapek agar medium. After inoculation the bottom of the Petri dishes were joined and the joints of the dishes were sealed with a Parafilm to prevent VS leakage. The VS effect of strain 2K1 on *F. proliferatum* AC was evaluated by the rate of radial growth of micromycete colonies. To do this, on the 3rd, 4th, and 14th day after inoculation, the diameter of the fungus colony was measured in two mutually perpendicular directions. The control was a variant with the monoculture *F. proliferatum* AC. The repetition of the experience was threefold. Statistical processing of the obtained data was carried out by standard methods using Microsoft Excel 2007.

The composition of volatile organic compounds (VOCs) produced by the strain 2K1 was analyzed using a gas chromatography quadrupole type mass spectrometer GCMS-

QP2010Plus of the Shimadzu company (Japan) with a "pre-ROD" system, a pyrolytic attachment PY-2020iD, and a capillary quartz column HP-5MS. Chromatographic column parameters were 30 m length, 0.25 mm internal diameter, 0.25 microns thickness of the fixed phase layer. Helium was used as a carrier gas. For analysis, the streptomycete strain was grown on mineral agar 1 in Petri dishes, which were sealed with Parafilm. The VOCs were concentrated on calcined silica gel, which was placed in Petri dishes immediately after inoculation with the 2K1 strain. After 21 days silica gel with VOCs adsorbed on its surface was desorbed by heating and then analyzed. Detection conditions were: desorption temperature 300 °C, column temperature 50 °C, ion source temperature 200 °C, scanning speed 10000 amu/s. The analysis data were processed using GCMS Solution software version 2.5, and mass spectrum identification was performed using the NIST library.

Results and discussion

Using light and electron microscopy, it was found that strain 2K1 forms short straight or flexuous spore chains (Fig. 1 a); the spores are oval with smooth surface (Fig. 1 b).

Streptomyces sp. strain 2K1 forms an aerial mycelia (AM) of various colors. AM is powdery, from pale to purple-gray on mineral agar 1, oatmeal and organic agar 2, and it is white on glycerine-nitrate agar. The color of substrate mycelia (SM) is yellow to light brown on mineral agar 1, oatmeal and organic agar 2; and it is colorless on glycerine-nitrate agar. The soluble pigments present on mineral agar 1 and organic

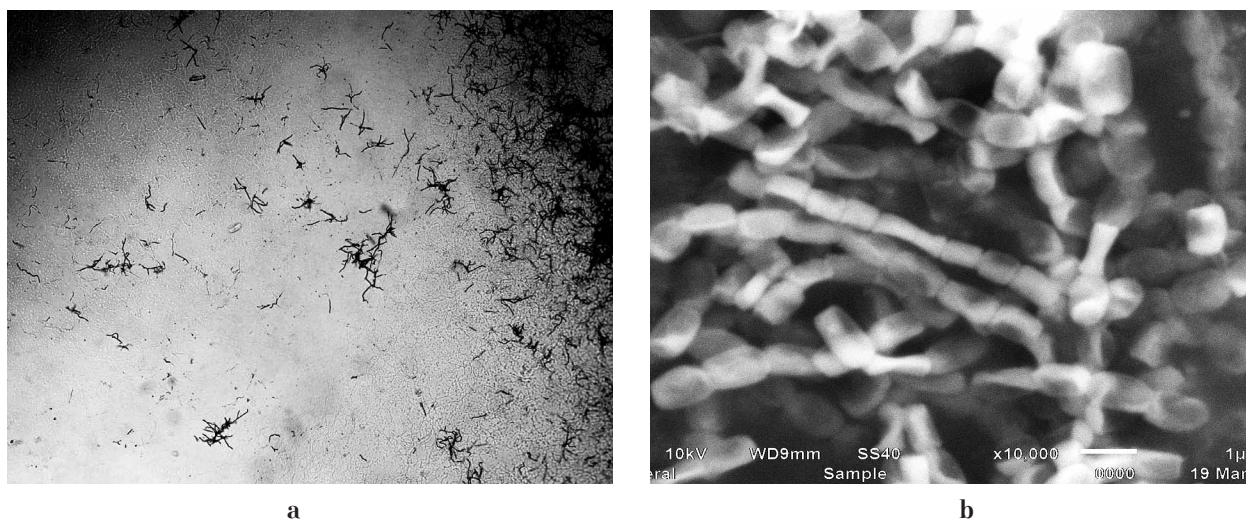


Fig. 1. Micrographs of spore chains of strain 2K1 obtained on light (magnification $\times 100$) (a) and scanning electron (magnification $\times 10000$) (b) microscopes

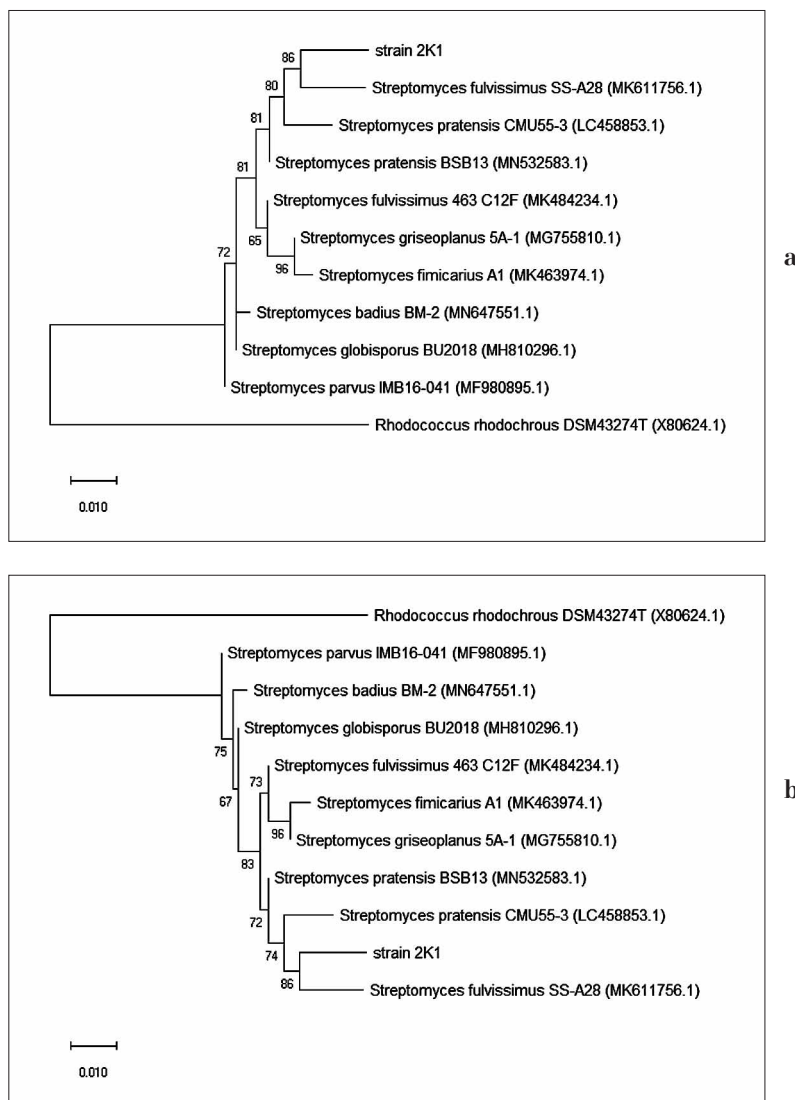


Fig. 2. Phylogenetic relationships between the *Streptomyces* sp. strain 2K1 and closely related *Streptomyces* strains. The trees were constructed used NJ (a) and ME (b) methods based on 16S rRNA gene sequences. The percentage of replicate trees in which the associated taxa clustered together in the bootstrap test (1000 replicates) are shown next to the branches. Evolutionary analyses were conducted in MEGA-X

agar 2 have a light brown color. The strain forms melanoid pigments on the ISP 6 medium. The abundant growth of the strain 2K1 is manifested on the ISP 9 medium containing glucose, D-fructose, D-mannitol, maltose, glycerol as the sole carbon source; moderate growth – with L-arabinose, ramnose.

Sequence analysis of the 16S rRNA gene confirmed that strain 2K1 belongs to the genus *Streptomyces* of the Streptomycetaceae family of Streptomycetales order of the Actinobacteria class. However, it does not allow identifying the strain more accurately than up to the genus. According to the BLAST service, *Streptomyces* sp. strain 2K1 was equally close (95.6%) on the nucleotide sequence of 16S rRNA gene to strains of the genus *Streptomyces* of various species:

S. fulvissimus, *S. pratensis*, *S. griseoplanus*, *S. griseus*, *S. lavendulae*, *S. fimicarius*, *S. globisporus*, *S. parvus*, *S. luridiscabiei*, *S. microflavus*, *S. pluricologrescens*, *S. badius*. According to phylogenetic analysis, the closest related species are *S. fulvissimus* and *S. pratensis*, formerly referring to *S. flavogriseus* [23] (Fig. 2 a, b).

Comparison of the phenotypic properties of *S. fulvissimus* [15, 16] and the 2K1 strain revealed several principal differences between the strain 2K1 and this species. *S. fulvissimus* belongs to the Ruber series of the Roseus section [15]. Strains of this section form AM with a characteristic pink tint, and SM with red tint on diagnostic medium. The strain 2K1 did not correspond to *S. fulvissimus* by color description of the AM and SM, but it showed

similarity in morphological features and the use of carbon sources for growth. According to [15] the strain 2K1 was previously assigned to *S. globosus* (Chromogenes series of the Cinereus section). At the same time, the similarity of 16S rRNA gene *Streptomyces* sp. strain 2K1 with the sequence of the reference strain of this species *S. globosus* LMG 19896, available in Genbank (NR042295.1), according to the pair alignment data was significantly lower (94.4%) than for the species offered by the BLAST service (95.6%). Thus, at this stage of the research, the species of the strain 2K1 could not be clearly established. The 16S rRNA gene partial sequence of the strain 2K1 is deposited in GenBank as *Streptomyces* sp. strain 2K1 (MT280320).

Taxonomic identification allowed the AC strain to be classified as *Fusarium. F. proliferatum*, *F. fujikuroi*, *F. verticillioides* are the closest relatives of the strain AC according to the nucleotide sequence of the ITS region found by BLAST. The culture-morphological features of the strain AC were as described by *F. proliferatum* (velvet colonies; the AM is white, fast-growing, the reverse is colorless on the Czapek agar medium; hyphae are colorless, septate; simple conidiophores; conidiogenic cells are monophialides and polyphialides) [22]. The ITS sequence of strain AC is listed in GenBank as *F. proliferatum* strain AC (MT280199).

Streptomyces are known to produce volatile metabolites with antifungal activity [24]. The study of the VS metabolic effect of strain 2K1 on the rate of radial growth of *F. proliferatum* AC in the early stages of development (4 days) did not reveal a significant effect. The rate of radial growth of fungus colonies in the monoculture was (0.7±0.1), in the double culture – (0.6±0.1) mm/hour. However, at a later date (14 days), the rate of radial growth of colonies of *F. proliferatum* AC was observed to slow down by more than 2 times under the VS action of strain 2K1. Thus, the rate of radial growth of fungus colonies in a monoculture was 0.15±0.01 mm/hour, while in a double culture it was 0.07±0.04 mm/hour. The VS's inhibitory effect of strain 2K1 on the intensity of radial growth of the strain AC at later stages of its development indicates their predominant effect on the growth of fungal hyphae, rather than on spores germination of the fungus.

The VOCs produced by *Streptomyces* sp. strain 2K1 were identified by gas chromatography mass spectrometry, and their ratio was determined. Substances belonging to different classes of organic compounds, such as deriva-

tives of alcohols, organic acids, mercaptans and esters, have been identified as the main components of VOCs of strain 2K1. (Methylsulfinyl) (methylthio) methane and methylhydroxylamine were found in the volatile substances and were more than 80% in total. Propyl acetate, 2-mercaptoethylamine, and propanoic anhydride were found in smaller amounts (less than 20% in total). Methylhydroxylamine is of greatest interest among the identified compounds. A review of the literature has shown that this compound is an antimicrobial agent effective against Gram-negative and Gram-positive bacteria. The mechanism of its action consists in specific inhibition of ribonucleotide reductase enzyme activity, the work of which is necessary for cell proliferation [25]. The negative effect of this substance was also observed on eukaryotic cells [26].

Conclusion

Thus, a complex of cultural, morphological, physiochemical and molecular-genetic features of the bacterial strain 2K1 was studied. It was not possible to identify the species of the *Streptomyces* sp. strain 2K1 by the methods used. VS of the strain 2K1 are capable of inhibiting the growth of hyphae *F. proliferatum* AC. According to the gas chromatography mass spectrometry, VOCs of strain 2K1 include substances belonging to different classes of organic compounds. Derivatives of alcohols, organic acids, mercaptans, and esters are among them. Methylhydroxylamine is the most interesting. The radial growth of *F. proliferatum* AC is believed to be inhibited by methylhydroxylamine. The detected antifungal activity of VS strain 2K1 has a practical interest. Since VS are able to easily overcome the phase boundary, the strain 2K1 can be recommended as a biocontrol agent against *F. proliferatum* fungus.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-316-90019.

Acknowledgments: The reported study was funded by RFBR, project number 19-316-90019.

References

1. Tripathi A.N., Meena B.R., Pandey K.K., Singh J. Microbial bioagents in agriculture: current status and prospects // New frontiers in stress management for durable agriculture / Eds. A. Rakshit, H. Singh, A. Singh, U. Singh, L. Fraceto. Singapore: Springer, 2020. P. 331–368. doi: 10.1007/978-981-15-1322-0-20

2. Azizbekyan R.R. Biological preparations for the protection of agricultural plants (Review) // Applied Biochemistry and Microbiology. 2019. V. 55. P. 816–823. doi: 10.1134/S0003683819080027
3. Jian Q., Li T., Wang Y., Zhang Y., Zhao Z., Zhang X., Gong L., Jiang Y. New insights into fumonisin production and virulence of *Fusarium proliferatum* underlying different carbon sources // Research International. 2019. V. 116. P. 397–407. doi: 10.1016/j.foodres.2018.08.053
4. Mahdy H.A. Identification of *Fusarium* species causing onion basal rot in Egypt and their virulence on seeds, seedlings and onion bulbs // Annals of Agricultural Science, Moshtohor. 2018. V. 56. No. 1. P. 79–88. doi: 10.21608/ASSJM.2018.44113
5. Gao M.L., Luan Y.S., Yu H.N., Bao Y.M. First report of tomato leaf spot caused by *Fusarium proliferatum* in China // Canadian journal of plant pathology. 2016. V. 38. No. 3. P. 400–404. doi: 10.1080/07060661.2016.1217277
6. Zhu Y., Abdelraheem A., Sanogo S., Wedegaertner T., Nichols R., Zhang J.F. First report of cotton (*Gossypium*) wilt caused by *Fusarium proliferatum* in New Mexico, USA // Plant Disease. 2019. V. 103. No. 10. P. 2679–2679. doi: 10.1094/PDIS-04-19-0713-PDN 6
7. Gagkaeva T.Yu., Gannibal F.B., Gavriloova O.P. Infection of wheat grain with *Fusarium* and *Alternaria* mushrooms in southern Russia in 2010 // Zashchita i karantin rasteniy. 2012. No. 1. P. 37–41 (in Russian).
8. Shawki K.F.M., Elsayed A.B.B., Abido W.A.E., Shabana Y.M. Using green chemicals and biological control agents for controlling the seed-borne pathogen *Fusarium moniliforme* in sugar beet // Journal of Plant Protection and Pathology. 2020. V. 11. No. 2. Art. 2. P. 63–72. doi: 10.21608/jppp.2020.78905
9. Devi A.R., Sharma G.D., Majumdar P.B., Pandey P. A multispecies consortium of bacteria having plant growth promotion and antifungal activities, for the management of *Fusarium* wilt complex disease in potato (*Solanum tuberosum* L.) // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2018. V. 16. P. 614–624. doi: 10.1016/j.bcab.2018.10.003
10. Großkopf T., Soyer O.S. Synthetic microbial communities // Current opinion in microbiology. 2014. V. 18. P. 72–77. doi: 10.1016/j.mib.2014.02.002
11. Schulz-Bohm K., Martín-Sánchez L., Garbeva P. Microbial volatiles: small molecules with an important role in intra- and inter-kingdom interactions // Front Microbiol. 2017. V. 8. Art. 2484. P. 1–10. doi: 10.3389/fmicb.2017.02484
12. Schmidt R., Cordovez V., de Boer W., Raaijmakers J., Garbeva P. Volatile affairs in microbial interactions // ISME Journal. 2015. V. 9. P. 2329–2335. doi: 10.1038/ismej.2015.42
13. Aleshin V.N., Pershakova T.V., Kupin G.A. Biological preparations of microbial nature as a tool for the formation of consumer properties of plant materials // Mezhdunarodnyy zhurnal gumanitarnykh i estestvennykh nauk. 2018. No. 5–1. P. 174–178 (in Russian).
14. Tovstik E.V., Sazanov A.V., Bakulina A.V., Shirokikh I.G., Ashikhmina T.Ya. Identification and study of the properties of *Streptomyces geldanamycininus* 3K9, isolated from the soil under the bush of *Heracleum sosnowskyi* // Theoretical and Applied Ecology. 2019. No. 2. P. 53–60 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-2-053-060
15. Gauze G.F., Preobrazhenskaya T.P., Sveshnikova M.A., Terekhova L.P., Maksimova T.S. A handbook of Actinomycetes. Moskva: Nauka, 1983. 248 p. (in Russian).
16. Bergey's Manual of systematic bacteriology. Second edition. V. 5. The Actinobacteria, Part A. / Eds. M. Goodfellow, P. Kampf, H.S. Busse, M.E. Trujillo, K. Suzuki, W. Ludwig, W.B. Whitman. Springer: New York Dordrecht Heidelberg London, 2012. 2083 p.
17. The Prokaryotes: A handbook on the biology of bacteria. Ecophysiology, isolation, identification, applications / Eds. A. Balows, H.G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, K.H. Schleifer. New York: Springer-Verlag, 1991. 1155 p.
18. Basic local alignment searching tool [Internet resource] <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> (Accessed: 6.04.2020).
19. Molecular evolutionary genetics analysis [Internet resource] <https://www.megasoftware.net/> (Accessed: 6.04.2020).
20. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap // Evolution. 1985. V. 39. No. 4. P. 783–791.
21. LALIGN program [Internet resource] https://embnet.vital-it.ch/software/LALIGN_form.html/ (Accessed: 16.04.2020).
22. Satton D., Fotergill A., Rinaldi M. Key to pathogenic and conditionally pathogenic fungi. Moskva: Mir, 2001. 486 p. (in Russian).
23. Doroghazi J.R., Buckley D.H. Intraspecies comparison of *Streptomyces pratensis* genomes reveals high levels of recombination and gene conservation between strains of disparate geographic origin // BMC Genomics. 2014. V. 15 (1). No. 970. doi: 10.1186/1471-2164-15-970
24. Van Wezel G.P., McKenzie N.L., Nodwell J.R. Chapter 5. Applying the genetics of secondary metabolism in model Actinomycetes to the discovery of new antibiotics // Methods in Enzymology. 2009. V. 458. P. 117–141. doi: 10.1016/S0076-6879(09)04805-8
25. Baelo A., Julián E., Torrents E. Methyl-hydroxylamine specifically inhibits ribonucleotide reductase activity in pathogenic bacteria // New Biotechnology. 2016. V. 33. No. 3. P. 417. doi: 10.1016/j.nbt.2015.10.009
26. Miret-Casals L., Baelo A., Julián E., Astola J., Lobo-Ruiz A., Albericio F., Torrents E. Hydroxylamine derivatives as a new paradigm in the search of antibacterial agents // ACS Omega. 2018. No. 3. P. 17057–17069. doi: 10.1021/acsomega.8b01384

Глаукониты Вятско-Камского фосфоритоносного бассейна

© 2020. Н. В. Сырчина¹, к. х. н., доцент, с. н. с.,
Т. Я. Ашихмина^{1, 2}, д. т. н., профессор, г. н. с., зав. лабораторией,
Н. Н. Богатырёва¹, аспирант, Г. Я. Кантор^{1, 2}, к. т. н., н. с.,

¹Вятский государственный университет,
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,

²Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
167982, Россия, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,
e-mail: nvms1956@mail.ru, ecolab2@gmail.com

Исследованы структура и химический состав глауконитов Вятско-Камского фосфоритоносного бассейна. Глаукониты входят как в состав фосфоритовых конкреций (10–30%, в некоторых случаях до 40%), так и в состав вмещающих пород. Содержание глауконитов в кварцево-глауконитовых песках на отдельных участках месторождения превышает 50%. Основными сопутствующими глауконитам минералами являются фосфориты, кальцит, кварц, гипс, соединения железа, глинистые минералы. Отмечено низкое содержание в глауконитах токсичных и радиоактивных элементов, а также относительно высокое содержание P_2O_5 , K_2O и агрохимических ценных для пахотных земель России микроэлементов Se и Co. Богатые ресурсы, ценный химический состав и экологическая безопасность позволяют использовать вятско-камские глаукониты в качестве натуральных бесхлорных фосфорно-калийных удобрений с микроэлементами. Особую ценность соответствующие удобрения могут представлять для органического земледелия.

Ключевые слова: глауконит, химический состав глауконитов, Вятско-Камский фосфоритоносный бассейн, органическое земледелие, натуральные удобрения.

Glauconites of the Vyatka-Kama phosphorite-bearing basin

© 2020. N. V. Syrchina¹ ORCID: 0000-0001-8049-6760, T. Ya. Ashikhmina^{1, 2} ORCID: 0000-0003-4919-0047,
N. N. Bogatyryova¹ ORCID: 0000-0002-6028-6632, G. Ya. Kantor^{1, 2} ORCID: 0000-0002-6462-6702

¹Vyatka State University,

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

²Institute of Biology of Komi Science Center of the Ural Branch of RAS,
28, Kommunisticheskaya St., Syktывkar, Komi Republic, Russia, 167982,
e-mail: nvms1956@mail.ru, ecolab2@gmail.com

The structure and chemical composition of glauconites of the Vyatka-Kama phosphorite-bearing basin were studied by photometric, atomic emission and mass spectrometric methods. Glauconite samples were taken at the tailings of the Verkhnekamsk phosphorite mine from a depth of 0.1–10 m. In total, 40 samples were taken and studied. The separation of glauconites from a mixture with other minerals (quartz, calcite, phosphate materials, etc.) was carried out manually using neodymium magnets. Glauconites are included both in the composition of phosphorite nodules (10–30%, in some cases up to 40%), and in the composition of the host rocks. The content of glauconites in quartz-glauconite sands in some areas of the deposit exceeds 50%. The main minerals accompanying glauconite are phosphorites, calcite, quartz, gypsum, iron compounds, clay materials. Glauconites of the Vyatka-Kama deposit have a high content of phosphorus and calcium, the content of the remaining elements corresponds to the average values characteristic of glauconites of other deposits. The content of toxic and radioactive elements in Vyatka-Kama glauconite is low (for example, the cadmium and mercury content in Vyatka-Kama glauconite is lower than clark values and significantly lower than the content of these elements in phosphate fertilizers). The content of fluorine, arsenic, vanadium, strontium, and uranium exceeds the clark values, but is at a lower level than the content of these elements in phosphorus fertilizers. The total content of rare-earth elements in the Vyatka-Kama glauconites is 1.42 g/kg, that is, corresponds to a high level. Relatively high contents of P_2O_5 , K_2O and agrochemical valuable elements of selenium and cobalt for the arable lands of the Russian Federation, rich resources and environmental safety make it possible to use Vyatka-Kama glauconites as natural chlorine-free phosphorus-potassium fertilizers with microelements. Appropriate fertilizers can be of particular value for organic farming.

Keywords: glauconite, chemical composition of glauconite, Vyatka-Kama phosphorite-bearing basin, organic farming, natural fertilizers.

Минералы группы глауконитов характеризуются комплексом ценных свойств, обуславливающих возможность их использования в качестве почвенных мелиорантов, натуральных удобрений, сорбентов, кормовых добавок, а также в косметологии, медицине, ветеринарии. Для этой группы минералов характерна слоистая структура и весьма разнообразный химический состав, зависящий от условий формирования, а также особенностей и возраста вмещающих пород. Основными элементами, входящими в состав глауконитов, являются **Si, Al, Fe, Ca, Mg, Na, K, O, H** [1]. Комитет по номенклатуре слюды IMA определил глауконит как диоктаэдрическую межслойную дефицитную слюду состава $K_{0,8}R^{3+}_{1,33}R^{2+}_{0,67}Al_{0,31}Si_{3,87}O_{10}(OH)_2$, с $^{VI}R^{2+}/(^{VI}R^{2+}+^{VI}R^{3+}) \geq 0,15$ и $^{VI}Al/(^{VI}Al+^{VI}Fe^{3+}) \leq 0,5$ [2]. За счёт выраженной способности к катионному обмену состав глауконитов обогащается широким спектром других элементов, в том числе селеном, серой, фосфором, мышьяком, тяжёлыми металлами (включая радионуклиды и редкоземельные элементы). Соответствующие элементы оказывают существенное влияние на свойства глауконитов и, следовательно, направления их практического применения.

Глаукониты каждого месторождения уникальны, как по составу, так и по свойствам. В настоящее время опубликовано большое количество работ, касающихся состава и строения глауконитов различных месторождений, однако глаукониты Вятско-Камского фосфоритоносного бассейна (Вятско-Камского месторождения фосфоритов) пока остаются на периферии внимания учёных. Вместе с тем, соответствующее месторождение является крупнейшим в Российской Федерации (РФ). Запасы фосфоритовых руд на территории месторождения превышают 2,5 млрд т, а запасы глауконитовых песков практически не ограничены [3]. Достаточно высокое содержание калия обуславливает интерес к глауконитам, как натуральным минеральным удобрениям [4], однако для выявления перспектив применения вятско-камских глауконитов в сельскохозяйственном производстве требуется детальное исследование их микроэлементного состава и оценка этого состава с точки зрения экологической безопасности.

Цель настоящей работы состояла в изучении особенностей химического состава глауконитов Вятско-Камского месторождения фосфоритов для оценки перспектив их использования в качестве удобрений и почвенных мелиорантов.

Объекты и методы

Объектом исследования явились глаукониты Вятско-Камского фосфоритоносного бассейна. Образцы глауконитов отбирались на территории хвостохранилища Верхнекамского фосфоритного рудника с глубины 0,1–10 м. Всего было отобрано и изучено 40 образцов.

На территории хвостохранилища складировались хвосты обогащения желваковых фосфоритных руд. Руда добывалась на прирудничных участках месторождения. Технология обогащения включала операции промывки и грохочения. Концентрат использовался для производства фосфоритной муки, а образующиеся хвосты сбрасывались в хвостохранилище. Выделение глауконитов из смеси с другими минералами (кварц, кальцит, фосфатные минералы и др.) выполнялось вручную с помощью неодимовых магнитов (остаточная магнитная индукция 1,25–1,28 Тесла). Оценка минералогического состава проводилась на основе микроскопических исследований и рентгенофазного анализа. Наличие и количество примесей в выделенных образцах контролировалось визуально с помощью стереоскопического микроскопа МСП-1 вариант 22. Для изучения химического состава использовались фотометрический, атомно-эмиссионный и масс-спектральный методы анализа.

Результаты и обсуждение

Глаукониты Вятско-Камского месторождения входят как в состав фосфоритовых конкреций (10–30%, в некоторых случаях до 40%), так и в состав вмещающих пород. Зёрна в конкрециях сходны с зёрнами глауконитового алеврита вмещающих пород. Внутри зёрен выявляются сгустки, прожилки и пятна скрытокристаллического фосфата. Преобладающая форма зёрен – округло-сферическая. Встречаются сильно вытянутые (по спикулам губок), а также ленточные формы, образованные по водорослям. Зёрна, сформированные по ядрам фораминифер, имеют шаровидную или грушевидную формы. Внутри зёрен в шлифах наблюдаются глобулярные участки, напоминающие внутреннее строение морской микрофауны. Окраска зёрен изменяется от светло-зелёной до тёмной сине-зелёной. На поверхности тёмноокрашенных зёрен хорошо видны контрастные пятна и разводы светлых тонов, а также вкрапления и пятна соединений железа характерного ржавого цвета.

Таблица 1 / Table 1

Химический состав глауконитов / The chemical composition of glauconites

Показатель Indicator	Содержание, % Content, %	
	глаукониты Вятско-Камского фосфоритоносного бассейна / glauconites of Vyatka-Kama phosphorite-bearing basin	глаукониты различных месторождений glauconites of various deposits [5–9]
SiO ₂	< 53	32,5–52,9
K ₂ O	4,7–6,4	4,4–9,4
Na ₂ O	0,13–0,35	0,0–3,5
FeO	0,6–1,1	0,8–8,6
Fe ₂ O ₃	11,0–16,8	6,1–27,9
Al ₂ O ₃	8,9–9,5	5,5–22,6
MgO	2,0–2,3	1,7–4,5
CaO	3,3–6,9	0,48–5,14
P ₂ O ₅	4,2–6,0	0,0–3,0

Таблица 2 / Table 2

Содержание токсичных и радиоактивных элементов / The content of toxic and radioactive elements

Элементы Elements	Среднее содержание в глауконитах Вятско- Камского месторождения, мг/кг Average content in glauconites of Vyatka-Kama deposit, mg/kg	Кларки химических элементов в осадочных породах (в целом) верхней части континентальной земной коры, мг/кг [11] Clarks of chemical elements in sedimentary rocks (in general) of the upper part of the continental crust, mg/kg [11]	Содержание в фосфорных удобрениях, мг/кг [12] The content in phosphorus fertilizers, mg/kg [12]
F	19000±1000	470	< 30000
As	25,0±2,4	7,7	2–1200
Cd	0,16±0,03	0,78	0,1–170
Hg	< 0,03	0,057	0,01–1,2
Pb	13,9±1,1	12	7–225
V	128±12,5	91	2–1600
Sr	341±42	270	25–500
Ni	97,4±7,8	38	7–38
Th	11,3±2,2	9,9	Данные отсутствуют No data
U	6,7±1,5	3,2	30–300

Встречаются зёрна желтовато-серого или желтовато-зелёного цветов. Некоторые зёрна глауконита образуют сростки с другими минералами, что затрудняет их выделение из смеси.

Кроме глауконита в составе отобранных образцов выявлены кварц, франколит, гипс, барит, кальцит, магнетит, сидерит, гидрослюда, глинистые минералы, палеоостаток. Содержание глауконита в образцах варьирует от 32,5 до 55,8%.

В таблице 1 приведены данные, характеризующие химический состав глауконитов Вятско-Камского месторождения в сравнении с глауконитами других месторождений.

Согласно приведённым в таблице 1 данным, глаукониты Вятско-Камского месторождения имеют повышенное содержание фосфора и кальция, содержание остальных элементов соответствует средним значениям, характерным для глауконитов других месторождений. Повышенное содержание кальция и фосфора, по-видимому, обусловлено парагенезом глауконита и фосфата [10]. Относительно высокое содержание P₂O₅ повышает агрохимическую ценность вятско-камских глауконитов.

В таблице 2 приведены данные о содержании в глауконитах токсичных и радиоактивных элементов.

Результаты химического анализа свидетельствуют о том, что содержание таких опасных токсикантов, как Cd и Hg в вятско-камских глауконитах ниже кларковых значений и существенно ниже, чем содержание этих элементов в фосфорных удобрениях. Содержание Pb и Th примерно соответствует кларкам элементов в осадочных породах верхней части континентальной земной коры. Содержание F, As, V, Sr, U превышает кларковые значения, однако находится на более низком уровне, чем содержание этих элементов в фосфорных удобрениях. Содержание никеля превышает как кларковые значения, так и значения, присущие фосфорным удобрениям. Вместе с тем, относительно высокая доля Ni вообще характерна для минералов группы глауконитов. Согласно опубликованным данным, содержание Ni в глауконитах разных месторождений может варьировать от 18 до 105 мг/кг [13–14], т. е. по содержанию Ni вятско-камские глаукониты не являются уникальными. Биологическая роль Ni определяется не столько валовым содержанием этого элемента в почвах, сколько его подвижностью и биодоступностью. Включение Ni в состав минералов существенно ограничивает биодоступность элемента, однако под влиянием фульвокислот и других органических компонентов почвенных систем биодоступность Ni может увеличиться [15, 16]. Никель способен оказывать стимулирующее влияние на процессы фиксации азота, проявлять фунгицидный эффект, непосредственно воздействуя на патогены или стимулируя защитные механизмы растений. Вместе с тем, потребность растений в Ni чрезвычайно мала и полностью удовлетворяется тем количеством элемента, которое содержится в почвах.

Суммарное содержание редкоземельных элементов в вятско-камских глауконитах составляет 1,42 г/кг, то есть соответствует высокому уровню [17]. Из всех редкоземельных элементов более 39% (564 мг/кг) приходится

на долю Се, что значительно выше среднего содержания этого элемента в осадочных породах. Содержание благородных металлов (Au, Ag, Pt) в глауконите – ниже предела обнаружения.

В таблице 3 приведены данные об агрохимически ценных микроэлементах, входящих в состав вятско-камских глауконитов.

Экологическое позиционирование таких элементов, как Se, Zn, Cu, Co, Mo определяется их количественным содержанием и подвижностью в почвах, поскольку в высоких концентрациях эти элементы ведут себя как экотоксиканты, а в низких, как микроэлементы, необходимые для нормального развития растений и почвенных микроорганизмов. Сопоставление данных, приведённых в таблице 3, показывает, что вятско-камские глаукониты можно рассматривать в качестве источника таких микроэлементов, как Co и Se. Низкое содержание этих элементов характерно для большей части пахотных земель РФ. Недостаток соответствующих элементов в почвах приводит к дефициту Co и Se в растительной продукции. В растениях кобальт участвует в процессах фиксации молекулярного азота, замедляет старение листьев, способствует развитию клубеньковых бактерий в бобовых культурах, ускоряет прорастание пыльцы, участвует в ауксиновом обмене, т. е. стимулирует процессы роста растений, повышает засухоустойчивость культур. Кобальтсодержащие удобрения способствуют повышению урожайности и улучшают качество получаемого урожая [18, 19].

Селен является важнейшим компонентом фермента глутатионпероксидазы, который действует как антиоксидант, предотвращая окислительную дегенерацию клеток. Недостаточное содержание Se в продуктах питания приводит к развитию онкологических заболеваний, болезней сердечно-сосудистой и опорно-двигательной систем, оказывает

Таблица 3 / Table 3

Содержание микроэлементов в глауконитах Вятско-Камского месторождения
The content of trace elements in glauconites of the Vyatka-Kama deposit

Показатель / Indicator	Микроэлементы / Trace elements				
	Se	Zn	Cu	Co	Mo
Содержание в глауконитах Вятско-Камского месторождения, г/т / Content in glauconites of the Vyatka-Kama deposit, g/ton	4,3±0,4	131±3,4	7,1±0,3	95,4±1,6	1,5±0,2
Кларки химических элементов в верхней части континентальной земной коры, г/т [11] Clarks of chemical elements in the upper part of the continental crust, g/ton [11]	0,15	75	39	17	1,56

отрицательное влияние на иммунитет, репродуктивные функции, метаболизм гормонов щитовидной железы [20].

Согласно результатам агрохимического обследования, почвы Кировской области являются дефицитными как по Co, так и по Se. Содержание Se в почвах области не превышает 28–51 мкг/кг [21], при этом в глауконитах содержится почти в 100 раз больше Se, чем в почвах. Таким образом, использование глауконитов в качестве удобрений может способствовать обогащению почв селеном и кобальтом.

Содержание остальных элементов в глауконитах не представляет ценности для практического земледелия, но и не вызывает тревоги с точки зрения экологии.

Заключение

Для глауконитов Вятско-Камского фосфоритоносного бассейна характерно низкое содержание токсичных и радиоактивных элементов и относительно высокое содержание P_2O_5 , K_2O , а также агрохимических ценных микроэлементов (Se, Co). Химический состав глауконитов позволяет использовать их в качестве натуральных экологически безопасных фосфорно-калийных удобрений с микроэлементами.

Особую ценность глаукониты представляют в качестве минеральных удобрений для органического земледелия. Ассортимент таких удобрений в настоящее время весьма ограничен, что лимитирует возможность внедрения оптимальных систем поддержания плодородия почв и снижает урожайность выращиваемых культур.

Глауконит представляет интерес для земледелия не только в качестве самостоятельного минерала, но и в составе кварцево-глауконитовых песков. Содержание глауконитов в кварцево-глауконитовых песках на отдельных участках месторождения достигает 50 и более процентов. При этом основными сопутствующими минералами являются фосфориты мелких фракций (до 10% в пересчёте на P_2O_5), кальцит, гипс (на фоне относительно невысокого содержания кварца). Кварцево-глауконитовые пески могут использоваться в качестве бюджетного фосфорно-калийного удобрения регионального значения.

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. Mineralogy and geochemistry of glauconite. Novosibirsk: Nauka, 1981. 120 p. (in Russian)
2. Sanchez-Navaz A., Martin-Algarra A., Eder V., Reddy B.J., Nieto F., Zanin Y.N. Color, mineralogy and composition of Upper Jurassic West Siberian glauconite: useful indicators of paleoenvironment // Canadian Mineralogist. 2008. V. 46. No. 5. P. 1249–1268. doi: 10.3749/canmin.46.5.00
3. Tamoykin Yu.S., Suzdaleva E.S., Burtsev N.I. Report on exploration and revaluation of reserves of exploited Mining sites of the Vyatka-Kama phosphorite deposit in the Verkhnekamsk district of the Kirov region, conducted by the Kirov geological prospecting party in 1982–1988. Kirov: Kirovskiy filial FBU “TFGI po Privolzhskomu federalnomu okrugu”, 1988. 2427 p. (in Russian).
4. Syrchina N.V., Ashikhmina T.Ya., Bogatyryova N.N., Kantor G.Ya. Prospects for the use of phosphorite enrichment tailings as fertilizers for organic farming // Theoretical and Applied Ecology. 2020. No. 1. P. 160–166 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2020-1-160-166
5. Tsygankova L.E., Protasov A.S., Vigdorovich V.I., Akulov A.I. Glauconite of Bondarsky deposit of Tambov region as promising multifunctional sorbent // Bulletin of Russian Universities. Maths. 2012. No. 2. P. 735–741 (in Russian).
6. Nikolaev I.V. Minerals of the glauconite group and the evolution of their chemical composition // Problems of General and Regional Geology. Novosibirsk, 1971. P. 320–336 (in Russian).
7. Drits V.A. Problems of determining the real structure of glauconites and related fine-disperse silicates. Moskva: Khimiya, 1993. 200 p. (in Russian).
8. Levchenko M. L., Grigoryeva A. V., Gornostaeva T. A. Using the methods of applied mineralogy in studying the technological properties of glauconite-containing sands // Mining Information and Analytical Bulletin (GIAB). 2009. No. 12. P. 301–308 (in Russian).
9. Rudmin M.A., Mazurov A.K., Reva I.V. Mineral microinclusions in glauconites of the Bakcharsky deposit (Tomsk region) // Bulletin of the Tomsk Polytechnic University. Geo-Resource Engineering. 2016. V. 327. No. 5. P. 54–64 (in Russian).
10. Yudovich Ya.E., Ketris M.P., Rybina N.V. Phosphorites and glauconite: the cause of paragenesis // Bulletin of the Institute of Geology, Komi Scientific Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 2018. No. 11 (287). P. 43–47 (in Russian).
11. Grigoriev N.A. Distribution of chemical elements in the upper continental crust. Ekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2009. 382 p. (in Russian).

12. Yanin E.P. Sources and ways of heavy metals entering rivers of agricultural regions // *Ecological Expertise*. 2004. No. 4. P. 67–90 (in Russian).
13. Zhabin A.V., Shatrov V.A. Micro- and macroelements in the Eocene glauconites of the south-west of the Voronezh antecline as indicators of their formation conditions // *Bulletin of the University of Voronezh. Geology*. 2005. No. 1. P. 18–32 (in Russian).
14. Naumova G.N., Gusakova N.N., Chernova R.K., Selifonova E.I., Venig S.B., Serzhantov V.G. Effect of glauconite on germination and seed development of some crops // *Bulletin of Saratov University. New series. Chemistry. Biology. Ecology*. 2016. No. 4. P. 388–392 (in Russian).
15. Barman M., Datta S.P., Rattan R.K., Meena M.C. Chemical fractions and bioavailability of nickel in alluvial soils // *Plant Soil Environ*. 2015. V. 61. No. 1. P. 17–22. doi: 10.1007/s42729-019-00141-9
16. Moreno J.L., Pérez A., Aliaga A., Hernández T. The ecological dose of nickel in a semiarid soil amended with sewage sludge related to the unamended // *Water, Air, and Soil Pollution*. 2003. V. 143. P. 289–300. doi: 10.1023/A:1022853812926
17. Jarrar H., Amireh B., Zachmann D. The major, trace and rare earth element geochemistry of glauconites from the early Cretaceous Kurnub Group of Jordan // *Geochemical Journal*. 2000. V. 34. P. 207–222. doi: 10.2343/geochemj.34.207
18. Palit S., Sharma A., Talukder G. Effects of cobalt on plants // *The Botanical Review*. 1994. V. 60. P. 149–181. doi: 10.1007/BF02856575
19. Linhares D., Pimente A., Borgesa C., Cruza J.V., Garcia P., Rodrigues A.S. Cobalt distribution in the soils of São Miguel Island (Azores): From volcanoes to health effects // *Science of the Total Environment*. 2019. V. 684. P. 715–721. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.05.359
20. Fordyce F.M. Selenium deficiency and toxicity in the environment // *Essentials of Medical Geology*. 2013. P. 375–416. doi: 10.1007/978-94-007-4375-5_16
21. Aristarkhov A.N., Busygin A.S., Yakovleva T.A. Selenium deficiency in soils and plants of the North-Eastern Non-Black Earth Region as an indicator of the need to use selenium fertilizers // *International Agricultural Journal*. 2018. No. 1. P. 31–36 (in Russian). doi: 10.24411/2587-6740-2018-11008

Оценка состояния загрязнённых нефтью экосистем Европейской Субарктики: мультидисциплинарный подход

© 2020. Е. Н. Мелехина¹, доцент, к. б. н., с. н. с.,
В. А. Канев¹, к. б. н., н. с., М. Ю. Маркарова^{1,2}, к. б. н., в. н. с.,
С. М. Надежкин², профессор РАН, д. б. н., зам. директора,
А. Б. Новаковский¹, к. б. н., н. с., А. А. Таскаева¹, к. б. н., с. н. с.,
Д. В. Тарабукин¹, к. б. н., н. с.,
И. О. Велегжанинов¹, к. б. н., с. н. с., Е. Е. Расова¹, ст. лаборант,

¹Институт биологии ФИЦ «Коми научный центр»

Уральского отделения РАН,
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,

²Федеральный научный центр овощеводства,
143072, Россия, Московская обл., Одинцовский р-н,
пос. ВНИИССОК, ул. Селекционная, д. 14,
e-mail: melekhina@ib.komisc.ru

В статье даётся оценка закономерностей восстановления загрязнённых нефтью экосистем на основе использования различных методов почвоведения, почвенной энзимологии, микробиологии, метагеномного анализа, почвенной зоологии и геоботаники.

Проведён анализ динамики растительности на участках опытной рекультивации за 17-летний период восстановления. Предложен оригинальный подход в биодиагностике экосистем с нефтяным загрязнением – применение концепции жизненных стратегий растений Раменского-Грайма. Показано, что использование данного метода позволяет дать интегральную оценку состояния растительности при восстановительных сукцессиях после разливов нефти и делать выводы об эффективности методов ремедиации.

Впервые предпринята попытка использования данных метагеномного анализа в диагностике состояния почв с нефтяным загрязнением в условиях Субарктики. Выявлена индикаторная значимость филума ацидобактерии (царство Бактерии) и отдела аскомицеты (царство Грибы). В качестве индикаторных таксонов представлены трофические группы почвенных микроорганизмов и почвенные беспозвоночные. При модельной рекультивации *ex situ* болотной торфяной почвы показана информативность целлюлазной и уреазной активности в условиях нефтяного загрязнения.

Ключевые слова: нефтяное загрязнение, рекультивация, индикаторные таксоны, индикаторные параметры, фитоценоз, микробоценоз, зооценоз, метагеномный анализ.

Assessment of the state of oil-polluted ecosystems of European Subarctic: a multidisciplinary approach

© 2020. E. N. Melekhina¹ ORCID: 0000-0002-3738-6520, V. A. Kanev¹ ORCID: 0000-0002-6284-0385,
M. Yu. Markarova^{1,2} ORCID: 0000-0002-7951-2222, S. M. Nadezhkin² ORCID: 0000-0001-5786-3454,
A. B. Nowakowski¹ ORCID: 0000-0003-4105-7436, A. A. Taskaeva¹ ORCID: 0000-0002-4519-8458,
D. V. Tarabukin¹ ORCID: 0000-0001-8572-4902, I. O. Velegzhaninov¹ ORCID: 0000-0002-4715-4053,
E. E. Rasova¹ ORCID: 0000-0002-2092-5954

¹Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch
of the Russian Academy of Sciences,

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

²Federal Scientific Centre for Vegetable Production,
14, Selektionnaya St., Poselok VNISSOK, Odintsovo,

Moscow region, Russia, 143072,
e-mail: melekhina@ib.komisc.ru

The article presents an assessment of the patterns of recovery of oil-polluted ecosystems based on the use of soil science methods, soil enzymology, microbiology, metagenomic analysis, soil zoology and geobotany. The dynamics of vegetation in the experimental remediation plots for the 17-year recovery period is analyzed. An original approach to the bio-diagnostics of ecosystems with oil pollution is proposed – the application of the concept of plant life strategies by Ramensky-Grime. It is shown that the use of this method, along with the traditional geobotanical methods, allows us to give an integrated assessment of the state of vegetation during recovery successions after oil pollution.

For the first time, an attempt was made to use the data of metagenomic analysis in the diagnostics of the state of oil-polluted soils in the European Subarctic. The indicative significance of acidobacteria and ascomycetes was revealed. Trophic groups of soil microorganisms (ammonifiers, nitrifiers, oligonitrophils, oil-oxidizing microorganisms) and soil invertebrates are represented as indicator taxa. Taxonomic groups of microarthropods acting as biomarkers of succession stages were presented: larvae of Diptera and mesostigmatic mites at the first stage, collembola at the second stage, and oribatid mites at the third stage. In the *ex situ* remediation model of peat soil, it was shown the informational content of cellulase and urease activity in terms of oil contamination. The complex of parameters observed characterize the state of biota in areas with oil pollution and can be recommended for determining the effectiveness of remediation methods.

Keywords: oil pollution, remediation, indicator taxa, indication parameters, phytocoenosis, microbiocoenosis, zoocoenosis, metagenomic analysis.

Добыча нефти и связанные с ней виды деятельности приводят к долговременному загрязнению природных ландшафтов [1]. Попадая в почву, загрязнители изменяют её физические и химические свойства, снижают плодородие и значительно подавляют активность биоты [2–4]. Так, осенью 1994 г. крупнейшая авария за всю историю эксплуатации нефтепроводов произошла на территории Усинского района Республики Коми. Всего, по разным оценкам, в окружающую среду попало от 14 до 150 тыс. т нефти [5]. Для восстановления нарушенных экосистем применяют различные способы ремедиации [3, 6]. Важная практическая задача – выбор методов рекультивации, оптимальных для конкретных условий северных биоценозов. Необходим поиск показателей – индикаторов эффективности методов ремедиации [7]. Цель исследований – изучение закономерностей восстановления загрязнённых нефтью экосистем и выбор комплекса параметров для оценки эффективности способов биоутилизации нефти и нефтепродуктов при аварийных разливах в условиях Европейской Субарктики.

Объекты и методы исследования

Характеристика района исследований. Опытные участки. Комплексные исследования экосистем с нефтяным загрязнением проводились в регионе промышленной добычи нефти (вблизи г. Усинска Республики Коми), на участках аварийных разливов и опытной рекультивации. Район исследований расположен в субарктической части Европейской России, в подзонах лесотундры и крайне-северной тайги [3]. Тип климата умеренно-континентальный. Среднегодовая температура составляет -4°C ; средняя температура января – от -18 до -20°C , июля – $+14^{\circ}\text{C}$ [8].

Участок 1. Известен как участок рекультивации № 20 ($66^{\circ}37'40''$ с. ш., $57^{\circ}07'56''$ в. д., Возейское нефтяное месторождение), где в 1996 г. произошёл аварийный разлив нефти. Почвы участка – торфяно-болотные верховые (Fibric Histosols (Dystric)) [9]. К началу рекультивации, проведённой в 2002 г., содержание нефти в почве составляло от 87 до 465 мг/г [3]. Предварительно была проведена техническая рекультивация: частичное осушение, сбор нефти, фрезерование почвы. Восстановление проводилось методами агрохимической рекультивации (внесение удобрений и посев трав), а также с применением различных биопрепаратов нефтеокисляющего действия [3]. В качестве контрольной выступала площадка технической рекультивации.

Участок 2 расположен вблизи полигона-шламонакопителя (ДНС 2А), на котором около 5 лет назад произошло нарушение грунтовой обваловки и истечение из шламонакопителя нефтесодержащей жидкости. Был загрязнён елово-берёзовый лес, расположенный вблизи полигона. Одна часть загрязнённой территории была оставлена на самовосстановление, на другой части была проведена рекультивация: уборка верхнего слоя нефти, распашка и внесение минерального удобрения, без высева трав-рекультивантов. В сентябре 2018 г. проведено обследование участков рекультивации, самовосстановления, фонового (без загрязнения), а также были взяты пробы нефтешлама непосредственно из карт полигона.

Для выявления закономерностей динамики загрязнённых нефтью экосистем применяли мультидисциплинарный подход. Особенности динамики биотических компонентов экосистем: фитоценоза, микроценоза, зооценоза изучали по оригинальной методике с точки зрения сукцессии.

Для описания фитоценозов применяли стандартные геоботанические методы. Впервые для

анализа многолетней динамики растительности на участках с нефтяным загрязнением была применена концепция жизненных стратегий растений Раменского-Грайма [10, 11].

Исследования микробиомов почв, загрязнённых нефтью или нефтепродуктами, могут иметь значение для определения эффективности различных способов ремедиации для разных типов почв и климатических условий [12, 13]. Для изучения микробиоты применяли метод метагеномного анализа. Амплификацию и секвенирование маркерных фрагментов ДНК, кодирующих 16S рРНК и ITS, осуществляли усилиями ЦКП «Геномика» СО РАН с помощью секвенатора MiSeq (Illumina, США). Выполнен метагеномный анализ 46 образцов почвы, собранных на опытном участке № 2 в двух вариантах: «самовосстановление» и «ремедиация», а также в фоновом сообществе. Было аннотировано 730469 прочтений фрагмента гена 16S рибосомальной РНК (бактерии) и 1315679 прочтений фрагмента гена ITS (грибы).

Контроль биохимической активности позволяет оценить изменения, которые происходят в почве под воздействием поллютантов [14], а также при различных методах рекультивации [15].

В условиях, приближенных к естественным, была проведена модельная рекультивация почвы, отобранной из низинного болота в окрестностях г. Сыктывкара. Болотная почва относилась к торфяной эутрофной, в том числе перегнойно-торфяной (Hemic Histosols (Eutric), Sapric Histosols (Eutric)) [9]. В эксперименте при различных вариантах рекультивации *ex situ* оценивали влияние неионогенного ПАВ (Лаурилглюкозид) и минерального удобрения Диаммофоска (NH_4^+ – 10%; всего фосфатов – 25%; калий в пересчёте на K_2O – 25%) на динамику разложения нефтепродуктов при концентрации загрязнения 5 г нефти на 100 г почвы. Доза ПАВ в вариантах составляла 10 мг, минерального удобрения – 0,5 г. Все варианты были в трёх повторностях. Параллельно оценивали биохимические показатели в качестве индикации жизнедеятельности микроорганизмов в условиях нефтяного загрязнения и биостимуляторов. Для этого измеряли уреазную и целлюлазную активности через 30, 60 и 90 сут во всех вариантах рекультивации *ex situ* [16]. Одна единица уреазной активности равнялась такому количеству ферментов в 1 г воздушно-сухой почвы, которое образует 1 мкг ионов аммония в час при действии на 3% раствор мочевины. Единица целлюлазной активности была равна количеству ферментов, которое образует 1 мкг восстанавливающих сахаров в час при

действии 1 г почвенного образца на 1% раствор карбоксиметилцеллюлозы.

Численность различных трофических групп микроорганизмов учитывали путём высева десятичных разведений почвенной суспензии на селективные питательные среды: МПА (аммонификаторы), Эшби (олигонитрофилы), Стейниера (нефтеокисляющие), Виноградского (нитрификаторы) [17]. Почвенные ферменты определяли по Хазиеву [16]. Отбор проб на почвенную микробиоту проводили в пятикратной повторности, определение численности трофических групп – в трёхкратной повторности.

Результаты и обсуждение

Фитоценоз. Динамика растительности.

При мониторинге опытного участка № 1 определены закономерные смены растительных сообществ за 17-летний период восстановления (2002–2019 гг.). На всех опытных площадках (кроме контрольной) при рекультивации были посеяны злаковые растения: тимофеевка луговая (*Phleum pratense*), райграс посевной (*Arrhenatherum elatius*), двукосточник тростниковидный (*Phalaroides arundinacea*), щучка дернистая (*Deschampsia cespitosa*), полевица тонкая (*Agrostis tenuis*), мятлик луговой (*Poa pratensis*), вейник пурпурный (*Calamagrostis purpurea*), овёс посевной (*Avena sativa*) и клевер гибридный (*Trifolium hybridum*).

На 4-й год опыта (2006 г.) фитоценозы были представлены злаково-разнотравными сообществами, с преобладанием сеяных злаков. Одновременно с посевом трав заселились различные «пионерные» растения, в основном однолетние травы – трёхрёберник непашучий (*Tripleurospermum perforatum*), бородавник обыкновенный (*Lapsana communis*), пупавка красильная (*Anthemis tinctoria*), лапчатка норвежская (*Potentilla norvegica*), звездчатка злачная (*Stellaria graminea*) и некоторые многолетние – щавель кисловатый (*Rumex acetosella*), иванчай узколистный (*Chamaenerion angustifolium*) и другие. На отдельных участках обнаружены мхи. Отмечены всходы ивы филиколистной (*Salix phylicifolia*) и берёзы пушистой (*Betula pubescens*).

Через 12 лет после рекультивации (2014 г.) происходило замещение сеяных трав многолетними луговыми и болотными видами, которые заселялись из ближайших фоновых луговых, болотных и лесных участков. Это осоки пепельносерая (*Carex cinerea*), бутылчатая (*C. rostrata*), топяная (*C. limosa*), пушица влагалищная (*Eriophorum vaginatum*), пушица рыжевато-

(*E. russeolum*), вейник лапландский (*Calamagrostis lapponica*), мятлик луговой (*Poa pratensis*), кульбаба осенняя (*Leontodon autumnalis*) и другие. Увеличилось число и проективное покрытие древесных растений – представителей рода ива: ивы филиколистной (*Salix phylicifolia*), ивы козьей (*S. caprea*), ивы лапландской (*S. lapponum*), ивы шерстистопобеговой (*S. dasyclados*), ивы сизой (*S. glauca*), а также берёзы пушистой (*Betula pubescens*). Появились ранее не отмеченные виды – лиственница сибирская (*Larix sibirica*), сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris*), ель сибирская (*Picea obovata*). На контрольном участке отмечено наличие кустарничков – черники (*Vaccinium myrtillus*), голубики (*Vaccinium uliginosum*), водяники гермафродитной (*Empetrum hermaphroditum*), что говорит о восстановлении сообщества, близкого к фоновому, однако общее проективное покрытие (ОПП) было существенно ниже, чем на других площадках рекультивации.

Через 17 лет после рекультивации (2019 г.) из сеяных трав в числе доминантов оставались двукосточник тростниковидный (*Phalaroides arundinacea*) и щучка дернистая (*Deschampsia cespitosa*). Присутствовали влаголюбивые представители семейства осоковых – пушица многоколосковая (*Eriophorum polystachion*), пушица влагалищная (*Eriophorum vaginatum*), осока бутылчатая (*Carex rostrata*). Увеличилось участие мхов (ПП до 20–30%). Кустарнички: черника (*Vaccinium myrtillus*), голубика (*Vaccinium uliginosum*), водяника гермафродитная (*Empetrum hermaphroditum*), багульник болотный (*Ledum palustre*), карликовая берёза (*Betula nana*), которые характерны для фоновых территорий (болота, торфяники, заболоченные леса), были найдены только на контрольной площадке. В целом, по данным геоботанических описаний можно заключить, что в ранние годы эксперимента на опытных площадках было много пионерных видов растений, которые через 17 лет выпали из сообществ. Увеличилось число древесных растений, а также ПП мхов.

Согласно концепции жизненных стратегий растений Раменского-Грайма, можно выделить группы растений, которые по-разному приспособлены к существованию в стрессовой ситуации [10, 11]: **R виды (рудералы)** преобладают в сообществах с повышенным уровнем нарушений, **C виды (конкуренты)** произрастают при низких уровнях стресса и нарушения, т. е. в сообществах, где максимальную роль играет конкуренция между видами, и **S виды (стресс-толеранты)** характерны для экотопов с неблагоприятными экологическими условиями. Показано, что с течением времени вследствие

выпадения из травостоя пионерных видов, являющихся типичными рудералами, снижается R компонента сообществ. Наблюдается внедрение преимущественно злаков C конкурентных и осок, имеющих CS жизненную стратегию. Отмечено внедрение типичных тундрово-болотных видов, таких как водяника гермафродитная (*Empetrum hermaphroditum*), пушица многоколосковая (*Eriophorum angustifolium*), пушица влагалищная (*E. vaginatum*), черника (*Vaccinium myrtillus*), плаун булавовидный (*Lycopodium clavatum*), имеющих стресс-толерантную стратегию. Таким образом, для всех экспериментальных участков наблюдался сдвиг в сторону увеличения балла конкурентности (C) и снижения балла рудеральности (R) (рис. 1, см. цветную вкладку). Статистически значимое увеличение доли конкурентных и снижение доли рудеральных видов может говорить о переходе сообществ от пионерного к стабильному состоянию.

Микробоценоз. Биологическая активность почвы. В условиях нефтяного загрязнения изменяется численность отдельных трофических групп почвенных микроорганизмов и активность разных групп ферментов [18, 19].

На опытном участке № 2 в период наблюдений более высокая микробиологическая активность была зарегистрирована в варианте «самовосстановление» (табл. 1). Вероятно, что после рекультивации происходило повышение микробиологической активности, которая по мере снижения концентрации нефти в почве уменьшалась и к периоду наблюдений приблизилась к фоновым значениям. На участке «самовосстановление» очищение почвы от нефти происходило гораздо медленнее, и наиболее активной стадии достигло в период наблюдений, о чём говорят высокие показатели активности каталитических ферментов, а также высокая нефтеокисляющая активность (по дегидрогеназному показателю). Нефтешлам, складированный на площадке полигона, обладал слабой микробной активностью. Можно заключить, что очищение почвы от нефти в вариантах рекультивации и самовосстановления происходило с разной интенсивностью.

Модельная рекультивация ex situ. Ферментативная активность. При модельной рекультивации ex situ уреазная активность болотной почвы оказалась чувствительна как к нефтяному загрязнению, так и режимам биостимуляции (табл. 2). Внесение в почву минеральных удобрений привело к увеличению уреазной активности уже в первые 30 сут. Внесение непионерного ПАВ приводило к снижению уреазной активности по сравнению с контролем.

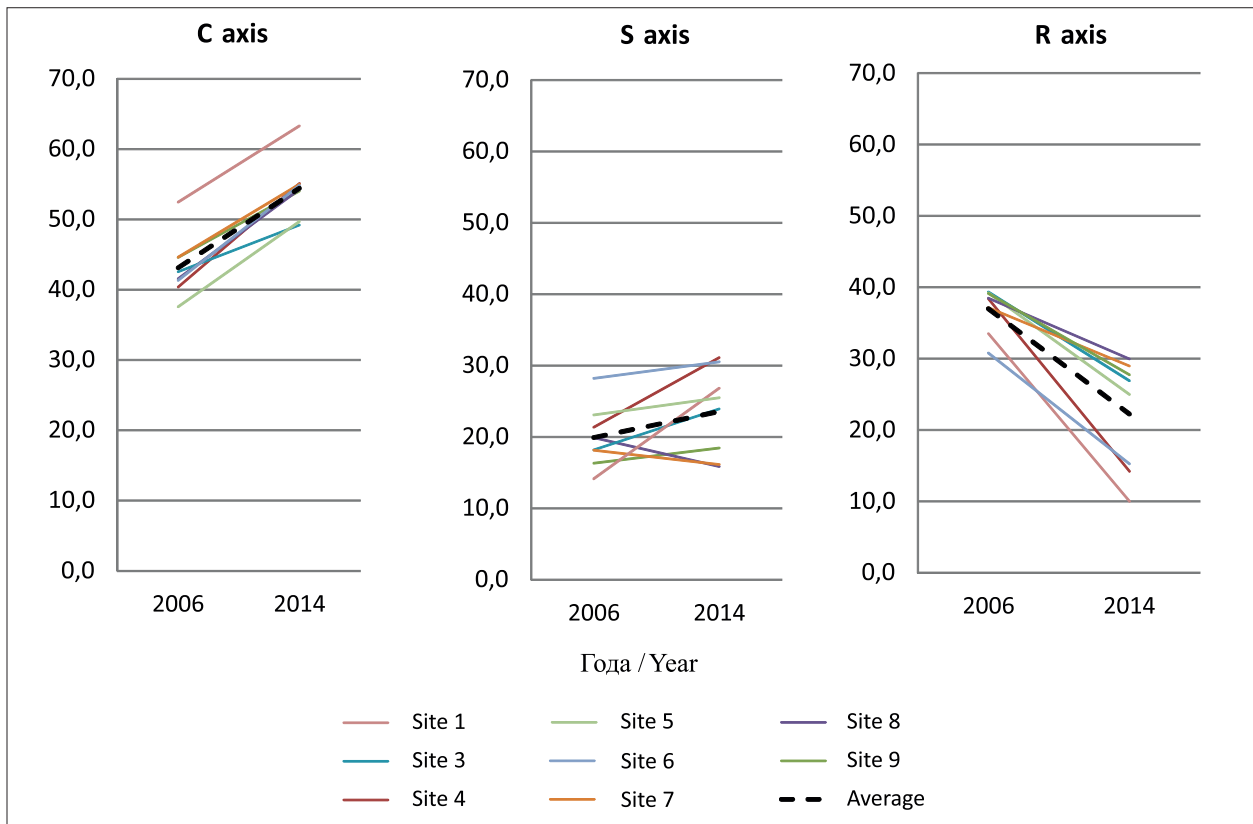


Рис. 1. Изменение средневзвешенных баллов по C, S и R осям для разных экспериментальных участков (sites). Пунктирной линией отмечены усреднённые значения
Fig. 1. Changes of the C, S and R scores for experimental sites. The dashed line indicates averaged values

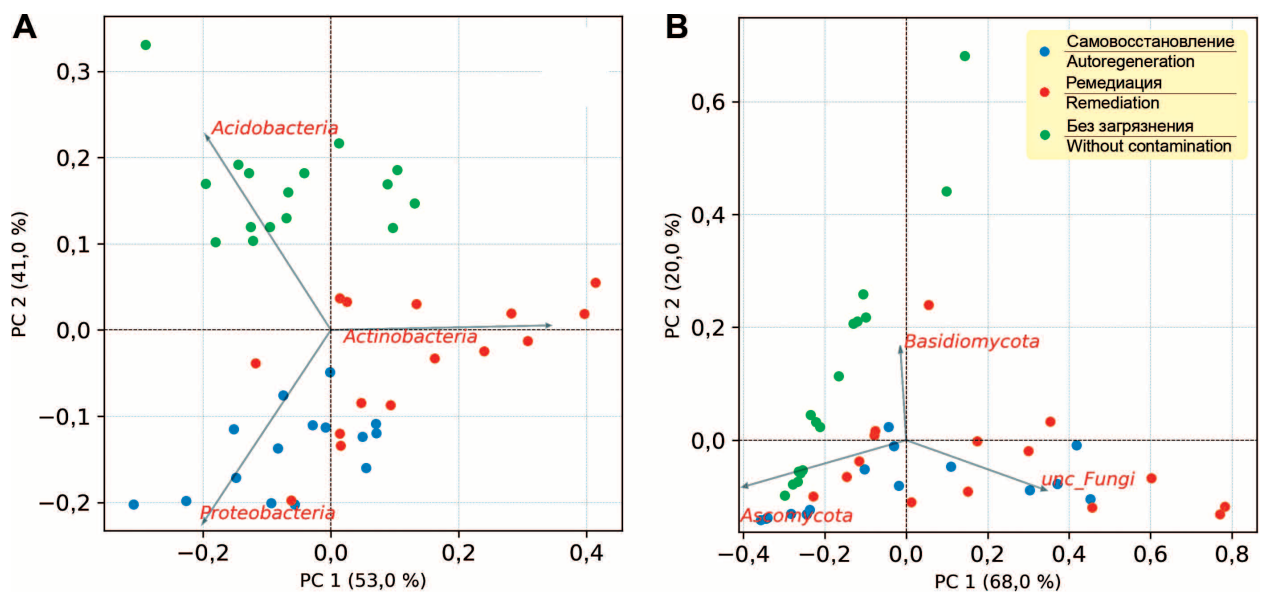


Рис. 2. Анализ результатов секвенирования почвенных метабеномов с помощью метода главных компонент. А – 16S-ампликоны (прокариоты), В – ITS-ампликоны (грибы). PC – главная компонента
Fig. 2. The metagenome sequencing data presented using the PCA. A – 16S-amplicons (prokaryotes), B – ITS-amplicons (fungi). PC – principal component

Таблица 1 / Table 1

Численность трофических групп микроорганизмов и ферментативная активность почвы на опытном участке № 2 в 2018 г.
The number of trophic groups of microorganisms and the enzymatic activity of the soil in the experimental plot No. 2 in 2018

Субучасток Sub-plot	Описание пробы Sample description	Микроорганизмы (млн/г в.с.п.) Microorganisms, (mln./g a.d.s)				Ферментативная активность (ед./г а.с.п.) Enzymatic activity (units/g a.d.s.)			
		I*	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Нефтезагрязнение Oil pollution	Нефтешлам Oil sludge	26,0± 7,0	16,5± 4,0	1,25± 0,29	0,12± 0,3	2,26± 0,5	9,54± 1,13	5,23± 1,3	2,5± 0,75
Фоновый Background plot	Торф, 0–7 см Peat, 0–7 cm	120± 30,0	310± 75,0	50,5± 12,0	0,8± 0,2	2,50± 0,6	6,5± 1,6	1,50± 0,4	6,00± 1,25
Самовосстановление Self healing	Торф, 0–7 см Peat, 0–7 cm	580± 150	900± 230	12,0± 3,0	450± 110	5,30± 1,3	15,9± 4,0	9,85± 2,5	16,3± 4,1
Рекультивация Recultivation	Торф, 0–10 см Peat, 0–10 cm	210± 50,0	400± 100	120± 30,0	160± 40	3,60± 0,9	9,78± 2,45	5,30± 1,3	19,4± 5,0

Примечание: * I – аммонификаторы; II – нитрификаторы; III – олигонитрофилы; IV – нефтеокисляющие; V – каталазная, мл KMnO₄; VI – дегидрогеназная, мг формазана; VII – липазная, мл KOH; VIII – целлюлазная активность.
Notes: * I – Ammonifiers; II – Nitrifiers; III – Oligonitrophils; IV – Oil oxidizing; V – Catalase; cm³ KMnO₄; VI – Dehydrogenase, mg formazan; VII – Lipase, cm³ KOH; VIII – Cellulase.

Таблица 2 / Table 2

Ферментативная активность в болотной почве при различных режимах стимуляции биоразложения НП
Enzymatic activity in swamp soil under various modes of TPH biodegradation stimulation

Режим стимуляции Stimulation mode	Время, сут / Time, days		
	30	60	90
Уреазная активность, ед./г почвы / Urease activity, units/g of soil			
Без нефти (контроль) / Oil free (control)	1100±120	1230±100	1050±130
Без добавок / Without additives	990±110	2000±160	1500±130
Лаурилглюкозид / Lauryl glucoside	568±70	914±80	570±80
Диаммофоска* / Diammofoska*	2150±150	2100±140	2100±150
Диаммофоска + Лаурилглюкозид / Diammofoska + Lauryl glucoside	706±70	1050±80	1130±120
Целлюлазная активность, ед./г почвы / Cellulase activity, units/g of soil			
Без нефти (контроль) / Oil free (control)	46±5	42±5	48±5
Без добавок / Without additives	54±5	41±4	61±5
Лаурилглюкозид / Lauryl glucoside	41±4	33±4	53±5
Диаммофоска / Diammofoska	65±5	71±6	83±6
Диаммофоска + Лаурилглюкозид / Diammofoska + Lauryl glucoside	55±5	40±5	51±5

Примечание: * – Диаммофоска (NH₄⁺ – 10%; всего фосфатов – 25%; калий в пересчёте на K₂O – 25%), 0,5 г.
Notes: * – Diammofoska (NH₄⁺ – 10%; total phosphate – 25%; K, based on the K₂O – 25%), 0,5 g.

Добавка минеральных удобрений стимулировала целлюлазную активность (табл. 2), в то время как внесение ПАВ незначительно подавляло её на ранних этапах. Одновременная добавка ПАВ и удобрений сохраняла показатель целлюлазной активности на уровне контроля. Сделан вывод, что биохимические показатели (целлюлазная и уреазная активность) могут отражать состояние почвы под воздействием как поллютанта, так и добавок, стимулирующих очищение почвы от нефти.

Почвенные беспозвоночные. Почвенные беспозвоночные реагируют на антропогенные изменения природных экосистем перестройкой состава и структуры группировок, изменением численности [20–23], что определяет их значение как биоиндикаторов [24, 25].

При проведении многолетних исследований были выявлены закономерности динамики почвенной микрофауны в экосистемах с нефтяным загрязнением [26, 27]. Для ключевых таксонов микроартропод определены разные

тренды изменения численности: её снижение – для личинок двукрылых и мезостигматических клещей и, напротив, повышение – для коллембол и панцирных клещей. Установлена стадийность восстановления почвенного зооценоза. Выделены таксономические группы почвенной микрофауны – биомаркёры этапов сукцессии: первого этапа – личинки двукрылых и мезостигматические клещи, второго этапа – коллемболы и третьего – панцирные клещи [27]. Установлена связь динамики численности, состава и структуры группировок почвенных беспозвоночных с сукцессией растительного сообщества в условиях нефтяного загрязнения [28]. Наиболее успешным восстановление почвенного зооценоза было при использовании биопрепаратов [19, 27].

Метагеномный анализ почвы. Выявлено различие метагенома почвы на участках рекультивации, самовосстановления и фоновом. Анализ результатов с помощью метода главных компонент (рис. 2, см. цветную вкладку), на основе представленности в пробах прочтений, аннотированных к различным филумам (типам), свидетельствует о выраженном отличии фонового участка от загрязнённых. На территории, не подверженной нефтяному загрязнению, *Acidobacteria* являются доминантной группой микроорганизмов. На загрязнённых нефтью участках без ремедиации наиболее представленными в сообществе оказались *Proteobacteria*. В результате ремедиации баланс доминирования в микробиоме сместился в сторону группы *Actinobacteria*. Известно, что представители филумов *Proteobacteria* и *Actinobacteria* являются активными нефтеструкторами [29, 30]. Выявлены различия в структуре грибных сообществ интактных и загрязнённых территорий. Результаты секвенирования показали, что в большинстве образцов фонового участка присутствуют представители отделов *Ascomycota* и *Basidiomycota*. По количеству обнаруженных таксонов (OTU) и среди прокариот (16S), и среди грибов (ITS) участок без рекультивации статистически достоверно уступал фоновому сообществу. При этом на участке рекультивации уровень видовой разнообразия бактерий был снижен в меньшей степени, а разнообразие грибов не отличалось от фонового. Можно заключить, что нефтяное загрязнение приводит к изменению состава почвенной микробиоты, снижая её разнообразие и изменяя доминирующие группы. Информативными могут быть данные о разнообразии филума ацидобактерий (царство Бактерии) и отдела аскомицетов (царство Грибы).

Заключение

Впервые проведён анализ динамики растительности на участках опытной рекультивации за 17-летний период восстановления. Показано, что оригинальный подход, сочетающий традиционные геоботанические методы исследований и применение концепции жизненных стратегий растений Раменского-Грайма, позволяет дать интегральную оценку состояния растительности на участках рекультивации и получить данные о долговременном эффекте рекультивационных мероприятий.

Впервые предпринята попытка использования данных метагеномного анализа в диагностике состояния почв с нефтяным загрязнением в условиях Субарктики. Выявлена индикаторная значимость ацидобактерий и аскомицетов. В качестве индикаторных таксонов представлены трофические группы почвенных микроорганизмов и почвенные беспозвоночные.

При модельной рекультивации *ex situ* болотной торфяной почвы с нефтяным загрязнением показана информативность таких биохимических показателей, как целлюлазная и уреазная активность. Рассмотренные параметры характеризуют состояние биоты на территориях с нефтяным загрязнением и могут быть рекомендованы в качестве диагностических.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 18-29-05028 мк, и темы государственного задания Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН № АААА-А17-117112850235-2.

References

1. García-Segura D., Castillo-Murrieta I.M., Martínez-Rabelo F., Gomez-Anaya A., Rodríguez Campos J., Hernández-Castellanos B., Contreras-Ramos S.M., Barois I. Macrofauna and mesofauna from soil contaminated by oil extraction // *Geoderma*. 2018. V. 332. P. 180–189. doi: 10.1016/j.geoderma.2017.06.013
2. Solntseva N.P. Oil production and geochemistry of natural landscapes. Moskva: Izd-vo MGU, 1998. 376 p. (in Russian).
3. Nature-conservation measures on the refinery companies. Part 1: Rehabilitation of petroleum polluted soils in Usinsk district, Komi Republic. Syktyvkar: Komi nauchnyy tsentr UrO RAN, 2006. 208 p. (in Russian).
4. Cebron A., Cortet J., Criquet S., Biaz A., Calvert V., Caupert C., Pernin C., Leyval C. Biological functioning of PAH-polluted and thermal desorption-treated soils assessed by fauna and microbial bioindicators // *Research in microbiology*. 2011. V. 162. No. 9. P. 896–907. doi: 10.1016/j.resmic.2011.02.011

5. Barenboim G.M., Ertsev G.N., Taskaev A.I., Ulyashev A.I., Shubin Yu.P. Environmental monitoring in the accident zone // Experience in responding to oil spills in the Usinsky District of the Komi Republic (Project Implementation Materials) / Ed. V.S. Bibikova. Syktyvkar: Komimeliiovodkhozproekt, 2000. P. 83–146 (in Russian).
6. Domracheva L.I. The use of organisms and biosystems in the remediation of territories // Theoretical and Applied Ecology. 2009. No. 4. P. 4–16 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2009-4-004-016
7. Sharapova I.E., Lapteva E.M., Maslova S.P., Tabalenkova G.I., Garabagiu A.V. Use of the integral coefficient of soil biological activity and phytotoxicity index for assessing phytoremediation of oil-contaminated soils // Theoretical and Applied Ecology. 2015. No. 2. P. 67–73 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2015-2-042-067-073
8. Atlas of the Komi Republic on climate and hydrology / Ed. A.I. Taskaev. Moskva: Drofa; DiK, 1997. 116 p. (in Russian).
9. World Abstract Database of Soil Resources 2014. International system of soil classification for soil diagnostics and creation of soil map legends. The corrected and supplemented version of 2015. Rome: Izd-vo FAO i MGU im. M.V. Lomonosova, 2018. 216 p. (in Russian).
10. Ramensky L.G. On the fundamental guidelines, basic concepts and terms of productive land typology, geobotany, and ecology // Sovetskaya botanika. 1935. No. 4. P. 25–42 (in Russian).
11. Grime J.P., Hodgson J.G., Hunt R. Comparative plant ecology: a functional approach to common British species. Unwin Hyman, London, 1988. 679 p.
12. Kotoky R., Rajkumari J., Pandey P. The rhizosphere microbiome: Significance in rhizoremediation of polyaromatic hydrocarbon contaminated soil // J. Environ. Manage. 2018. V. 217. P. 858–870. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.04.022
13. Koshlaf E., Shahsavari E., Aburto-Medina A., Taha M., Haleyr N., Makadia T.H., Morrison P.D., Ball A.S. Bioremediation potential of diesel-contaminated Libyan soil // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2016. V. 133. P. 297–305. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.07.027
14. Soil Enzymology / Eds. G. Shukla, A. Varma. Springer Heidelberg Dordrecht London New York, 2011. Part of the Soil Biology book series. V. 22. 384 p. doi: 10.1007/978-3-642-14225-3.
15. Polyak Y.M., Bakina L.G., Chugunova M.V., Mayachkina N.V., Gerasimov A.O., Bure V.M. Effect of remediation strategies on biological activity of oil-contaminated soil – A field study // International Biodeterioration and Biodegradation. 2018. V. 126. P. 57–68. doi: 10.1016/j.ibiod.2017.10.004
16. Khaziev F.H. Methods of soil enzymology. Moskva: Nauka, 2005. 252 p. (in Russian).
17. Zvyagintsev D.G. Methods of soil microbiology and biochemistry. Moskva: MGU, 1991. 304 p. (in Russian).
18. Oborin A.A., Khmurchik V.T., Nazarov A.A., Markarova M.Yu., Ilarionov S.A. Oil-contaminated biogeocenoses. Perm, 2009. 511 p. (in Russian).
19. Melekhina E.N., Markarova M.Yu., Shchemelina T.N., Anchugova E.M., Kanev V.A. Secondary successions of biota in oil-polluted peat soil upon different biological remediation methods // Eurasian Soil Science. 2015. V. 48. P. 643–653. doi: 10.1134/S1064229315060071
20. Zaitsev A.S., Wolters V., Waldhardt R., Daube J. Long-term succession of oribatid mites after conversion of croplands to grasslands // Applied Soil Ecology. 2006. V. 34. No. 2–3. P. 230–239. doi: 10.1016/j.apsoil.2006.01.005
21. Holtkamp R., Kardol P., van der Wal A., Dekker S.C., van der Putten W.H., de Ruiter P.C. Soil food web structure during ecosystem development after land abandonment // Applied Soil Ecology. 2008. V. 39. No. 1. P. 23–34. doi: 10.1016/j.apsoil.2007.11.002.APSOIL-1123
22. Ryabinin N.A., Pan'kov A.N. Successions of oribatid mites (Acariformes: Oribatida) on disturbed areas // Biology Bulletin. 2009. V. 36. N. 5. P. 510–515.
23. Coulson S.J., Fjellberg A., Melekhina E.N., Taskaeva A.A., Lebedeva N.V., Belkina O.A., Seniczak S., Seniczak A., Gwiazdowicz D.J. Microarthropod communities of industrially disturbed or imported soils in the High Arctic; the abandoned coal mining town of Pyramiden, Svalbard // Biodivers. Conserv. 2015. V. 24. No. 7. P. 1671–1690. doi: 10.1007/s10531-015-0885-9
24. Behan-Pelletier V.M. Oribatid mite biodiversity in agroecosystems: role for bioindication // Agriculture, Ecosystems and Environment. 1999. No. 74. P. 411–423.
25. Khalil M.A., Janssens T.K.S., Berg M.P., van Stralen N.M. Identification of metal-responsive oribatid mites in a comparative survey of polluted soils // Pedobiologia. 2009. V. 52. No. 3. P. 207–221. doi: 10.1016/j.pedobi.2008.10.002
26. Melekhina E.N. The effect of oil pollution on the soil microfauna of the tundra communities of the extreme northern taiga // Ekologiya cheloveka. 2007. No. 1. P. 16–23 (in Russian).
27. Melekhina E.N. Recovery of soil microfauna successions in oil-polluted ecosystems of the European Subarctic // Biology Bulletin. 2020. V. 47. No. 1. P. 97–105. doi: 10.1134/S1062359020010082
28. Melekhina E.N. Recovery of soil invertebrates after oil pollution: importance of composition and development degree of plant community // Vestnik Instituta biologii Komi nauchnogo tsentra Ural'skogo otdeleniya Rossiyskoy akademii nauk. 2019. No. 1. P. 9–17 (in Russian). doi: 10.31140/J.VESTNIKIB.2019.1(208).2
29. Koshlaf E., Shahsavari E., Aburto-Medina A., Taha M., Haleyr N., Makadia T.H., Morrison P.D., Ball A.S. Bioremediation potential of diesel-contaminated Libyan soil // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2016. V. 133. P. 297–305. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.07.027
30. Bao Y.J., Xu Z., Li Y., Yao Z., Sun J., Song H. High-throughput metagenomic analysis of petroleum-contaminated soil microbiome reveals the versatility in xenobiotic aromatics metabolism // J. Environ. Sci. (China). 2017. V. 56. P. 25–35. doi: 10.1016/j.jes.2016.08.022

Способность некоторых бактерий-нефтедеструкторов продуцировать биосурфактанты

© 2020. С. М. Кузнецов¹, д. м. н., профессор,
А. А. Алалыкин¹, к. х. н., ведущий инженер, Е. О. Лобанова¹, инженер,
О. А. Новикова¹, техник, В. Г. Комоско¹, руководитель НОЦ,
С. Г. Литвинец¹, к. с.-х. н., доцент, проректор,
Е. А. Мартинсон¹, к. т. н., доцент, директор института,
А. В. Николаева², к. г. н., член-корр. РАЕН, начальник отдела,
М. А. Трошин², к. т. н., в. н. с.,
¹Вятский государственный университет,
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,
²Научно-исследовательский институт трубопроводного транспорта,
117186, Россия, г. Москва, Севастопольский проспект, д. 47а,
e-mail: litvinets@vyatsu.ru

Изучена способность штаммов бактерий-нефтедеструкторов *Pseudomonas fluorescens* 28/5, *Rhodococcus erythropolis* 36a-1, *Pseudonocardia autotrophica* DSM 43096, 43190, *Rhodococcus jialingiae* Б-М-1 продуцировать биосурфактанты. Установлено, что культивирование с использованием в качестве источника углерода додекана и гексадекана приводит к образованию конгломератов всеми исследуемыми культурами на 4–9 сут. При выращивании на синтетической питательной среде с добавлением этанола процесс образования конгломератов не наблюдался. Объем биосурфактантов, полученных путём экстракции смесью хлороформа и метанола и отгонкой растворителей на роторном испарителе, варьировал от 0,15 до 1,90 мл с 10 мл культуральной жидкости. Анализ химической структуры биосурфактантов методом высокоэффективной жидкостной хроматомасс-спектрометрии позволил установить идентичный качественный состав для всех образцов. Различия заключались в количественном соотношении отдельных компонентов. В составе образцов обнаружены химические соединения, относящиеся к неионогенным ПАВ и биосурфактантам. Выявлено присутствие во всех молекулах карбоксильных групп, на основании чего исследуемые биосурфактанты могут быть отнесены к классу поверхностных анионоактивных веществ. Максимальный выход биосурфактантов получен у штаммов *Pseudonocardia autotrophica* DSM 43096, 43190 (15,2 г/л) и *Rhodococcus erythropolis* 36a-1 (14,4 г/л), что можно считать основанием для рекомендаций по их включению в состав биопрепаратов для ликвидации нефтяных разливов.

Ключевые слова: микроорганизмы-нефтедеструкторы, биосурфактанты, глубинное культивирование, поверхностно-активные вещества, хроматомасс-спектрометрия, химическая структура биосурфактантов, трегалолипиды.

The ability of certain oil destructive bacteria to produce biosurfactants

© 2020. S. M. Kuznetsov¹ ORCID: 0000-0002-4444-5170^{*}
A. A. Alalykin¹ ORCID: 0000-0001-7453-3617^{*}, E. O. Lobanova¹ ORCID: 0000-0002-2509-8193^{*}
O. A. Novikova¹ ORCID: 0000-0003-0735-1607^{*}, V. G. Komosko¹ ORCID: 0000-0002-2083-6169^{*}
S. G. Litvinets¹ ORCID: 0000-0001-8583-5274^{*}, E. A. Martinson¹ ORCID: 0000-0002-0364-4106^{*}
A. V. Nikolaeva² ORCID: 0000-0001-7345-8416^{*}, M. A. Troshin² ORCID: 0000-0002-6749-7248^{*}
¹Vyatka State University,
36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,
²Pipeline Transport Institute,
47A, Sevastopolskiy Prospekt, Moscow, Russia, 117186,
e-mail: litvinets@vyatsu.ru

The ability of bacterial strains of oil destructors of *Pseudomonas fluorescens* 28/5, *Rhodococcus erythropolis* 36a-1, *Pseudonocardia autotrophica* DSM 43096, 43190 and *Rhodococcus jialingiae* B-M-1 to produce biosurfactants was studied. The strains were cultured on liquid nutrient media containing dodecane, hexadecane and ethanol in a shaker incubator

at 160 rpm, temperature (28±1) °C for 168 hours. We found that cultivation using dodecane and hexadecane causes the formation of conglomerates by all cultures on days 4–9. When grown on a synthetic nutrient medium with the addition of ethanol, the formation of conglomerates was not observed. The extraction of biosurfactants from the culture fluid was carried out by extraction with a mixture of chloroform and methanol and distillation of the solvents on a rotary evaporator. The volume of obtained surfactants ranged 0.15 to 1.90 mL from 10 mL of culture fluid. To analyze the chemical structure of biosurfactants, the method of high-performance liquid chromatography-mass spectrometry was used. Chromatograms obtained for all samples with positive polarity, as a result of comparison of chromatographic peaks, made it possible to establish an identical qualitative composition. The differences were only in the quantitative ratio of the individual components in different samples. Chemical compounds related to nonionic surfactants and biosurfactants were found in the composition of the samples. The presence of carboxyl groups in all molecules was revealed, which allows these substances to be classified as surface anionic substances. The maximum amount of biosurfactant was obtained from strains of *Pseudonocardia autotrophica* DSM 43096, 43190 (15.2 g/L) and *Rhodococcus erythropolis* 36a-1 (14.4 g/L). This fact is the basis for the inclusion of these strains in the composition of biological products for the elimination of oil spills.

Keywords: oil-destroying microorganisms, biosurfactants, cultivation in liquid nutrient media, chromatomass spectrometry, chemical structure of biosurfactants, trehalolipids.

В последние годы внимание исследователей привлекают биосурфактанты, которые являются биологическими поверхностно активными веществами (биоПАВ) и по своим эмульгирующим свойствам не уступают синтетическим аналогам. В тоже время низкая токсичность, биodeградебельность, устойчивая активность в экстремальных условиях, а также получение из возобновляемых источников [1–3] делают эти вещества перспективными для создания новых материалов и технологий. Биосурфактанты, являясь относительно новыми продуктами биотехнологии, используются в разных областях промышленности (химической, фармацевтической, пищевой), а также для решения экологических задач по очистке нефтезагрязнённых территорий [4, 5]. В настоящее время получено значительное количество различных разновидностей биосурфактантов, каждый из которых продуцируется специфической группой микроорганизмов. Среди них выделяют гликолипиды, рамнолипиды, софоролипиды, трегалолипиды, липопротеины, жирные кислоты и другие [6]. Анализ литературы свидетельствует о том, что биосурфактанты бактерий-нефтедеструкторов являются важным фактором, определяющим эффективность процесса утилизации нефтепродуктов [7, 8]. Общим свойством биосурфактантов является наличие в молекуле как гидрофильных, так и гидрофобных частей [9]. В результате они эффективно снижают поверхностное натяжение воды, водных растворов и имеют выраженную эмульгирующую активность, тем самым повышают биодоступность нефти и нефтепродуктов за счёт дисперсии углеводородсодержащих компонентов, что обеспечивает повышение эффективности окисляющей способности микроорганизмов-нефтедеструкторов [10]. Значительный интерес биосурфактан-

ты бактерий-нефтедеструкторов представляют для создания средств борьбы с аварийными разливами нефти нового поколения – биосорбентов [11].

На основании комплексных исследований, проведённых в Институте экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук коллективом авторов под руководством И.Б. Ившиной для снижения уровня нефтезагрязнений был разработан олеофильный биопрепарат на основе *Rhodococcus*-биосурфактантов, который представляет собой органоминеральный биокомплекс, содержащий *Rhodococcus*-биосурфактант, активную ассоциацию бактериальных культур-нефтеразрушителей и сбалансированную минеральную добавку азота, калия, фосфора [12].

Целью настоящей работы являлось сравнительное изучение способности штаммов бактерий-нефтедеструкторов (*Pseudomonas fluorescens* 28/5, *Rhodococcus erythropolis* 36a-1, *Pseudonocardia autotrophica* DSM 43096, 43190 и *Rhodococcus jialingiae* Б-М-1) продуцировать биосурфактанты для их включения в состав биокомпонентов препаратов, разрабатываемых для ликвидации нефтяных разливов.

Объекты и методы исследования

Для исследования были выбраны эффективные штаммы бактерий-нефтедеструкторов, депонированные в коллекции Национального биоресурсного центра – Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов, ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»»: *P. fluorescens* 28/5 (ВКПМ В-6735), *R. erythropolis* 36a-1

(ВКПМ АС-1226), *P. autotrophica* DSM 43096, 43190 (ВКПМ АС-917), *R. jialingiae* Б-М-1 (ВКПМ АС-1967).

Для получения биосурфактантов микроорганизмы культивировали на плотной питательной среде – FT-агаре (ФБУН «ГНЦ ПМБ») и рекомендованных для этих целей жидких минеральных питательных средах «К» [13] и «А» [14]. В качестве источника углерода и энергии использовали (по объёму): этанол в концентрации 2%; гексадекан – 1–2%; додекан – 1–2%.

Для получения стандартизованного исходного материала использовали лиофильно высушенные рабочие культуры штаммов микроорганизмов-нефтедеструкторов, находящиеся на хранении при температуре минус 10 °С. Посевной материал выращивали на скошенном агаре в матрацах при температуре (37±1) °С в течение 48–72 ч. Матрацевые культуры смывали 20,0–25,0 см³ стерильного физиологического раствора и в асептических условиях переносили в стерильные колбы, содержащие 500 см³ жидкой питательной среды «К» или «А». Колбы засеивали до плотности посева не менее 2 · 10⁶ КОЕ/см³ и выращивали в шейкер-инкубаторе при постоянном перемешивании (160 об./мин) и температуре (28±1 °С) в течение 7 сут. Ежедневно отбирали пробы для определения поверхностного натяжения стеклянным сталагмометром.

Для выделения биосурфактантов из культуральных жидкостей удаляли бактериальные клетки путём центрифугирования на лабораторной центрифуге В1-ОЦЖ-24 с использованием режима: скорость вращения ротора – 1370 об./мин, продолжительность – 30 мин. Бесклеточный супернатант экстрагировали смесью хлороформ : метанол (3 : 1, V/V), подкисляли соляной кислотой до pH = 2 и выдерживали в течение 12 ч при температуре 4 °С. Затем отбирали нижний органический слой и удаляли растворитель на ротационном испарителе RV-10 basic V при температуре 35 °С. В конце упаривания к смеси добавляли бензол и упаривали досуха.

Для изучения химической структуры использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматомасс-спектрометрии, который является гибридным методом и объединяет независимые друг от друга процессы жидкостного хроматографического разделения и масс-спектрометрического анализа.

Исходные образцы экстрактов, помещали в микроцентрифужные пробирки типа Эппендорф вместимостью 1,5 мл, гомогенизировали

на вортексе в течение 10 мин при комнатной температуре. Навески 10 мг гомогенизированных экстрактов каждого образца переносили в чистые пробирки и добавляли по 1 мл смеси очищенной воды с метанолом (1:1 по объёму). Содержимое пробирок перемешивали на вортексе в течение 10 мин, после чего полученные растворы фильтровали через шприцевые полиамидные фильтры «Chromafil Xtra PA-20/13» с диаметром пор 0,2 мкм и помещали в вials автосэмплера. Условия проведения анализа: дозируемый объём пробы – 5 мкл; температура термостата колонок – 35 °С; расход подвижной фазы – 0,25 мл/мин, режим элюирования – бинарный градиент: фаза А – вода очищенная I типа, фаза Б – ацетонитрил: начальное содержание 0% с 0 до 2 мин, увеличение до 70% с 2 до 13 мин, увеличение до 90% с 13 до 14 мин; выдержка при 90% в течение 2 мин; тип ионизации – электроспрей (положительная и отрицательная полярность); ионизирующее напряжение – 3,5 кВ; энергия коллизии (коллизионный газ – аргон) – 15–50 эВ; температура интерфейса – 300 °С; температура линии десольватации – 250 °С; расход газа-распылителя (азот) – 3 л/мин; расход газа – осушителя (азот) – 15 л/мин; режим сбора данных Q3 Scan, Product Ion Scan – в заданных диапазонах m/z.

Исследования проводили на tandemном жидкостном хроматомасс-спектрометре LCMS-8040 («Shimadzu», Япония) с системой трёх квадруполей. Прибор оснащён хроматографической колонкой «Dr. Maisch Reprosil-Pur Basic C18» 100 × 2 мм с размером зёрен неподвижной фазы 3 мкм.

Последующую обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения LabSolutions LCMS 5.86.

Результаты и обсуждение

Основной целью работы было установить способность исследуемых штаммов микроорганизмов-нефтедеструкторов продуцировать биосурфактанты в процессе глубинного культивирования. Установлено, что культивирование в жидких питательных средах, содержащих додекан и гексадекан, приводило к образованию на 4–9 сут у всех штаммов конгломератов, которые имели различную структуру (рис. 1, см. цветную вкладку). Это требовало дополнительной дезинтеграции с целью выделения биосурфактанта. В тоже время выращивание на жидких питательных средах, содержащих этанол, не сопровож-

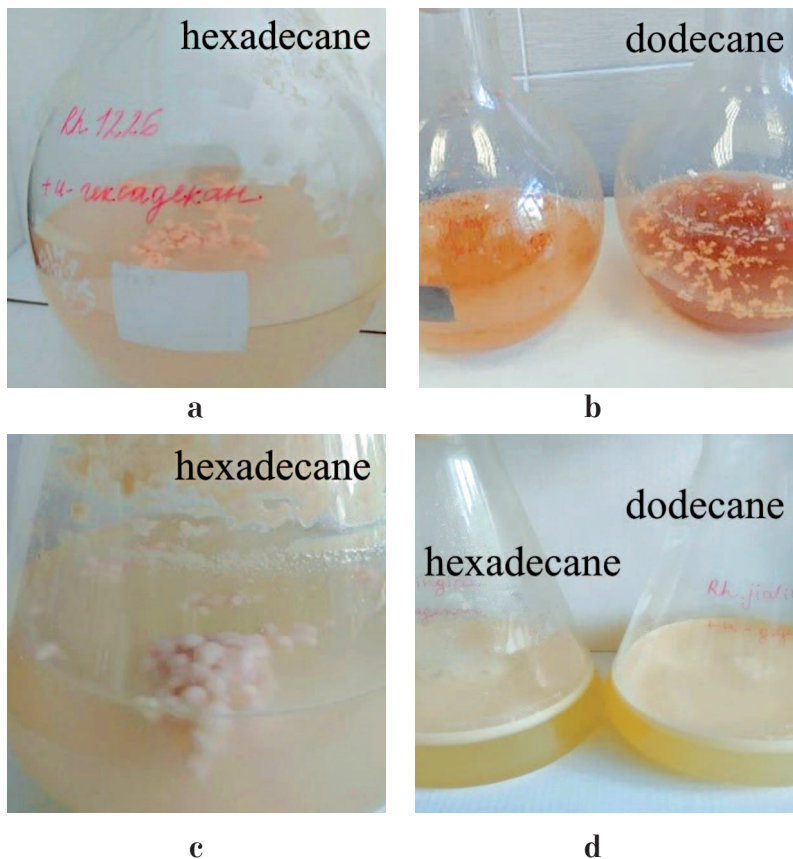


Рис. 1. Образование конгломератов при культивировании на средах с додеканом и гексадеканом у бактерий:

- a – *R. erythropolis* 36a-1 (4 сут);
- b – *P. autotrophica* DSM 43096, 43190 гексадекан (9 сут), додекан (9 сут);
- c – *P. fluorescens* 28/5, гексадекан (6 сут);
- d – пена на *R. jialingiae* Б-М-1, гексадекан (1 сут), додекан (5 сут)

Fig. 1. The appearance of conglomerates during cultivation on media with dodecane and hexadecane in bacteria:

- a – *R. erythropolis* 36a-1 (4th day);
- b – *P. autotrophica* DSM 43096, 43190 hexadecane (9th day), dodecane (9th day);
- c – *P. fluorescens* 28/5, hexadecane (6th day);
- d – foam on *R. jialingiae* B-M-1, hexadecane (1st day), dodecane (5th day)

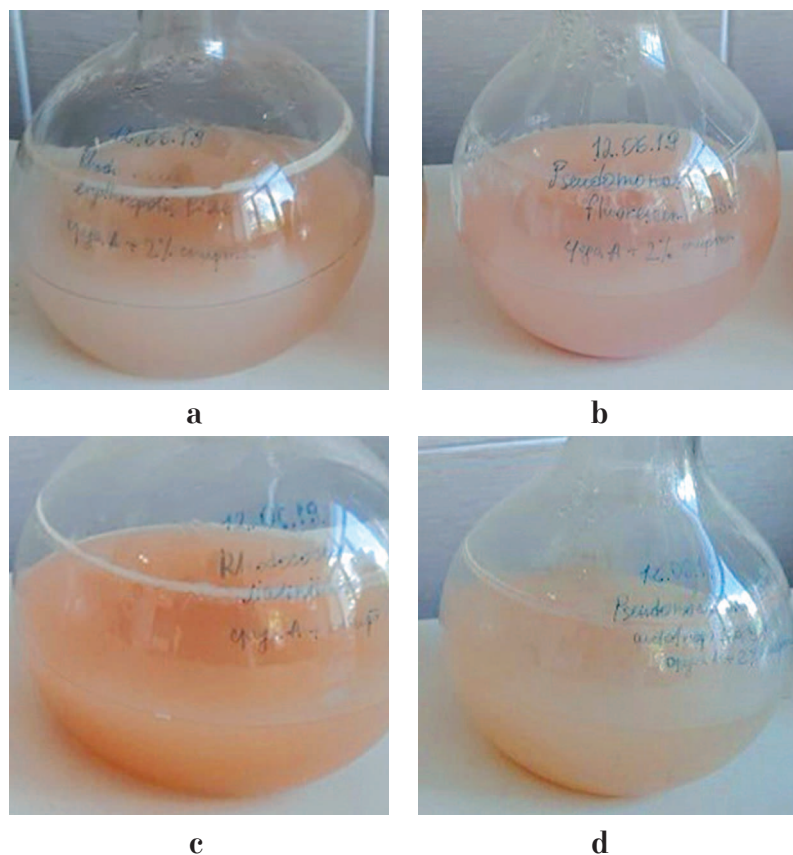


Рис. 2. Культуральные жидкости бактерий на седьмые сутки культивирования на среде с 2% этанола:

- a – *R. erythropolis* 36a-1;
- b – *P. fluorescens* 28/5;
- c – *R. jialingiae* Б-М-1;
- d – *P. autotrophica* DSM 43096, 43190

Fig. 2. Cultivation liquids on the seventh day of cultivation with the addition of 2% ethanol:

- a – *R. erythropolis* 36a-1;
- b – *P. fluorescens* 28/5;
- c – *R. jialingiae* B-M-1;
- d – *P. autotrophica* DSM 43096, 43190

Выход биосурфактантов после отгонки растворителей
The output of biosurfactants after distillation of solvents

Штамм микроорганизма The strain of microorganism	Количество биосурфактанта в зависимости от источника углерода, мл The volume of biosurfactant using carbon source, mL		
	додекан dodecan	гексадекан hexadecane	этанол ethanol
<i>R. erythropolis</i> 36a-1	1,80	0,30	1,00
<i>P. fluorescens</i> 28/5	1,60	1,60	0,20
<i>R. jialingiae</i> Б-М-1	1,70	1,60	0,15
<i>P. autotrophica</i> DSM 43096, 43190	1,30	1,90	0,20

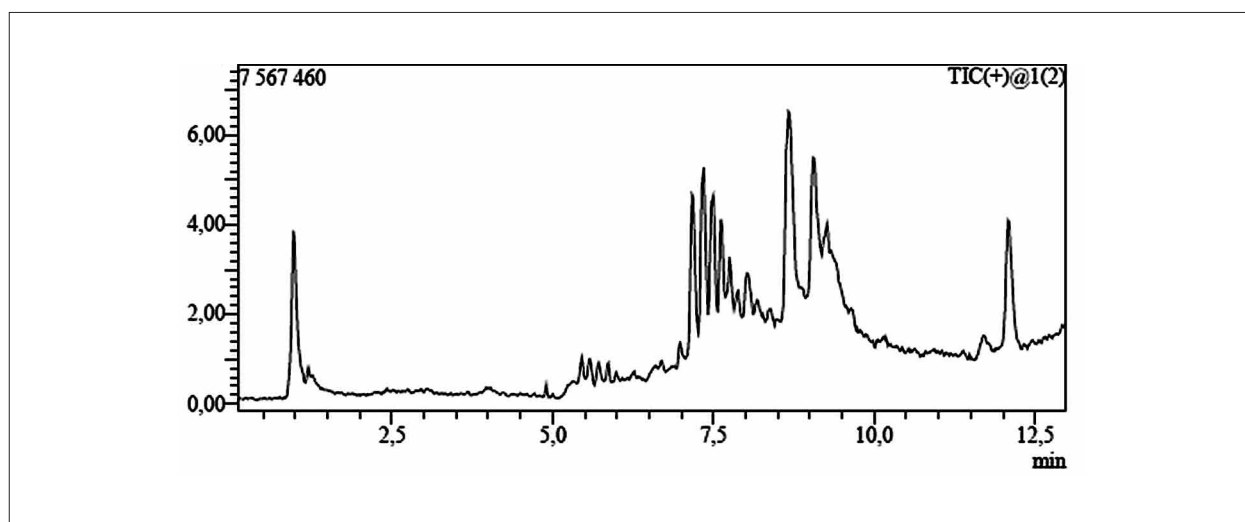


Рис. 3. Хроматограмма биосурфактанта *R. erythropolis* 36a-1 при культивировании на среде с гексадеканом
Fig. 3. Chromatogram of the *R. erythropolis* 36a-1 biosurfactant obtained by cultivation on a substrate with hexadecane

ждалось образованием конгломератов (рис. 2, см. цветную вкладку).

По окончании культивирования проводили отделение клеток, экстракцию биосурфактанта смесью хлороформа и метанола (3:1) и отгонку растворителей на роторном испарителе. Объём биосурфактантов варьировал от 0,15 до 1,90 мл (табл.).

Полученные биосурфактанты представляли собой маслянистые жидкости от прозрачного до буро-жёлтого цвета.

С целью определения общего химического состава исследуемых экстрактов подготовленные пробы анализировали в режиме сканирования m/z в диапазоне 400–1500 как при положительной, так и при отрицательной полярности ионного источника. При этом получали данные в виде хроматограмм, регистрируемых по полному ионному току (TIC).

Путём сопоставления первичных масс-спектров (содержащих псевдомолекулярные

ионы и их аддукты) хроматографических пиков был установлен идентичный качественный состав для двенадцати образцов. Различия отмечали лишь в количественном соотношении отдельных компонентов в разных пробах. Пример хроматограммы, полученной при положительной полярности ионизации, типичной для всех образцов, представлен на рисунке 3.

На хроматограммах всех образцов присутствуют группы пиков различной степени интенсивности в следующих интервалах времени: от 5 до 6,5 мин, от 7 до 8,5 мин и от 8,5 до 10 мин. Кроме того, во всех случаях наблюдаются группы пиков на начальных участках хроматограмм.

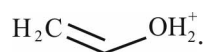
Достаточно интенсивные и плохо разделённые пики с небольшим временем удерживания (0,5–2 мин) обусловлены выходом из хроматографической колонки компонентов, имеющих низкое сродство к неподвижной неполярной фазе. К таким компонентам относят-

ся низкомолекулярные гидрофильные соединения: такие, как сахара, карбоновые кислоты, спирты, а также неорганические ионы. На сложный состав данной фракции указывает наличие большого количества ионов во всём диапазоне регистрируемых m/z .

В ходе исследований были выявлены аналогичные закономерности также и для группы компонентов, выходящих из хроматографической колонки в интервале от 5 до 6,5 мин. Их пики разной степени интенсивности присутствуют на хроматограммах всех образцов. В данном случае речь идёт также о соединениях, относящихся к сравнительно низкомолекулярным полиэтиленгликолям или их производным. Интервал молекулярных масс этих компонентов находится в пределах 400–650 Да.

Все анализируемые компоненты, выходящие из хроматографической колонки в интервале 7–8,5 мин, имели одинаковое строение молекул, являясь при этом представителями гомологического ряда соединений, отличающихся по молекулярным массам на 44 Да. С наибольшей вероятностью такими соединениями могут быть полиэтиленгликоли с общей формулой $[-CH_2-CH_2-O-]_n$ ($n = 9-16$) либо другие оксиэтилированные производные, содержащие в своей структуре фрагменты полиэтиленгликолей.

Ионы с m/z 45, 89 и 133 могут быть отнесены к протонированным в разной степени фрагментам цепочек полиэтиленгликоля. Так, ион с m/z 45, вероятнее всего представляет собой мономерный, с m/z 89 – димерный, а с m/z 133 – тримерный протонированный фрагмент. В частности, ион с m/z 45 может иметь структуру:



Описываемые соединения являются основой многих синтетических неионогенных поверхностно-активных веществ (ПАВ). К ним относятся, например, этоксилированные спирты (синтанолы, полисорбаты), жирные кислоты, амины и др.

Компоненты, выходящие из хроматографической колонки в интервале времени от 8,5 до 10 мин, представляют собой производные дисахарида трегалозы, ацилированные в разной степени по гидроксильным группам, каприловой и каприновой кислотами. Кроме указанных кислот, возможно присутствие в структурах остатков других карбоксилсодержащих фрагментов, в частности янтарной кис-

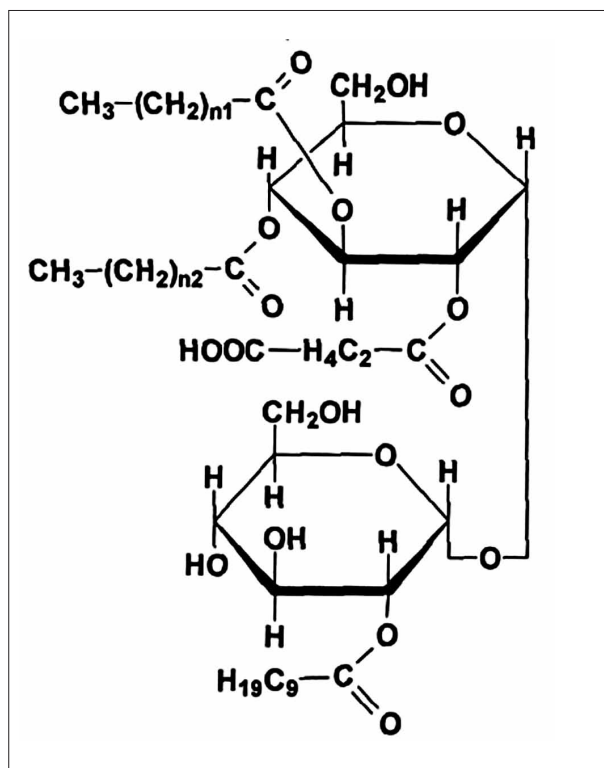


Рис. 4. Предполагаемая структурная формула биосурфактанта
Fig. 4. Presumptive structural formula of bio-surfactant

лоты. Молекулярные массы этих соединений лежат ориентировочно в пределах от 600 до 950 Да. Описываемые вещества, содержащие в своей структуре как гидрофильные (остатки трегалозы), так и гидрофобные (остатки жирных кислот) фрагменты, а также карбоксильные группы, могут представлять собой эффективные ПАВ, образовавшиеся в результате жизнедеятельности микроорганизмов, то есть являются биосурфактантами. Следует отметить, что количественное содержание биосурфактантов – производных трегалозы практически одинаково во всех исследованных образцах, на что указывают соизмеримые по площадям пики при 8,5–10 мин (рис. 3).

На рисунке 4 представлена одна из предполагаемых структур соединений данного ряда.

Пересчёт выхода биосурфактантов на 1 л среды показал, что их количество варьировало от 1,2 до 15,2 г/л. Максимальный выход отмечен у штаммов *P. autotrophica* DSM 43096, 43190 (15,2 г/л) при использовании в качестве источника углерода гексадекана и *R. erythropolis* 36a-1 (14,4 г/л) – при использовании додекана.

На основании результатов по выходу и анализу химической структуры биосурфактантов

для дальнейшей работы по созданию биопрепаратов для ликвидации нефтяных разливов можно рекомендовать штаммы *P. autotrophica* DSM 43096, 43190 и *R. erythropolis* 36a-1.

Заключение

Таким образом, для всех образцов биосурфактантов установлен одинаковый качественный компонентный состав. В составе биосурфактанта присутствует несколько групп однотипных химических соединений, относящихся к производным полиэтиленгликолей, то есть соединений, содержащих полиэтоксиглицированные фрагменты. Данные соединения являются неионогенными ПАВ. В составе образцов обнаружены химические соединения, относящиеся к биосурфактантам. Установлено, что эти вещества являются сложными эфирами дисахарида трегалозы и жирных кислот, в основном каприловой (октановой) и каприновой (декановой). Выявлено присутствие в их молекулах карбоксильных групп, на основании чего данные биосурфактанты могут быть отнесены к классу биоПАВ. Способность исследуемых штаммов микроорганизмов-нефтедеструкторов к образованию биосурфактантов, а также возможность использования этих соединений в чистом виде можно рекомендовать при разработке компонентного состава препаратов для ликвидации нефтяных разливов.

References

1. Akbari S., Abdurahman N.H., Yunus R.M., Fayaz F., Alara O.R. Biosurfactants – a new frontier for social and environmental safety: a mini review // *Biotechnol. Res. Innov.* 2018. V. 2. No. 1. P. 81–90. doi: 10.1016/J.BIORI.2018.09.001
2. Chetan D.M., Keerthana S., Prabhu B.A., Manjula M., Ranjit S., Ramesh R., Bhat S. Biosurfactants: an alternative to the synthetic surfactants and their production by bacteria isolated from solid waste // *J. Pure Appl. Microbiol.* 2018. V. 12. No. 3. P. 1561–1567. doi:10.22207/jpam.12.3.61
3. Gutnick D.L., Bach H. Biosurfactants. From genes to applications. Springer, 2011. 216 p. doi: 10.1016/B978-0-08-088504-9.00237-3
4. Bodour A.A., Drees K.P., Maier R.M. Distribution of biosurfactant-producing bacteria in undisturbed and contaminated arid southwestern soils // *Appl. Environ. Microbiol.* 2003. V. 69. No. 6. P. 3280–3287. doi: 10.1128/AEM.69.6.3280-3287.2003
5. Freitas B.G., Brito J.G.M., Brasileiro P.P.F., Rufino R.D., Luna J.M., Santos V.A., Sarubbo L.A. Formulation of a commercial biosurfactant for application as a dispersant of petroleum and by-products spilled in oceans // *Front. Microbiol.* 2016. V. 7. P. 1646. doi: 10.3389/fmicb.2016.01646
6. Rahman P.K.S.M., Gakpe E. Production, characterisation and applications of biosurfactants – Review // *Biotechnology.* 2008. V. 7. No. 2. P. 360–370. doi: 10.3923/biotech.2008.360.370
7. Marti M.E., Colonna W.J., Patra P., Zhang H., Green C., Reznik G., Pynn M., Jarrell K., Nyman J.A., Somasundaran P., Glatz C.E., Lamsal B.P. Production and characterization of microbial biosurfactants for potential use in oil-spill remediation // *Enzyme Microb. Technol.* 2014. V. 55. P. 31–39. doi: 10.1016/J.ENZMICTEC.2013.12.001
8. Sen R. Biosurfactants // *Advances in experimental medicine and biology.* 2010. V. 672. 331 p. doi: 10.1007/978-1-4419-5979-9
9. Fracchia L., Cavallo M., Giovanna M., Banat I.M. Biosurfactants and bioemulsifiers biomedical and related applications – present status and future potentials // *Biomed. Sci. Eng. Technol.* 2012. 31 p. doi: 10.5772/23821
10. Karlapudi A.P., Venkateswarulu T.C.C., Tammineedi J., Kanumuri L., Ravuru B.K., Dirisala V.R., Kodali V.P. Role of biosurfactants in bioremediation of oil pollution – a review // *Petroleum.* 2018. V. 4. No. 3. P. 241–249. doi: 10.1016/j.petlm.2018.03.007
11. Nikolaeva A.V., Dunaeva A.S., Troshin M.A., Shipilova L.A., Chernyaeva I.A. Peat-borne hydrophobic biosorbent to eliminate the effects of accidental spills of oil and oil products on water and soil // *Nauka i tekhnologiya truboprovodnogo transporta nefti i nefteproduktov.* 2016. V. 2. No. 22. P. 100–105 (in Russian)
12. Kuyukina M.S., Ivshina I.B. Oleophilic biological preparation useful for cleaning oil-polluted soil // Patent RU 2180276 C1. Application: RU2001104629A, 19.02.2001. Date of publication: 10.03.2002 (in Russian).
13. Rubtsova E.V., Kuyukina M.S., Ivshina I.B. The influence of cultivation conditions on the adhesive activity of rhodococci against n-hexadecane // *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya.* 2012. V. 48. No. 5. P. 501–501 (in Russian).
14. Pirog T.P., Shevchuk T.A., Voloshina I.N., Karpenko E.V. Production of surfactants by *Rhodococcus erythropolis* strain EK-1, grown on hydrophilic and hydrophobic substrates // *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya.* 2004. V. 40. No. 5. P. 544–550 (in Russian).

Оценка эффективности консорциумов микроорганизмов для очистки почв, загрязнённых нефтепродуктами, в условиях Кольского Севера

© 2020. А. А. Чапоргина, аспирант,
 М. В. Корнейкова, к. б. н., зав. лабораторией,
 Институт проблем промышленной экологии Севера – обособленное
 подразделение ФГБУН Федеральный исследовательский центр
 «Кольский научный центр РАН»,
 184209, Россия, Мурманская область, г. Апатиты, Академгородок, д. 14а,
 e-mail: korneykova.maria@mail.ru, chaporgina@inep.ksc.ru

Из почв Кольского полуострова (Al-Fe гумусовые подзолы) выделены микроскопические грибы – активные деструкторы углеводородов нефти. Проведена оценка эффективности использования консорциумов микроорганизмов (бактерии и грибы) для очистки почв от нефтепродуктов (НП) в условиях полевого модельного опыта. Наибольшая эффективность выявлена у бактериально-грибного консорциума: за 120 сут содержание НП снизилось на 82% от исходного уровня. Определено, что использование консорциумов аборигенных нефтеокисляющих микроорганизмов ускоряет процесс разложения НП в почве на 10–20%, относительно варианта с НП без внесения нефтеокисляющих микроорганизмов, что даёт возможность применять их для доочистки окружающей среды от углеводородов нефти. Внесение в почву микроорганизмов-нефтедеструкторов изменяет численность, видовой состав и структуру сообществ аборигенных микроорганизмов. Так, *Penicillium canescens*, входящий в состав консорциума, становится доминирующим видом в очищаемой почве. Микромицеты, входящие в состав консорциумов, обладают разной степенью фитотоксичности. Наименее фитотоксичность выражена у *P. commune*. Этот вид наиболее перспективен для создания и использования комплексного биопрепарата с целью деструкции нефтепродуктов в кислых почвах Кольского Севера.

Ключевые слова: консорциум микроорганизмов, микроскопические грибы, углеводородокисляющая активность, почва, нефтепродукты, фитотоксичность.

Evaluation of the microorganisms consortium efficiency to cleaning soils polluted by oil products in the Kola North conditions

© 2020. A. A. Chaporgina ORCID: 0000-0001-8114-461X
 M. V. Korneykova ORCID: 0000-0002-6167-1567
 Institute of North Industrial Ecology Problems – Subdivision of the Federal Research Centre
 “Kola Science Centre of Russian Academy of Science”,
 14a, Academgorodok, Apatity, Murmansk region, Russia, 184209,
 e-mail: korneykova.maria@mail.ru, chaporgina@inep.ksc.ru

Microscopic fungi and bacteria that are active oil hydrocarbons destructors were isolated from the soils of the Kola Peninsula (Al-Fe humus podzols). Microorganisms consortium efficiency (bacteria *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *P. baetica*, *Microbacterium paraoxydans* and fungi *Penicillium commune*, *P. canescens* st.1, *P. simplicissimum* st.1) for soil purification from oil products in field model experiment was estimated. Diesel fuel in the amount of 10 L/m² was inserted as contaminator. Variants of the experiment were: soil without oil product (OP) as control, OP + bacterial consortium, OP + fungal consortium, OP + bacterial and fungal consortium. The residual content of oil hydrocarbons in the soil was determined by IR spectrometry methods with the AN-2 analyzer. Oil destructive native microorganisms consortium accelerate the oil product decomposition by 10–20% and are advised for environment post-cleaning from oil hydrocarbons. The bacterial-fungi consortium demonstrated the best result: during 120 days oil products content was reduced by 82%, oil products decomposition rate after 30 and 120 days was maximum as compared to other experiment scenarios. The soils of the Kola Peninsula are predominately acid soils, therefore, the efficiency of biopreparations based on fungi will likely be higher than that of bacterial preparation. Soil oil-oxidizing microorganisms changed the abundance, species composition and community structure of indigenous microorganisms. So, *P. canescens*, being a part of the consortium became the dominant species in the purified soil. The micromycetes involved in the consortium have different levels of phytotoxicity. Being an active decomposer of the oil products, the species *P. commune* displays these properties least of all, suppressing the *Triticum aestivum* seeds growth by 24%, and *Lepidium sativum* seeds by 29%. Consequently, this species may be a promising one for the biological product creation, and may be advised for use in bioremediation of soils contaminated by the oil products.

Keywords: oil oxidizing microorganisms, bioremediation, oil hydrocarbons, soil, phytotoxicity, Kola Peninsula.

Постоянно возрастающее антропогенное воздействие приводит к увеличению поступления в экосистемы различных ксенобиотиков. Среди множества загрязнителей окружающей среды (ОС) необходимо выделить нефть и нефтепродукты (НП), которые являются достаточно опасными, быстро распространяющимися, медленно разлагающимися в естественных условиях и способными оказывать токсическое действие на все звенья пищевой цепи.

В число потенциально опасных источников загрязнения НП в Мурманской области входят нефтебазы, объекты топливно-энергетического комплекса, крупные промышленные предприятия, имеющие в своей структуре автотранспортные подразделения, автозаправочные станции, объекты Министерства обороны РФ, где осуществляются операции с НП (хранение, транспортировка, отгрузка, бункеровка).

Разработка приёмов, направленных на снижение негативного воздействия нефтяных углеводородов на природные экосистемы, является актуальной задачей. Особенно важны такие работы в районах Крайнего Севера.

Скорость самоочищения и самовосстановления нефтезагрязнённых почв отличается в разных природных зонах и зависит от типа почвы, состава нефти и НП, концентрации загрязняющих веществ, интенсивности солнечного света, концентрации биогенных элементов, температуры, концентрации кислорода [4].

Биологический метод является наиболее перспективным для доочистки почв от углеводородного загрязнения [2–5]. Он предполагает не только внесение в почву нефтеокисляющих микроорганизмов (МО), ранее выделенных из загрязнённых почв или генетически модифицированных, но и стимулирование аборигенной нефтеокисляющей микробиоты агротехническими приёмами (внесение удобрений, рыхление, увлажнение) [6–8].

Однако при использовании биологических методов рекультивации может возникать ряд проблем, касающихся взаимодействия вносимых в почву сообществ с естественной микробиотой. За счёт перестроек в комплексе МО возможно увеличение доли видов, проявляющих фитотоксичную активность. Микромицеты, активно метаболизирующие углеводороды, с одной стороны менее уязвимы к загрязнению, а с другой стороны повышают фитотоксичность почвы. Поэтому для создания биологических препаратов нужно учитывать фактор микробного токсикоза почв, загрязнённых НП [9].

Цель настоящей работы – оценить эффективность консорциумов микроскопических грибов и бактерий, выделенных из почв Кольского полуострова, при очистке почв от НП, а также определить их потенциальное влияние на состояние сообществ аборигенных микроорганизмов.

Объекты и методы

В результате лабораторных опытов по изучению нефтеокисляющей способности штаммов аборигенных МО были отобраны наиболее активные бактерии (*Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *P. baetica*, *Microbacterium paraoxydans*) и микроскопические грибы (*Penicillium commune*, *P. canescens* st.1, *P. simplicissimum* st.1, *P. restrictum*, *P. ochrochloron*) [10, 11].

Закладка полевого модельного опыта с применением консорциумов нефтеокисляющих микроорганизмов. На окультуренном Al-Fe гумусовом подзоле на территории филиала Всероссийского института растениеводства «Полярная опытная станция» (ПОСВИР), расположенного в 1,5 км от г. Апатиты Мурманской области (67°34' с. ш., 33°22' в. д.) были заложены опытные площадки размером 1 м². В качестве нефтепродукта-загрязнителя вносили дизельное топливо (ДТ) в количестве 10 л/м², что соответствует высокой степени загрязнения [12]. Варианты опыта: контроль – почва без ДТ; с ДТ; ДТ + Б (консорциум бактерий); ДТ + Г (консорциум грибов); ДТ + (Б + Г) (консорциум бактерий и грибов).

Бактериальную биомассу наращивали в лабораторном ферментёре Sartorius Biostat A-plus в мясо-пептонном бульоне, грибную биомассу – стационарно в колбах Эрленмейера с 50 мл жидкой питательной среды Чапека. Плотность бактериальной суспензии составляла 10⁸–10⁹ клеток на 1 л, грибной суспензии – 10⁵–10⁶ КОЕ/л.

В почву опытных площадок на 1 и 30 сут после внесения НП добавляли биологические препараты в количестве 1,2 л/м² и комплексное минеральное удобрение азофоска (нитроаммофоска), содержащее азот (N) 16%, фосфор (P₂O₅) 16%, калий (K₂O) 16%. Общее количество вносимого удобрения составляло 60 г/м².

Определение остаточного содержания НП в почве. Содержание нефтяных углеводородов в почве определяли методом ИК-спектроскопии на анализаторе АН-2 [13]. Эффективность действия препаратов оценивали

по остаточному содержанию НП в почве и по скорости его разложения.

Определение численности и видового разнообразия почвенных микромицетов в полевом модельном опыте. Численность микромицетов определяли методом глубинного посева на сусло-агар с добавлением молочной кислоты для ингибирования роста бактерий из расчёта 4 мл/л среды. Из всех выросших колоний грибов были выделены чистые культуры и проведена их идентификация по культурально-морфологическим признакам до вида. Видовые названия уточняли по пополняемым спискам видов в базе данных “Species fungorum” (www.speciesfungorum.org).

Определение степени фитотоксичности микромицетов-деструкторов НП. Для определения степени фитотоксичного действия микроскопических грибов наиболее активных деструкторов НП (*Penicillium canescens* st.1, *P. commune*, *P. simplicissimum* st.1) использовали семена тест-растений: пшеницы (*Triticum aestivum*) и кресс-салата (*Lepidium sativum*).

Микроскопические грибы выращивали на жидкой среде Чапека в течение 7–10 сут. Культуральную жидкость отделяли от мицелия фильтрованием. Семена растений (по 30 семян в 3 повторностях) раскладывали на фильтровальную бумагу, увлажняли культуральной жидкостью грибов, контрольные

семена увлажняли стерильной питательной средой. После этого семена выдерживали в термостате в течение 24 ч при температуре 25–26 °С. Токсичными считали культуры грибов, вызывающие снижение количества проросших семян на 30% по сравнению с контролем [14].

Результаты и обсуждение

Эффективность применения консорциумов нефтеокисляющих микроорганизмов в полевом модельном опыте. В полевом опыте активность трёх используемых консорциумов МО находилась примерно на одинаковом уровне (рис. 1). В варианте с внесением бактериально-грибного консорциума за 30 сут произошло снижение содержания НП на 57% от исходного, за 120 сут – на 82%, за 370 сут – на 83%. В вариантах с использованием бактериального и грибного консорциумов за 30 сут содержание НП снизилось на 55 и 51% соответственно, за 120 сут – на 77 и 79% от исходного уровня, а за 370 сут – на 80% в обоих вариантах опыта.

В первые 30 сут эксперимента наиболее активно снижение НП в почве происходит за счёт испарения [15]. Внесение консорциумов нефтеокисляющих МО ускоряет процесс разложения НП на 10–20%.

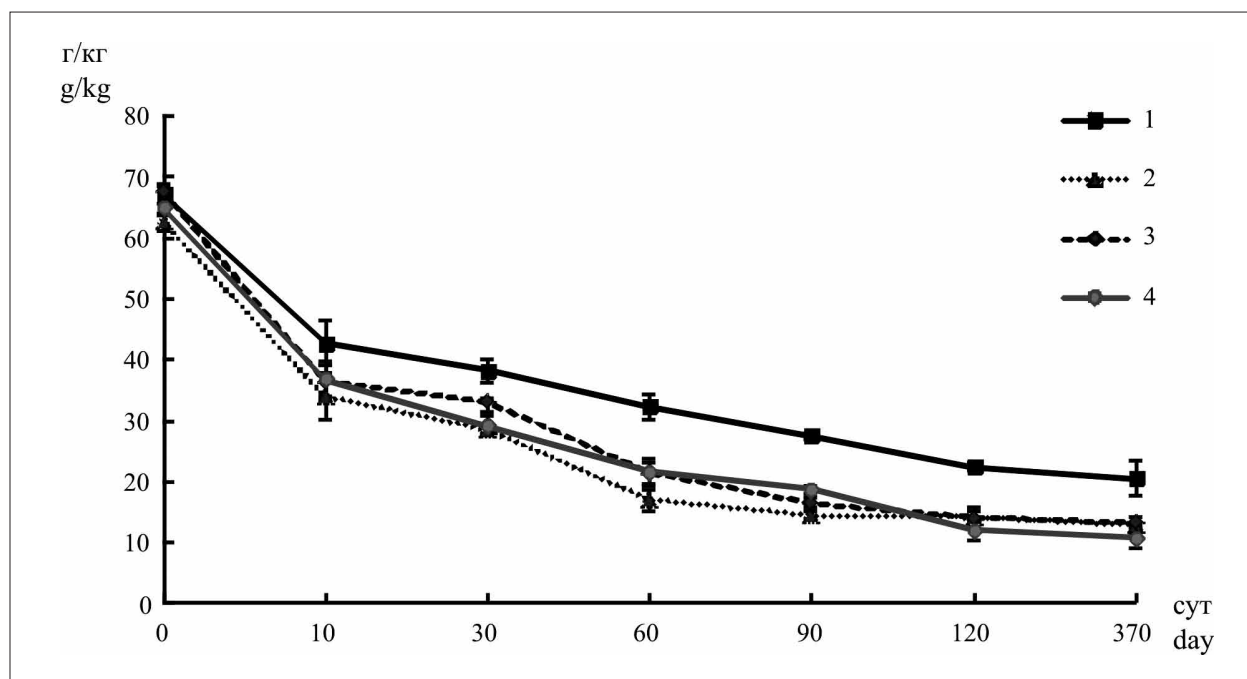


Рис. 1. Динамика содержания НП в почве модельного опыта:

1 – ДТ; 2 – ДТ+Б; 3 – ДТ+Г; 4 – ДТ+ (Б+Г)

Fig. 1. Dynamics of oil products content in the soil of model experiment:

1 – Diesel fuel (DF); 2 – DF + Bacteria consortium (B);

3 – DF + Fungi consortium (F); 4 – DF + (B + F)

Таблица 1 / Table 1

Средняя скорость убыли НП из почвы (г/кг) за 1 сут в полевом опыте
The average rate of oil products loss from the soil (g oil/kg soil) for 1 day in the field experiment

Вариант Variant	Временной период / Days					
	1–10	10–30	30–60	60–90	90–120	120–370
ДТ / DF	2,43	0,23	0,20	0,02	0,02	0,001
ДТ + Б / DF + B	2,87	0,27	0,39	0,08	0,01	0,002
ДТ + Г / DF + F	3,12	0,16	0,39	0,16	0,08	0,002
ДТ + (Б + Г) DF + (B + F)	2,81	0,39	0,25	0,10	0,22	0,005

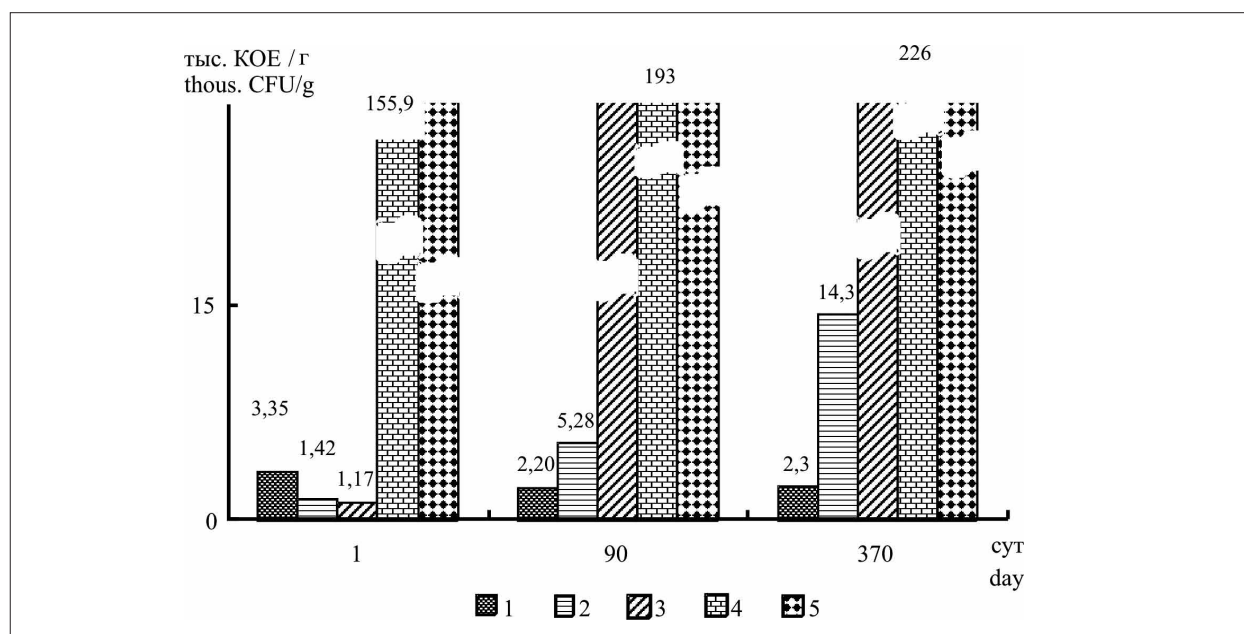


Рис. 2. Численность почвенных микромицетов:
1 – контроль; 2 – ДТ; 3 – ДТ + Б; 4 – ДТ + Г; 5 – ДТ + (Б + Г)
Fig. 2. The number of soil micromycetes: 1 – control; 2 – DT;
3 – DT + B; 4 – DT + F; 5 – DT + (B + F)

Скорость снижения содержания НП в почве изменялась со временем эксперимента (табл. 1). В течение первых 10 сут скорость была максимальной из-за наиболее интенсивного испарения. Позднее высокая скорость разложения наблюдалась в период с 10 по 60 сут эксперимента в вариантах с внесением МО. Впоследствии скорость разложения снижалась во всех вариантах опыта, а в зимний период практически была равна нулю.

Оценка эффективности консорциумов МО в окультуренной Al-Fe гумусовой почве Кольского полуострова в разные периоды времени, показала их наилучшую работу на 10–60 сут эксперимента. Однако в варианте ДТ + (Б + Г) скорость убыли НП была высокой и на 120 сут.

Численность и видовое разнообразие почвенных микромицетов в полевом опыте. Сразу после внесения НП в почву отмечается снижение численности микроскопических

грибов в вариантах ДТ и ДТ + Б в 2,4 и 2,8 раза соответственно, что обусловлено высокой токсичностью внесённых НП. На 90 сут количество микромицетов возросло во всех вариантах опыта по сравнению с контролем: в 2,5 раза в варианте с ДТ, в 14 раз – ДТ+Б, в 88 раз – ДТ + Г и 48 раз – ДТ + (Б + Г). Это, вероятно, связано с адаптацией аборигенных штаммов микромицетов к изменённым условиям среды обитания и активным развитием видов грибов, входящих в состав консорциума. На 370 сут численность микроскопических грибов также возросла во всех вариантах. Необходимо отметить, что в вариантах с использованием консорциумов, в состав которых входили микромицеты, численность последних на протяжении всего исследуемого периода держалась на высоком уровне и на 1–2 порядка превосходила таковую в контроле (рис. 2).

В отличие от микромицетов угнетения развития бактериального сообщества сразу после

внесения в почву ДТ в концентрации 10 л/м² не наблюдалось [11].

Загрязнение почвы ДТ привело к снижению видового разнообразия и перестройке структуры сообществ почвенных микроскопических грибов. В начале опыта из почвенных образцов было выделено 16 видов микромицетов, к концу эксперимента – 11 видов. Во всех вариантах доминировали грибы рода *Penicillium*. Отмечается увеличение доли грибов рода *Penicillium* в вариантах с внесением грибного и бактериально-грибного консорциумов, что вполне закономерно, поскольку в их состав входит 3 вида грибов данного рода. В незагрязнённой почве доминировали по обилию грибы *P. nigricans* (20,4%), *Sterilia mycelia* (23,8%) и *P. ochrochloron* (23,8%); в загрязнённой ДТ – *P. ochrochloron* (30%); в варианте ДТ + Б – *Geomyces pannorum* (25,9%), *P. ochrochloron* (25,9%); в вариантах ДТ + Г и ДТ + (Б + Г) – *P. simplicissimum* (98 и 93,9% соответственно), входящий в состав консорциума.

Спустя 90 сут во всех вариантах опыта по количеству видов также преобладали грибы р. *Penicillium*. В незагрязнённой почве доминировал по обилию гриб *P. simplicissimum* (25,3%); в загрязнённой ДТ – *Cephalosporium asperum* (27,5%); в варианте ДТ + Б – *P. simplicissimum* (30,2%); в вариантах ДТ + Г и ДТ + (Б + Г) – *P. canescens* (46 и 48% соответственно). Необходимо отметить, что вид *P. canescens* входит в состав консорциума и становится доминирующим в составе изменённого сообщества.

Фитотоксичность микромицетов-деструкторов НП. Известно, что в результате перестройки в видовой структуре грибных сообществ доминирующие позиции в нефтезагрязнённых почвах занимают сильные токсино-образователи, что может выступать в качестве дополнительного фактора, обуславливающего высокую токсичность нефтезагрязнённой почвы по отношению к растениям. Поэтому важно подобрать такие группы МО, которые бы наносили минимальный урон ОС и были экологически безопасными.

Культуральная жидкость всех исследованных штаммов микромицетов в той или иной степени подавляла всхожесть семян тест-растений. Максимальная степень фитотоксичности наблюдалась у гриба *P. simplicissimum* st.1, угнетающего всхожесть семян кресс-салата на 92% и пшеницы на 30%. Следует отметить, что стерильная среда Чапека снижала всхожесть семян на 17% у кресс-

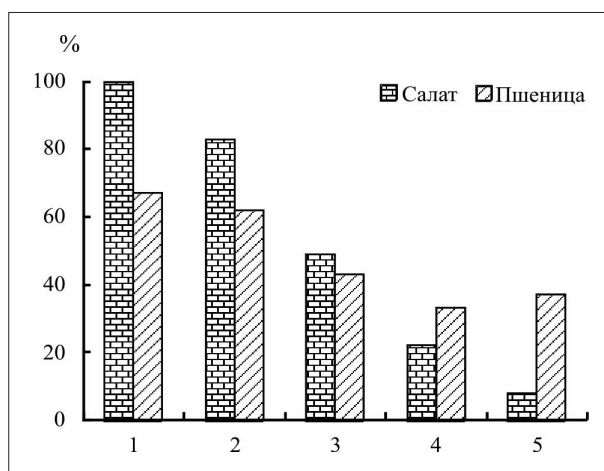


Рис. 3. Всхожесть семян тест-растений: 1 – контроль (вода); 2 – контроль среда; 3 – *Penicillium commune*; 4 – *P. canescens*; 5 – *P. simplicissimum* st.1

Fig. 3. Germination of test plants seeds: 1 – control (water); 2 – control medium; 3 – *Penicillium commune*; 4 – *P. canescens*; 5 – *P. simplicissimum* st.1

салата и на 5% у пшеницы. Наименьшую степень подавления всхожести семян проявлял вид *P. commune* (29% для кресс-салата и 24% для пшеницы), активный деструктор НП, входящий в состав консорциума (рис. 3).

Заключение

Таким образом, использование консорциумов аборигенных микроорганизмов-нефтедеструкторов ускоряет процесс разложения НП в окультуренной Al-Fe гумусовой почве на 10–20%, наиболее активно этот процесс протекает в первые 2 месяца. За 120 сут процент разложения НП в варианте с консорциумом на основе бактерий и грибов составил 82% от исходного. Вероятно, его использование будет наиболее эффективным в почвах Кольского Севера, поскольку они имеют кислую реакцию среды.

Внесение в почву консорциумов бактерий и грибов изменяет численность и структуру сообществ аборигенных МО. В вариантах с использованием грибных консорциумов в почве доминировал *Penicillium canescens*, входящий в состав последнего. Вид *P. commune*, являясь активным деструктором НП, проявлял свойства фитотоксичности в наименьшей степени, по сравнению с другими видами. Он угнетал развитие семян пшеницы на 24% и кресс-салата на 29%. Следовательно, данный вид может быть перспективным для создания био-

препарата и рекомендован в использовании при биоремедиации почв, загрязнённых НП.

Проведение полевых работ выполняли в рамках проекта Коларктик КО 1001, лабораторные эксперименты и обобщение полученных результатов – в рамках темы НИР по госзаданию АААА-А18-118021490070-5.

Авторы выражают благодарность д. б. н., профессору Г. А. Евдокимовой за ценные советы в ходе проведения работы, а также сотрудникам к. б. н. В. А. Мязину за помощь в освоении метода определения НП и к. т. н. Н. В. Фокиной за предоставление бактериальных культур для проведения опыта.

Литература

- Grotenhuis T., Fied L., Wasseveld R., Rulkens W. Biodegradation of polyaromatic hydrocarbons (PAH) in polluted soil by the white – rot fungus *Bjerkandera* // Chemical technology and biotechnology. 1998. V. 71. No. 4. P. 359–360.
- Adams G.O., Fufeyin P.T., Okoro S.E., Ehinomen I. Bioremediation, biostimulation and bioaugmentation: a review // Internat. Journ. of Environmental Bioremediation and Biodegradation. 2015. V. 3. No. 1. P. 28–39.
- Pinedo-Rivilla C., Aleu J., Collado I.G. Pollutants biodegradation by fungi // Current Organic Chemistry. 2009. V. 13. No. 12. P. 1194–1214.
- Позднякова Н.Н., Баландина С.А., Турковская О.В. Деградационная активность грибов по отношению к углеводородам нефти в условиях повышенной температуры // Теоретическая и прикладная экология. 2019. № 4. С. 69–75.
- Коршунова Т.Ю., Четвериков С.П., Логинов О.Н. Перспективы использования консорциума углеводородокисляющих микроорганизмов для очистки нефтезагрязнённой почвы крайнего Севера // Теоретическая и прикладная экология. 2016. № 1. С. 88–94.
- Овсянникова В.С., Филатов Д.А., Алтунина Л.К., Сваровская Л.И. Биодеструкция углеводородов высоковязкой нефти почвенными микроорганизмами // Химия в интересах устойчивого развития. 2014. № 22. С. 489–495.
- Ghazali F.M., Rahman R.N., Salleh A.B., Basri M. International biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium // Biodeterioration & Biodegradation. 2004. V. 54. No. 1. P. 61–67.
- Joо H.S., Ndegwa P.M., Shoda M., Phae C.G. Bioremediation of oil-contaminated soil using *Candida catenulate* and food waste // Environmental Pollution. 2008. V. 156. No. 3. P. 891–896.
- Киреева Н.А., Григориади А.С., Хайбуллина Е.Ф. Ассоциации углеводородокисляющих микроорганизмов для биоремедиации нефтезагрязнённых почв // Вестник Башкирского университета. 2009. Т. 14. № 2. С. 391–394.
- Korneykova M.V., Chaporgina A.A., Redkina V.V. Oil destructive activity of fungi isolated from the soils of the Kola Peninsula Urbanization // Challenge and Opportunity for Soil Functions and Ecosystem Services: Proceedings of the 9th Suitma Congress / Eds. V. Vasenev, E. Dovytyarova, Z. Cheng, T. Prokofieva, J. Morel, N. Ananyeva. Springer, 2019. P. 123–134.
- Evdokimova G.A., Masloboev V.A., Mozgova N.P., Myazin V.A., Fokina N.V. Bioremediation of oil-polluted cultivated soils in the Euro-Arctic Region // Environmental Science and Engineering. 2012. V. 1. No. 9. P. 1130–1136.
- Мязин В.А., Фокина Н.В. Использование биоремедиации для очистки нефтезагрязнённых почв в условиях Кольского Севера // Проблемы рекультивации отходов быта, промышленного и сельскохозяйственного производства. Краснодар: КубГАУ, 2017. 815 с.
- Другов Ю.С., Родин А.А. Экологические анализы при разливах нефти и нефтепродуктов. М.: БИНОМ, 2007. 270 с.
- Билай В.И., Коваль Э.З. Рост грибов на углеводородах нефти. Киев: Наукова Думка, 1980. 254 с.
- Мязин В.А., Евдокимова Г.А. Биологическая активность почв северных приполярных областей при загрязнении нефтепродуктами // Инженерная экология. 2012. № 1. С. 17–23.

References

- Grotenhuis T., Fied L., Wasseveld R., Rulkens W. Biodegradation of polyaromatic hydrocarbons (PAH) in polluted soil by the white – rot fungus *Bjerkandera* // Chemical technology and biotechnology. 1998. V. 71. No. 4. P. 359–360. doi: 10.1002/(SICI)1097-4660(199804)71:4<359:AID-JCTB840>3.0.CO;2-Y
- Adams G.O., Fufeyin P.T., Okoro S.E., Ehinomen I. Bioremediation, biostimulation and bioaugmentation: a review // Internat. Journ. of Environmental Bioremediation and Biodegradation. 2015. V. 3. No. 1. P. 28–39. doi: 10.12691/ijebb-3-1-5
- Pinedo-Rivilla C., Aleu J., Collado I.G. Pollutants biodegradation by fungi // Current Organic Chemistry. 2009. V. 13. No. 12. P. 1194–1214. doi: 10.2174/138527209788921774
- Pozdnyakova N.N., Balandina S.A., Turkovskaya O.V. Degradative activity of fungi towards oil hydrocarbons under high temperature // Theoretical and Applied Ecology. 2019. No. 4. P. 69–75 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-4-069-075
- Korshunova T.Y., Chetverikov S.P., Loginov O.N. Prospects of using a consortium of hydrocarbon-oxidizing microorganisms for cleaning oil-polluted soil of the extreme North // Theoretical and Applied Ecology. 2016. No. 1. P. 88–94 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2016-1-095-097
- Ovsyannikova V.S., Filatov D.A., Altunina L.K., Svarovskaya L.I. Biodegradation of high-viscosity oil hydrocarbons by soil microorganisms // Khimiya v inte-

resakh ustoychivogo razvitiya. 2014. No. 22. P. 489–495 (in Russian).

7. Ghazali F.M., Rahman R.N., Salleh A.B., Basri M. International Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium // *Biodeterioration & Biodegradation*. 2004. V. 54. No. 1. P. 61–67. doi: 10.1016/j.ibiod.2004.02.002

8. Joo H.S., Ndegwa P.M., Shoda M., Phae C.G. Bioremediation of oil-contaminated soil using *Candida catenulate* and food waste // *Environmental Pollution*. 2008. V. 156. No. 3. P. 891–896. doi: 10.1016/j.envpol.2008.05.026

9. Kireyeva N.A., Grigoriadi A.S., Khaybullina E.F. Association of hydrocarbon oxidizing microorganisms for bioremediation of oil contaminated soils // *Vestnik Bashkirskogo universiteta*. 2009. V. 14. No. 2. P. 391–394 (in Russian).

10. Korneykova M.V., Chaporgina A.A., Redkina V.V. Oil destructive activity of fungi isolated from the soils of the Kola Peninsula Urbanization // *Challenge and Opportunity for Soil Functions and Ecosystem Services: Proceedings of the 9th Suitma Congress* / Eds. V. Vase-nev, E. Dovletyarova, Z. Cheng, T. Prokofieva, J. Morel,

N. Ananyeva. Springer, 2019. P. 123–134. doi: 10.1007/978-3-319-89602-1_16

11. Evdokimova G.A., Masloboev V.A., Mozgova N.P., Myazin V.A., Fokina N.V. Bioremediation of oil-polluted cultivated soils in the Euro-Arctic Region // *Environmental Science and Engineering*. 2012. V. 1. No. 9. P. 1130–1136.

12. Myazin V.A., Fokina N.V. Use of bioremediation for cleaning oil-contaminated soils in the conditions of the Kola North // *Problemy rekultivatsii otkhodov byta, promyshlennogo i selskokhozyaystvennogo proizvodstva*. Krasnodar: KubGAU, 2017. 815 p. (in Russian).

13. Drugov Y.S., Rodin A.A. Environmental analyzes for oil spills and oil products. Moskva: BINOM, 2007. 270 p. (in Russian).

14. Bilaj V.I., Koval E.Z. The growth of fungi on petroleum hydrocarbons. Kiev: Naukova dumka, 1980. 254 p. (in Russian).

15. Myazin V.A., Evdokimova G.A. The biological activity of the soil of the northern polar regions when oil pollution // *Inzhenernaya ekologiya*. 2012. No. 1. P. 17–23 (in Russian).

Перекисное окисление липидов в клетках растений в условиях загрязнения среды тяжёлыми металлами

© 2020. А. С. Петухов, магистрант, Н. А. Хритохин, к. х. н., профессор,
Г. А. Петухова, д. б. н., профессор, Т. А. Кремлева, д. х. н., профессор,
Тюменский государственный университет,
625003, Россия, г. Тюмень, ул. Володарского, д. 6,
e-mail: revo251@mail.ru

Работа выполнена с использованием модельного эксперимента с загрязнением торфа и минерального субстрата ионами тяжёлых металлов (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+}). Транслокация металлов из минерального субстрата в растения оказалась более выраженной. При совместном внесении поллютантов наблюдались эффекты антагонизма ($\text{Cu}+\text{Zn}$, $\text{Fe}+\text{Mn}$, $\text{Pb}+\text{Cd}$ в минеральном субстрате) и синергизма ($\text{Pb}+\text{Cd}$ в органогенном субстрате) по уровню аккумуляции металлов растениями. Показано, что проростки овса успешно справляются со стрессом, вызванным загрязнением торфа Fe, Mn, Pb и Cd, что нашло отражение в снижении содержания диеновых конъюгатов и оснований Шиффа в клетках. В опыте с минеральным субстратом уровень продуктов перекисного окисления липидов в клетках выше, внесение Cu, Zn, Fe и Pb в субстрат провоцировало усиление процессов окисления в клетках. Отношение диеновых конъюгатов к основаниям Шиффа снижалось при накоплении овсом Cu, Zn, Pb и Cd и повышалось при аккумуляции Fe и Mn. Соотношение первичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов рекомендуется использовать как показатель повреждаемости и устойчивости растений в ответ на стресс.

Ключевые слова: тяжёлые металлы, овёс посевной, перекисное окисление липидов, транслокация.

Lipid peroxidation in plants cells under conditions of environmental heavy metal contamination

© 2020. A. S. Petukhov ORCID: 0000-0003-2906-174X³
N. A. Kritokhin ORCID: 0000-0002-8157-8677³
G. A. Petukhova ORCID: 0000-0003-0580-2283³
T. A. Kremleva ORCID: 0000-0001-9229-4912³
University of Tyumen,
6, Volodarskogo St., Tyumen, Russia, 625003,
e-mail: revo251@mail.ru

The investigation was conducted with the implementation of the model experiment of organogenic and mineral substrate contamination by heavy metals (Cu, Zn, Fe, Mn, Pb, Cd). It was discovered that metal translocation from contaminated substrate to the cultivated oat was more expressed in the mineral substrate. When pollutants were combined in substrate effects of antagonism ($\text{Cu}+\text{Zn}$, $\text{Fe}+\text{Mn}$, $\text{Pb}+\text{Cd}$ in mineral substrate) and synergism ($\text{Pb}+\text{Cd}$ in organogenic substrate) by the plant accumulation were obtained. The maximum concentration of examined metals was registered in the roots of oat. Oat successfully handled the stress from organogenic substrate pollution by Fe, Mn, Pb and Cd, which reflected in the reducing of diene conjugates and Schiff bases in cells. This result can be explained by the activation of antioxidant systems in the oat. In the experiment with mineral substrate concentration of lipid peroxidation products in cells was higher, treatment with Cu, Zn, Fe and Pb provoked oxidation in cells. The correlation between Pb content in the oat and lipid peroxidation products concentration was observed. The ratio of diene conjugates to Schiff bases declined when oat was treated with Cu, Zn, Pb and Cd and rose in treatment by Fe and Mn. That result was assigned to the difference in stability of various complex substances of heavy metals with intermediate lipid peroxidation products and Schiff bases. It is recommended to use the ratio of diene conjugates to Schiff bases as the index of damageability and persistence of plants in the response to stress.

Keywords: heavy metals, cultivated oat, lipid peroxidation, translocation.

Пути миграции тяжёлых металлов (ТМ) в окружающей среде многочисленны. Металлы могут активно поглощаться и накапливаться растениями в количествах, превышающих необходимость в них, и по пищевым цепям поступать в организм человека [1, 2]. Опасность ТМ усугубляется ещё наличием кумулятивного действия [3, 4]. Тяжёлые металлы подавляют рост растений путём снижения интенсивности клеточных делений, а также нарушением растяжения клеток [1, 5].

Одним из важнейших процессов повреждения клеток является перекисное окисление липидов (ПОЛ). Оно провоцируется активными формами кислорода (АФК) – супероксидного анион радикала ($\cdot\text{O}_2^-$), синглетной формы кислорода ($^1\text{O}_2$), гидроксильного радикала ($\cdot\text{OH}$), перекиси водорода (H_2O_2) или свободными радикалами $\cdot\text{NO}_2$, $\cdot\text{RO}$, $\cdot\text{ROO}$ [6, 7]. Основными генераторами АФК являются хлоропласты, митохондрии и пероксисомы [8].

Основными причинами возникновения окислительного стресса в клетках растений в присутствии ТМ являются: ингибирующее действие их ионов на скорость электронного транспорта на мембранах хлоропластов и митохондрий, изменения в структуре антиоксидантных ферментов, а также замена в молекуле необходимых ионов металлов на токсичные ионы, что приводит к снижению их активности [1, 5, 9]. Кроме того, сообщалось, что ТМ способны активировать липоксигеназу [8]. Наконец, в присутствии ТМ уменьшается содержание антиоксидантных неферментных соединений, таких как глутатион. Металлы переменной валентности могут катализировать процесс ПОЛ, участвуя в образовании свободных радикалов путём отдачи электрона. Также они могут принимать участие в цикле Габера-Вейса и генерировать АФК [5, 8].

Процесс ПОЛ является цепной реакцией. Первичными продуктами ПОЛ являются диеновые конъюгаты:



Конечными продуктами ПОЛ являются основания Шиффа (азометины). Азометины имеют общую формулу $\text{R}_1\text{R}_2\text{C}=\text{N}-\text{R}_3$ [10]. Развитие процессов ПОЛ приводит к увеличению проницаемости липидного бислоя, электрическому пробое мембран, потере мембраной её барьерных функций и гибели клетки [9, 10].

Целью исследования стало изучение содержания продуктов ПОЛ в клетках овса посевного (*Avena sativa* L.) в условиях загрязнения среды ТМ (Cu, Zn, Fe, Mn, Pb, Cd).

Материалы и методы исследования

Материалом для исследований стали проростки овса посевного после проведения 14-суточного эксперимента. Среди ТМ выбрали пары элементов: Cu, Zn; Fe, Mn; Pb и Cd. При проведении экспериментов использовали кристаллогидраты сульфатов ТМ: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ и ацетат свинца: $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Выбор ацетата свинца связан с его растворимостью в воде, в отличие от сульфата. Сульфат-ионы, в отличие от хлоридов и нитратов, являются более инертными, и не вызывают существенных пагубных или стимулирующих эффектов.

Для выращивания растений использовали органогенный субстрат (торфосодержащий грунт) и минеральный субстрат (отмытый речной песок). Загрязнение субстратов Cu, Zn и Mn проводилось на уровне двух предельно допустимых концентраций (ПДК) по валовому содержанию этих элементов в почве (ПДК: Cu – 55 мг/кг, Zn – 100 мг/кг, Mn – 1500 мг/кг). Для Fe, в силу отсутствия такого норматива, было решено вносить его в количестве, равном количеству Mn. Вносимые количества Pb и Cd были установлены на уровне двух ориентировочно допустимых концентраций (ОДК) по валовому содержанию этих металлов в почве (260 мг/кг для Pb и 4 мг/кг для Cd). Выбор ОДК обусловлен тем, что фоновые содержания свинца в почвах часто превышают установленное значение ПДК в 30 мг/кг [2], а значение ПДК для Cd не установлено. Навески сульфатов (в пересчёте на количество элемента) тщательно перемешивали с субстратом, а затем помещали в них семена овса. В таблице 1 отображены варианты эксперимента и концентрации вносимых загрязнителей (контроль в таблице не приведён в связи с отсутствием поллютантов).

Каждый вариант опыта проводили в 10 повторностях, в каждой повторности было 30 семян овса. Объём пластиковой ёмкости для выращивания растений составлял 0,5 дм³. Влажность субстрата составляла 30%. Растения росли в равных условиях по освещённости (10 000 люкс) и температуре 25 °С.

Элементный анализ тканей овса на содержание Pb и Cd проводили с использованием атомно-абсорбционного спектрофотометра «ContrAA 700» фирмы AnalyticJena (электротермическая и пламенная атомизация) путём растворения золы растений в 5М HNO_3 . Определение продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов

Таблица 1 / Table 1
Концентрации вносимых загрязнителей в модельных экспериментах
Concentrations of pollutants in model experiments

Тип субстрата Substrate type	Вариант опыта Test group	Модельное загрязнение, мг/кг Model pollution, mg/kg					
		эксперимент I experiment I		эксперимент II experiment II		эксперимент III experiment III	
		Cu	Zn	Mn	Fe	Pb	Cd
Органогенный Organogenic	O1	110	–	3000	–	260	–
	O2	–	200	–	3000	–	4
	O3	110	200	3000	3000	260	4
Минеральный Mineral	O1	110	–	3000	–	260	–
	O2	–	200	–	3000	–	4
	O3	110	200	3000	3000	260	4

Примечание: O1, O2 – вариант опыта, где вносился только один исследуемый металл; O3 – вариант совместного действия двух металлов; прочерк указывает отсутствие загрязнителя.

Note: O1, O2 – test groups, where only one examined metal was applied; O3 – test group of combined effect from two heavy metals; dash indicates absence of pollutants.

и оснований Шиффа проводили в экстракте гептан-изопропанол (1:1) на спектрофотометре SmartSpecPlus при $\lambda = 233$ нм и $\lambda = 365$ нм соответственно [11]. В эксперименте I изучение содержания продуктов ПОЛ было осуществлено только для опытов с минеральным субстратом.

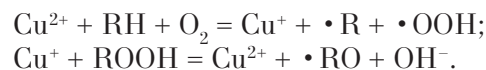
В ранее проведенных исследованиях [12, 13] было показано, что проращивание овса посевного привело к большему накоплению Cu, Zn, Fe, Mn, Pb, Cd в тканях растений в эксперименте с минеральным субстратом. По способности к транслокации исследуемые металлы располагаются: Cd > Pb = Mn > Cu > Zn > Fe. При совместном внесении загрязнителей в субстрат наблюдались эффекты антагонизма (Cu+Zn, Fe+Mn в минеральном субстрате, Pb+Cd в минеральном субстрате) и синергизма (Pb+Cd в торфе) по аккумуляции металлов растениями.

Результаты и обсуждение

Аккумуляция растениями ТМ из минерального субстрата в эксперименте I привела к смещению окислительно-восстановительного равновесия в клетках растений (табл. 2). Увеличение содержания оснований Шиффа в 2 раза и диеновых конъюгатов на 15–20% наблюдалось во всех вариантах опыта.

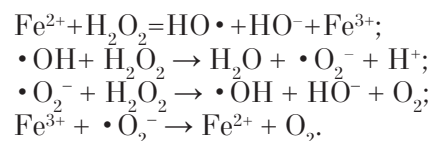
В случае совместного воздействия двух металлов эффект оказался менее выраженным, что связано с вышеупомянутым антагонистическим действием Cu и Zn. Известно, что ионы переходных металлов переменной валентности являются катализаторами ПОЛ. Эффект воз-

действия Cu на активацию процессов ПОЛ можно выразить следующими возможными реакциями:



Увеличение содержания продуктов ПОЛ в варианте O2 (Zn) связано с воздействием Zn на антиоксидантную систему, приводящему к развитию окислительных процессов. Кроме того, существует гипотеза [14], по которой Zn в биологических системах может стабильно существовать в одновалентной форме. В таком случае, возможно участие окислительно-восстановительной пары $\text{Zn}^{2+}/\text{Zn}^+$ в реакциях Фентона и Габера-Вейса.

В эксперименте II (Fe, Mn) было обнаружено, что содержание продуктов ПОЛ в вариантах и с минеральным субстратом, и с торфом было снижено (табл. 2, 3). Исключением является вариант O2 (Fe) в эксперименте с минеральным субстратом. Возможно, это обусловлено вступлением ионов Fe^{2+} в реакции Фентона и Габера-Вейса с образованием гидроксильного радикала, являющегося самым мощным окислителем:



Наблюдаемое снижение содержания продуктов ПОЛ в остальных вариантах эксперимента может быть обусловлено актива-

Таблица 2 / Table 2

Содержание продуктов ПОЛ в клетках овса в опыте с минеральным субстратом
Concentration of lipid peroxidation products in oat cells in the experiment with mineral substrate

Вариант опыта Test group	Диеновые конъюгаты, усл. ед./мг липидов Conjugated dienes, relative unit/mg of lipids	Основания Шиффа, усл. ед./мг липидов Schiff bases, relative unit/mg of lipids	Отношение диеновых конъюгатов к основаниям Шиффа Conjugated dienes to Schiff bases ratio
Эксперимент I (Cu, Zn) / Experiment I (Cu, Zn)			
Контроль/Control	0,54±0,02	5,32±0,24	9,85
O1 (Cu)	1,30±0,37*	6,27±0,21*	4,82
O2 (Zn)	1,52±0,34*	6,55±0,06*	4,31
O3 (Cu+Zn)	1,20±0,13*	6,26±0,19*	5,22
Эксперимент II (Fe, Mn) / Experiment II (Fe, Mn)			
Контроль/Control	0,433±0,013	7,61±0,34	17,6
O1 (Mn)	0,315±0,063	5,86±0,11*	18,6
O2 (Fe)	0,571±0,077*	11,7±0,54*	20,6
O3 (Fe+Mn)	0,309±0,049*	5,00±0,14*	16,2
Эксперимент III (Pb, Cd) / Experiment III (Pb, Cd)			
Контроль/Control	0,57±0,05	3,62±0,29	6,31
O1 (Pb)	1,08±0,19*	3,38±0,21	3,13
O2 (Cd)	0,19±0,06*	0,41±0,01*	2,16
O3 (Pb+Cd)	0,67±0,06	5,18±0,21*	7,70

Примечание: * – статистически достоверные различия между контролем и вариантом опыта ($p \leq 0,05$).
Note: * – statistically significant differences between control and test group ($p \leq 0.05$).

Table 3 / Table 3

Содержание продуктов ПОЛ в клетках овса в опыте с торфом / Concentration of lipid peroxidation products in oat cells in the experiment with organogenic substrate

Вариант опыта Test group	Диеновые конъюгаты, усл. ед./мг липидов Conjugated dienes, relative unit/mg of lipids	Основания Шиффа, усл. ед./мг липидов Schiff bases, relative unit/mg of lipids	Отношение диеновых конъюгатов к основаниям Шиффа Ratio of conjugated dienes to Schiff bases
Эксперимент II (Fe, Mn) / Experiment II (Fe, Mn)			
Контроль/Control	4,48±0,85	0,13±0,03	35,0
O1 (Mn)	4,36±0,15	0,17±0,03	26,4
O2 (Fe)	1,66±0,28*	0,06±0,01*	27,7
O3 (Fe+Mn)	1,64±0,23*	0,03±0,004*	60,7
Эксперимент III (Pb, Cd) / Experiment III (Pb, Cd)			
Контроль/Control	7,71±0,65	0,25±0,02	30,8
O1 (Pb)	1,87±0,16*	0,33±0,03	5,70
O2 (Cd)	1,82±0,18*	0,36±0,02*	5,06
O3 (Pb+Cd)	2,92±0,24*	0,12±0,01*	23,6

Примечание: * – статистически достоверные различия между контролем и вариантом опыта ($p \leq 0,05$).
Note: * – statistically significant differences between control and test group ($p \leq 0.05$).

цией антиоксидантных систем и связыванием активных форм кислорода. В связи с более выраженной транслокацией металлов в эксперименте с минеральным субстратом уровень продуктов ПОЛ выше, чем в эксперименте с торфом.

В эксперименте III в условиях органогенной среды, где транслокация Pb и Cd затруднена гумусовыми кислотами, растения успешно справляются со стрессом актива-

цией антиоксидантов, что нашло отражение в снижении содержания продуктов ПОЛ в 2,5–4 раза (табл. 2). Кроме того, зафиксирована отрицательная корреляция между содержанием Pb и основаниями Шиффа ($R = -0,76$).

В условиях минерального субстрата транслокация металлов более выражена, справиться со стрессом овсу удалось лишь при внесении кадмия, а внесение свинца в вариан-

тах О1 и О3 приводит к увеличению содержания оснований Шиффа на 90% и диеновых конъюгатов на 40% соответственно для этих вариантов (табл. 3). Была обнаружена положительная корреляция содержания свинца в надземной части растений с содержанием оснований Шиффа ($R = 0,87$).

Содержание конечных продуктов ПОЛ – оснований Шиффа было ниже содержания первичных продуктов – диеновых конъюгатов как минимум в 2–3 раза. Вероятно, это связано с незначительным накоплением оснований Шиффа из-за небольшого срока проведения эксперимента.

Кроме того, представляет интерес изучение соотношения первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов к конечным продуктам – основаниям Шиффа (табл. 2, 3). Было обнаружено, что транслокация Cu и Zn снижает отношение содержания диеновых конъюгатов к основаниям Шиффа. Это объясняется тем, что Cu^{2+} и Zn^{2+} являются N-активными комплексообразователями [15] и способны образовывать комплексные соединения с основаниями Шиффа, уменьшая их содержание и тем самым сдвигая равновесие в сторону их большего синтеза. Действие Fe в опыте с минеральным субстратом было обратным. Так как Fe является активным комплексообразователем с оксодонорными лигандами [15], то образуются комплексы Fe с промежуточным продуктом ПОЛ – малоновым диальдегидом и другими α -, β -дикарбонильными соединениями. Связывание этих дикарбонильных соединений приводит к блокированию синтеза оснований Шиффа, их концентрация снижается, отношение диеновых конъюгатов к основаниям Шиффа возрастает. Внесение Cd также снижает отношение диеновых конъюгатов к основаниям Шиффа, вероятно, по механизму, описанному для Cu и Zn. Между содержанием Cd и основаниями Шиффа в опыте с минеральным субстратом выявлена отрицательная корреляция ($R = -0,71$), что свидетельствует о комплексообразовании азометиннов с Cd.

Действие Fe и Mn в опыте с торфом, где их содержание в растениях ниже, приводит к снижению изучаемого соотношения продуктов ПОЛ в вариантах О1 и О2 (табл. 2). Вероятно, из-за меньшего содержания Fe и Mn на первое место выходит не эффект комплексообразования, а окислительно-восстановительная подвижность этих элементов: $Fe^{3+} + RH + O_2 = Fe^{2+} + \cdot ROO + H^+$. Образовавшиеся свободные радикалы, судя по уменьшению содержания продуктов ПОЛ, успешно перехватывались

антиоксидантами, что приводило к уменьшению содержания диеновых конъюгатов. Однако те радикалы, которые успели прореагировать, перешли в конечные продукты – основания Шиффа, доля которых возросла. Однако при взаимном внесении Fe и Mn в варианте О3, вероятно, в связи с большим содержанием ТМ в растениях первостепенным является комплексообразование с промежуточными продуктами ПОЛ. Это нашло отражение в повышении соотношения продуктов ПОЛ (табл. 3).

Действие Pb на уменьшение отношения диеновые конъюгаты/основания Шиффа в связи с его низкой комплексообразующей способностью и окислительно-восстановительной подвижностью может быть также связано с активацией антиоксидантов, снижением уровня свободных радикалов и увеличением доли основания Шиффа (табл. 2, 3).

Таким образом, соотношение продуктов ПОЛ можно рассматривать как характеристику повреждаемости и устойчивости растений в ответ на стресс. Увеличение содержания диеновых конъюгатов в клетках и повышение соотношения диеновые конъюгаты/основания Шиффа можно считать индикатором повреждения липидов клеточных мембран. Снижение соотношения диеновые конъюгаты/основания Шиффа указывает на активацию антиоксидантной защиты и устойчивость организма на действие загрязнителя.

Кроме того, соотношение продуктов ПОЛ способно отражать стадию окислительных процессов и потенциал действия поллютанта. Поскольку диеновые конъюгаты являются первичными продуктами ПОЛ, то на начальном этапе ответной реакции организма на стресс они генерируются и их содержание превышает уровень оснований Шиффа. Однако с течением времени потенциал действия стресс-фактора снижается либо из-за развития окислительных процессов и истощения субстрата окисления, либо из-за успешной активации антиоксидантных систем. В любом из указанных случаев доля оснований Шиффа растёт, а соотношение диеновые конъюгаты/основания Шиффа сокращается.

Выводы

Овёс успешно справляется со стрессом, вызванным загрязнением торфа Fe, Mn, Pb и Cd, что проявляется в снижении содержания продуктов ПОЛ и объясняется меньшей транслокацией металлов, а также активацией

антиокислительных механизмов. Внесение **Cu, Zn, Fe и Pb** провоцировало усиление процессов окисления в клетках.

Отношение диеновых конъюгатов к основаниям Шиффа снижалось при накоплении овым **Cu, Zn, Pb и Cd** и повышалось при аккумуляции **Fe и Mn**, что связано с различной стабильностью возможных комплексных соединений металлов с промежуточными продуктами ПОЛ – α -, β -дикарбонильными соединениями и основаниями Шиффа, а также с действием антиоксидантных систем.

Отношение диеновых конъюгатов к основаниям Шиффа рекомендуется использовать как показатель повреждаемости и устойчивости растений.

Литература

1. Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. Тяжёлые металлы и растения. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014. 194 с.
2. Каббата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. М.: Мир, 1989. 440 с.
3. Hassanein R.A., Hashem H.A., El-Deep M.H., Shouman A. Soil contamination with heavy metals and its effect on growth, yield and physiological responses of vegetable crop plants (turnip and lettuce) // Journal of stress physiology and biochemistry. 2013. No. 4. P. 145–162.
4. Ashraf U., Kanu A.S., Mo Z., Hussain S. Lead toxicity in rice: effects, mechanisms, and mitigation strategies: a mini-review // Environ. Sci. Pollut. Res. 2015. No. 22. P. 18318–18332.
5. Скугорева С.Г., Ашихмина Т.Я., Фокина А.И., Лялина Е.И. Химические основы токсического действия тяжёлых металлов (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2016. № 1. С. 4–13.
6. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. Antioxidants, oxidative stress and oxygen deprivation stress: a review // Annals of Botany. 2001. No. 91. P. 179–194.
7. Skorzynska-Polit E. Lipid peroxidation on plant cells, its physiological role and changes under heavy metal stress // Acta Societatis Botanicorum Poloniae. 2007. No. 74. P. 49–54.
8. Emamverdian A., Ding Y., Mokhberdoran F. Review article heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response // The Scientific World Journal. 2015. No. 4. P. 1–18.
9. Anjum N.A., Sofo A., Scopa A., Roychoudhury A. Lipids and proteins – major targets of oxidative modifications in abiotic stressed plants // Environmental Science and Pollution Research. 2015. No. 22. P. 4099–4121.
10. Catala A., Diaz M. Impact of lipid peroxidation on the physiology and pathophysiology of cell membranes. Lausanne: FrontiersMedia, 2017. 90 p.
11. Шведова А.А., Полянский Н.Б. Метод определения конечных продуктов перекисного окисления

липидов в тканях – флуоресцирующих шиффовых оснований // Исследование синтетических и природных антиоксидантов in vitro и in vivo. М.: Наука, 1992. С. 72–73.

12. Петухов А.С., Хритохин Н.А., Петухова Г.А., Кремлева Т.А. Влияние **Pb и Cd** на биохимические показатели *Avena sativa* (Poaceae, Liliopsida) // Поволжский экологический журнал. 2018. № 1. С. 49–59.

13. Петухов А.С., Хритохин Н.А., Петухова Г.А., Кудрявцев А.А. Транслокация меди, цинка, железа и марганца в ткани овса посевного (*Avena sativa* L., 1753) // Известия Саратовского университета. Новая Серия: Химия. Биология. Экология. 2018. № 1. С. 65–70.

14. Михайлова И.Д., Лукаткин А.С. Перекисное окисление липидов в растениях огурца и редиса при действии тяжёлых металлов // Известия Саратовского университета. Новая Серия: Химия. Биология. Экология. 2016. № 2. С. 206–210.

15. Хьюи Дж. Неорганическая химия. Строение вещества и реакционная способность. М.: Химия, 1987. 347 с.

References

1. Titov A.F., Kaznina N.M., Talanova V.V. Heavy metals and plants. Petrozavodsk: Karelskiy nauchnyy tsentr RAN, 2014. 194 p. (in Russian).
2. Kabbata-Pendias A., Pendias Kh. Microelements in soils and plants. Moskva: Mir, 1989. 440 p. (in Russian).
3. Hassanein R.A., Hashem H.A., El-Deep M.H., Shouman A. Soil contamination with heavy metals and its effect on growth, yield and physiological responses of vegetable crop plants (turnip and lettuce) // Journal of stress physiology and biochemistry. 2013. No. 4. P. 145–162.
4. Ashraf U., Kanu A.S., Mo Z., Hussain S. Lead toxicity in rice: effects, mechanisms, and mitigation strategies: a mini-review // Environ. Sci. Pollut. Res. 2015. No. 22. P. 18318–18332. doi: 10.1007/s11356-015-5463-x
5. Skugoreva S.G., Ashikhmina T.Ya., Fokina A.I., Lyalina E.I. Chemical grounds of toxic effect of heavy metals (review) // Theoretical and Applied Ecology. 2016. No. 1. P. 4–13 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2016-014-019
6. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. Antioxidants, oxidative stress and oxygen deprivation stress: a review // Annals of Botany. 2001. No. 91. P. 179–194. doi: 10.1093/aob/mcf118
7. Skorzynska-Polit E. Lipid peroxidation on plant cells, its physiological role and changes under heavy metal stress // Acta Societatis Botanicorum Poloniae. 2007. No. 74. P. 49–54.
8. Emamverdian A., Ding Y., Mokhberdoran F. Review article heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response // The Scientific World Journal. 2015. No. 4. P. 1–18. doi: 10.1155/2015/756120
9. Anjum N.A., Sofo A., Scopa A., Roychoudhury A. Lipids and proteins – major targets of oxidative modifica-

tions in abiotic stressed plants // Environmental Science and Pollution Research. 2015. No. 22. P. 4099–4121. doi: 10.1007/s11356-014-3917-1.

10. Catala A., Díaz M. Impact of lipid peroxidation on the physiology and pathophysiology of cell membranes. Lausanne: Frontiers Media, 2017. 90 p. doi: 10.3389/fphys.2016.00423

11. Shvedova A.A., Polyanskiy N.B. Method for primary lipid peroxidation products evaluation – fluorescent Schiff bases // Issledovaniye sinteticheskikh i prirodnykh antioksidantov in vitro i in vivo. Moskva: Nauka, 1992. P. 72–73 (in Russian).

12. Petukhov A.S., Khritokhin N.A., Petukhova G.A., Kremleva T.A. Pb and Cd influence on biochemical indices of *Avena sativa* (Poáceae, Liliopsida) // Povolzhskiy

Journal of Ecology. 2018. No. 1. P. 49–59 (in Russian). doi: 10.18500/1684-7318-2018-1-49-59

13. Petukhov A.S., Khritokhin N.A., Petukhova G.A., Kudryavtsev A.A. Translocation of Copper, Zinc, Iron and Manganese in the Cultivated Oat (*Avena sativa* L., 1753) // Izvestiya of Saratov University. New Series. Series: Chemistry. Biology. Ecology. 2018. No. 1. P. 65–70 (in Russian). doi: 10.18500/1816-9775-2018-18-1-65-70

14. Mikhaylova I.D., Lukatkin A.S. Lipid peroxidation in cucumber and radish under heavy metal influence // Izvestiya of Saratov University. New Series. Series: Chemistry. Biology. Ecology. 2016. No. 2. P. 206–210 (in Russian). doi: 10.18500/1816-9775-2016-16-2-206-210

15. Huey G. Inorganic chemistry. Substance structure and reacting capacity. Moskva: Khimiya, 1987. 347 p. (in Russian).

Оценка влияния антибиотиков ампициллина и тилозина на ферментативную активность дерново-подзолистой почвы и их токсичности для культурных растений

© 2020. Т. А. Трифонова^{1, 2}, д. б. н., профессор,
С. М. Чеснокова², к. х. н., профессор, А. Г. Космачева², аспирант,

¹Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
119991, Россия, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12,

²Владимирский государственный университет им. А. Г. и Н. Г. Столетовых,
600000, Россия, г. Владимир, ул. Горького, д. 87,
e-mail: hijadelaluna@mail.ru

Проведено исследование влияния антибиотиков ампициллина и тилозина на каталазную, уреазную и целлюлазную активности дерново-подзолистой слабоокультуренной почвы и их токсичности для культурных растений при индивидуальном и комбинированном воздействии. Токсичность антибиотиков для культурных растений определяли методом биотестирования. В качестве тест-объектов использовали семена *Raphanus sativus* L. var. *sativus* и *Triticum aestivum* L. Эффекты ингибирования ферментативной активности зависят как от вида антибиотиков, так и от их концентрации. Показано, что исследованные антибиотики наиболее опасны для фермента целлюлазы. Наиболее сильно ингибирует целлюлазу ампициллин (на 96%), при концентрации 600 мг/кг почвы. Концентрации, снижающие активность каталазы на 50% (IC₅₀), составляют: при индивидуальном воздействии ампициллина 300 мг/кг почвы, при комбинированном воздействии ампициллина и тилозина – 600 мг/кг почвы. Тилозин даже при концентрации 600 мг/кг почвы снижает каталазную активность лишь на 28%. IC₅₀ ампициллина при индивидуальном воздействии на активность уреазы равна 400 мг/кг почвы. При индивидуальном воздействии тилозина и его комбинированном воздействии с ампициллином активность уреазы на всём диапазоне концентраций снижается на 58–63%. Наиболее чувствительным тест-параметром при изучении фитотоксичности является длина корня, а тест-организмом – пшеница мягкая озимая (*Triticum aestivum* L.). Наибольшее ингибирование роста корней и побегов у пшеницы происходит при индивидуальном действии тилозина, а у *R. sativus* L. var. *sativus* – при комбинированном действии этих антибиотиков.

Ключевые слова: антибиотики, дерново-подзолистая почва, ферментативная активность, фитотоксичность.

Evaluation of the effect of ampicillin and tylosin antibiotics on the enzymatic activity of sod-podzolic soil and their toxicity to cultivated plants

© 2020. Т. А. Trifonova^{1, 2} ORCID: 0000-0002-1628-9430^{*}

S. M. Chesnokova² ORCID: 0000-0001-5126-1786^{*}

A. G. Kosmacheva² ORCID: 0000-0002-1988-8615^{*}

¹M. V. Lomonosov Moscow State University,
1, Leninskie Gory, Moscow, Russia, 119991,

²Vladimir State University named after

Alexander Grigorievich and Nikolai Grigorievich Stoletovs,
87, Gorky St., Vladimir, Russia, 600000,

e-mail: hijadelaluna@mail.ru

The effect of antibiotics ampicillin and tylosin on the catalase, urease, and cellulase activity of sod-podzolic slightly cultured soil and their toxicity to plants under individual and combined effects has been studied. The toxicity of antibiotics for plants is determined by biotesting. The seeds of *Raphanus sativus* L. var. *sativus* and *Triticum aestivum* L. were used as test objects. It has been established that the studied antibiotics are the most dangerous for the cellulase enzyme. Cellulase is inhibited by ampicillin most strongly (by 96% at a concentration of 600 mg/kg of soil), and least of all by tylosin. They have a similar effect on catalase activity. Concentrations that reduce catalase activity by 50% (IC₅₀) are: 300 mg/kg of soil for individual effects of ampicillin, 600 mg/kg for soil for combined effects of ampicillin and tylosin. Tylosin reduces urease activity by less than 50%. Urease activity is most inhibited by tylosin, least of all by ampicillin. The IC₅₀ of ampicillin with an individual effect on urease activity is 400 mg/kg of soil. With individual exposure to tylosin and its combined exposure with ampicillin activity, urease in all ranges is reduced by 58–63%. The most sensitive test

parameter in the study of phytotoxicity is the root length, and the test organism is winter wheat (*Triticum aestivum* L.). The maximum inhibition of the growth of roots and shoots in *Triticum aestivum* L. occurs under the individual action of tylosin, and in *Raphanus sativus* L. var. *sativus* with the combined action of ampicillin and tylosin.

Keywords: antibiotics, sod-podzolic soil, enzymatic activity, phytotoxicity.

В конце XX – начале XXI веков во всех странах Европы, Азии и США в поверхностных водах и почвах были выявлены лекарственные средства, широко используемые в медицине и животноводстве [1–4]. Среди них наиболее часто обнаруживались антибиотики [5–6] – специфические продукты жизнедеятельности различных организмов, либо полусинтетические или синтетические органические вещества, обладающие высокой физиологической активностью по отношению к определённым группам микроорганизмов, избирательно задерживающие их рост, либо полностью подавляющие их развитие [7].

Причины загрязнения окружающей среды антибиотиками – широкое использование в медицине, ветеринарии, птицеводстве, растениеводстве, аквакультуре. В животноводстве их используют не только для борьбы с инфекционными болезнями, но и в качестве кормовой добавки для улучшения продуктивности животных и роста молодняка [8]. В растениеводстве антибиотики применяют в качестве регуляторов роста растений. Большинство антибиотиков хорошо растворимы в воде, из организма человека и животных они выделяются с мочой (до 90%) и экскрементами (около 75%), поэтому данные поллютанты накапливаются в осадках сточных вод и навозе, из которых поступают в почвы [9–11]. Концентрация антибиотиков в почвах различных стран изменяется от следовых количеств до 700–1000 мг/кг. По прогнозам экспертов Всемирной Торговой Организации применение антибиотиков в России ежегодно будет увеличиваться примерно на 35–40%, что приведёт к росту поступления данных поллютантов в поверхностные воды и почвы агроценозов.

В работах [10–13] показано, что ветеринарные антибиотики изменяют структуру микробиоценоза и ферментативную активность почвы.

В Российской Федерации (РФ) в настоящее время мониторинг загрязнения почв антибиотиками не проводится в силу отсутствия финансирования и интереса к антибиотикам как к потенциально-опасным загрязнителям окружающей среды. Опубликован ряд работ, в которых даны оценки последствий загрязнения антибиотиками и закономерности

их воздействия на биологические свойства чернозёма, характеризующегося значительными запасами гумуса, элементов питания, микробной биомассы и высокой биологической активностью [14–17]. Установлено, что ферментативная активность почв является чувствительным показателем воздействия антропогенных факторов на почвы [17–18].

Большую часть земельного фонда средне-таёжной и южнотаёжной зон России составляют подзолистые и дерново-подзолистые почвы. Их удельный вес от общей площади сельскохозяйственных угодий составляет 12,3 и 14% от общей площади пашен, что ставит их на второе место после чернозёмов [19]. Дерново-подзолистые почвы слабо гумусированы, бедны питательными элементами, содержат мало растительных остатков и ферментов, их микробиоценоз характеризуется слабой устойчивостью к действию различных загрязнителей [17]. На этих почвах чаще всего используют навоз и осадки сточных вод в качестве удобрений. Сведений о влиянии антибиотиков на ферментативную активность дерново-подзолистых почв ни в отечественной, ни в зарубежной литературе в настоящее время нами не обнаружено. Очень мало данных встречается также о воздействии данных поллютантов на развитие культурных растений на ранних стадиях онтогенеза. В связи с этим изучение эффектов воздействия антибиотиков на ферментативную активность дерново-подзолистых почв Нечерноземной зоны РФ и их фитотоксичности чрезвычайно актуально.

Цель работы – изучение влияния антибиотиков ампициллина и тилозина на ферментативную активность слабокультуренной дерново-подзолистой почвы методом лабораторного моделирования и на их фитотоксичность для культурных растений на ранних стадиях онтогенеза методом биотестирования.

Объекты и методы исследования

Для исследования использована дерново-подзолистая супесчаная слабокультуренная почва Меленковского района Владимирской области.

Агрохимические показатели почвы приведены в таблице.

Агрохимические показатели почвы / Agrochemical indicators

	Показатели Indicators	Значения показателей Values of indicators	Методика определения Method of determination
1	Кислотность, рН _{КСЛ} Acidity, рН _{КСЛ}	5,6±0,2	ГОСТ 26483-85 GOST 26483-85
2	P ₂ O ₅ , мг/кг P ₂ O ₅ , mg/kg	171±34,2	ГОСТ Р 54650-2011 GOST R 54650-2011
3	K ₂ O, мг/кг K ₂ O, mg/kg	119±17,85	ГОСТ Р 54650-2011 GOST R 54650-2011
4	Органическое вещество, % Organic matter, %	1,98±0,4	ГОСТ 26213-91 GOST 26213-91
5	N минеральный, мг/кг N mineral, mg/kg	12±2,4	ГОСТ 26951-86 GOST 26951-86

Как следует из таблицы, анализируемая почва бедна минеральными соединениями азота и гумусом, следовательно, отличается малой устойчивостью к воздействию различных поллютантов [16].

В работе использованы аптечные препараты ампициллин и тилозин. Ампициллин – полусинтетический бактерицидный антибиотик группы пенициллинов широкого спектра действия. Тилозин – антибиотик группы макролидов, продуцируемый *Streptomyces fradiae*, широко применяется в животноводстве как в лечебно-профилактических целях, так и в качестве стимулятора роста молодняка [7].

Отбор проб почвы проводили в соответствии с рекомендациями [19].

В исследованиях изучались ферментативная активность каталазы, уреазы и целлюлазы. Антибиотики вводили в пробы почв в количествах, соответствующих 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600 мг/кг почвы. Каталазную активность определяли по количеству пероксида водорода, неразложившегося при взаимодействии с почвой, титрованием перманганатом калия [21]. Уреазную активность оценивали по количеству аммиака, выделившегося при разложении мочевины, содержащейся в почве, под действием фермента уреазы. Количество выделившегося аммиака определяли фотоколориметрически по окраске комплекса, образовавшегося при взаимодействии с реактивом Несслера [21]. Целлюлозолитическую активность устанавливали аппликационным методом [21]. Контролем во всех опытах служила почва, не содержащая антибиотики (нулевая точка в рисунках). Опыты проводили в трёхкратной повторности. В исходной почве каталазная активность составляла $0,245 \pm 0,003 \text{ см}^3 0,1 \text{ М KMnO}_4 / (\text{г} \cdot 20 \text{ мин})$, что соответствует $1,23 \text{ см}^3 \text{ O}_2 / \text{мин}$ (бедная), уреазная

активность – $0,372 \pm 0,004 \text{ мг NH}_3 / (10 \text{ г} \cdot \text{сут})$ (очень бедная), целлюлозолитическая активность – $62,27 \pm 1,36\%$ (высокая) [22, 23].

Фитотоксичность антибиотиков для культурных растений оценивали методом биотестирования. В качестве тест-объектов использовали семена редиса (*Raphanus sativus* L. var. *sativus*) сорт Розово-красный с белым кончиком (среднеранний) и пшеницы (*Triticum aestivum* L.) мягкой озимой сорта Мера. В качестве тест-параметров определяли всхожесть семян, длину корня и высоту побегов. Каждый опыт проводили в трёх повторностях. В чашку Петри на фильтровальную бумагу помещали по 50 семян тест-объекта. Семена обрабатывали водными растворами антибиотиков в концентрациях 200, 300, 400, 500, 600, 700 мг/дм³ и выдерживали в термостате при 26 °С в течение 96 часов.

Результаты и обсуждение

Установлено, что в интервале концентраций 50–600 мг/кг почвы по ингибированию активности каталазы антибиотики располагаются в ряд: ампициллин > ампициллин + тилозин > тилозин. Таким образом, тилозин при совместном воздействии незначительно снижает токсический эффект ампициллина. Однако, во всём диапазоне концентраций антибиотиков каталазная активность изменяется незначительно, что возможно, связано с появлением антибиотикорезистентности в диапазоне концентраций 100–600 мг/кг (рис. 1).

При всех концентрациях антибиотиков в наименьшей степени ингибирует активность уреазы ампициллин, в наибольшей – тилозин. IC₅₀ ампициллина при индивидуальном воздействии на активность уреазы равна 400 мг/кг почвы. При индивидуальном

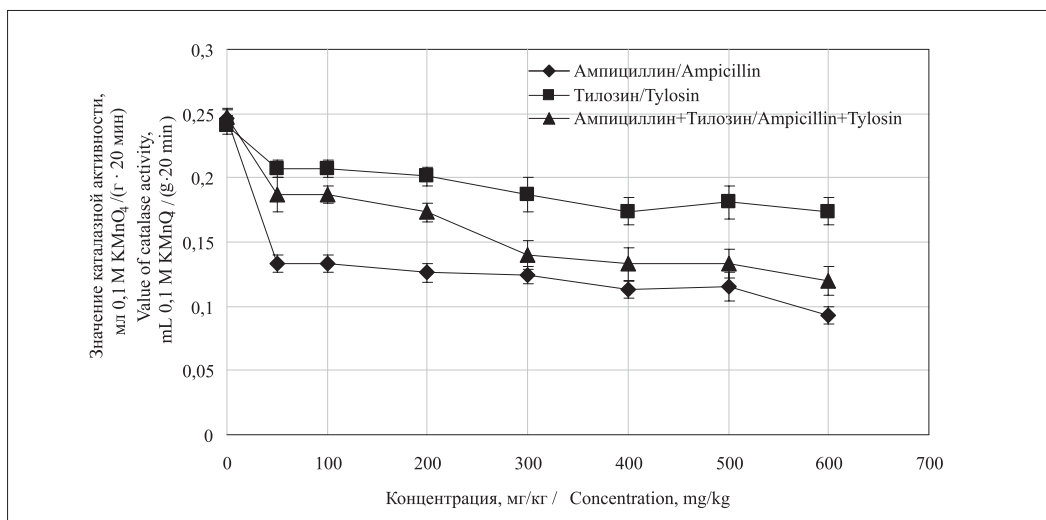


Рис. 1. Зависимость каталазной активности от концентрации антибиотиков в почве
 Fig. 1. Dependence of catalase activity on the concentration of antibiotics in the soil

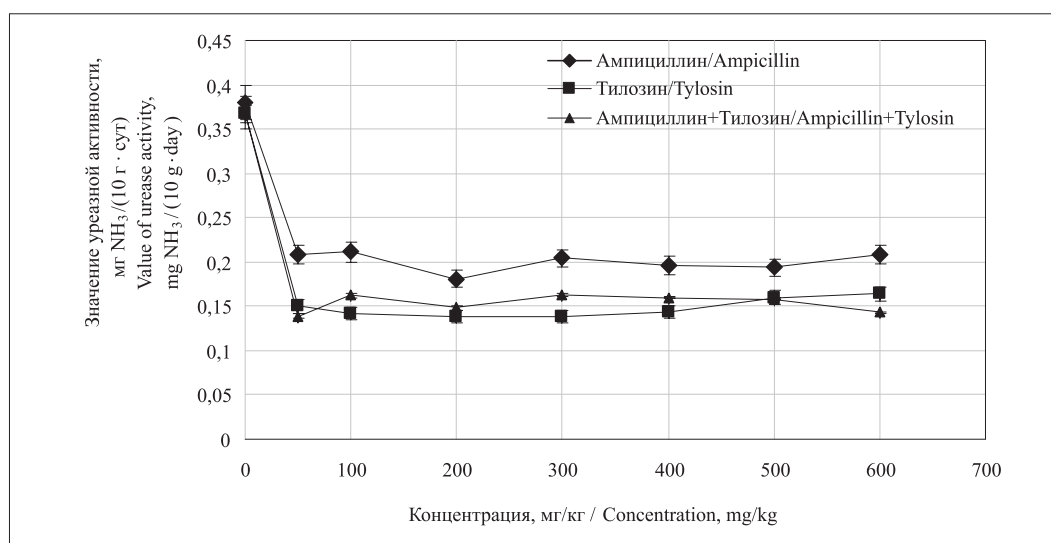


Рис. 2. Зависимость уреазной активности от концентрации антибиотиков в почве
 Fig. 2. Dependence of urease activity on the concentration of antibiotics in the soil

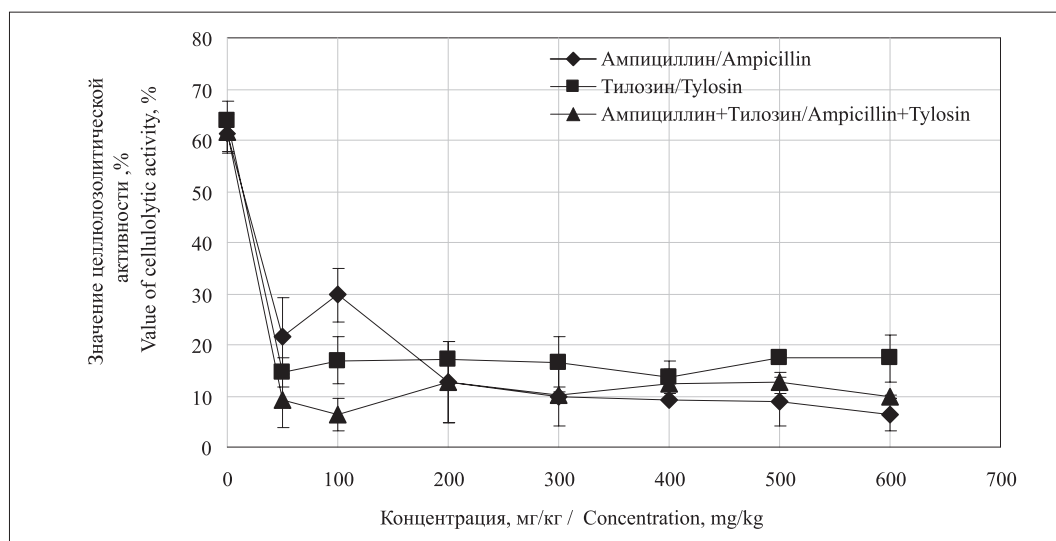


Рис. 3. Зависимость целлюлолитической активности от концентрации антибиотиков в почве
 Fig. 3. Dependence of cellulolytic activity on the concentration of antibiotics in the soil

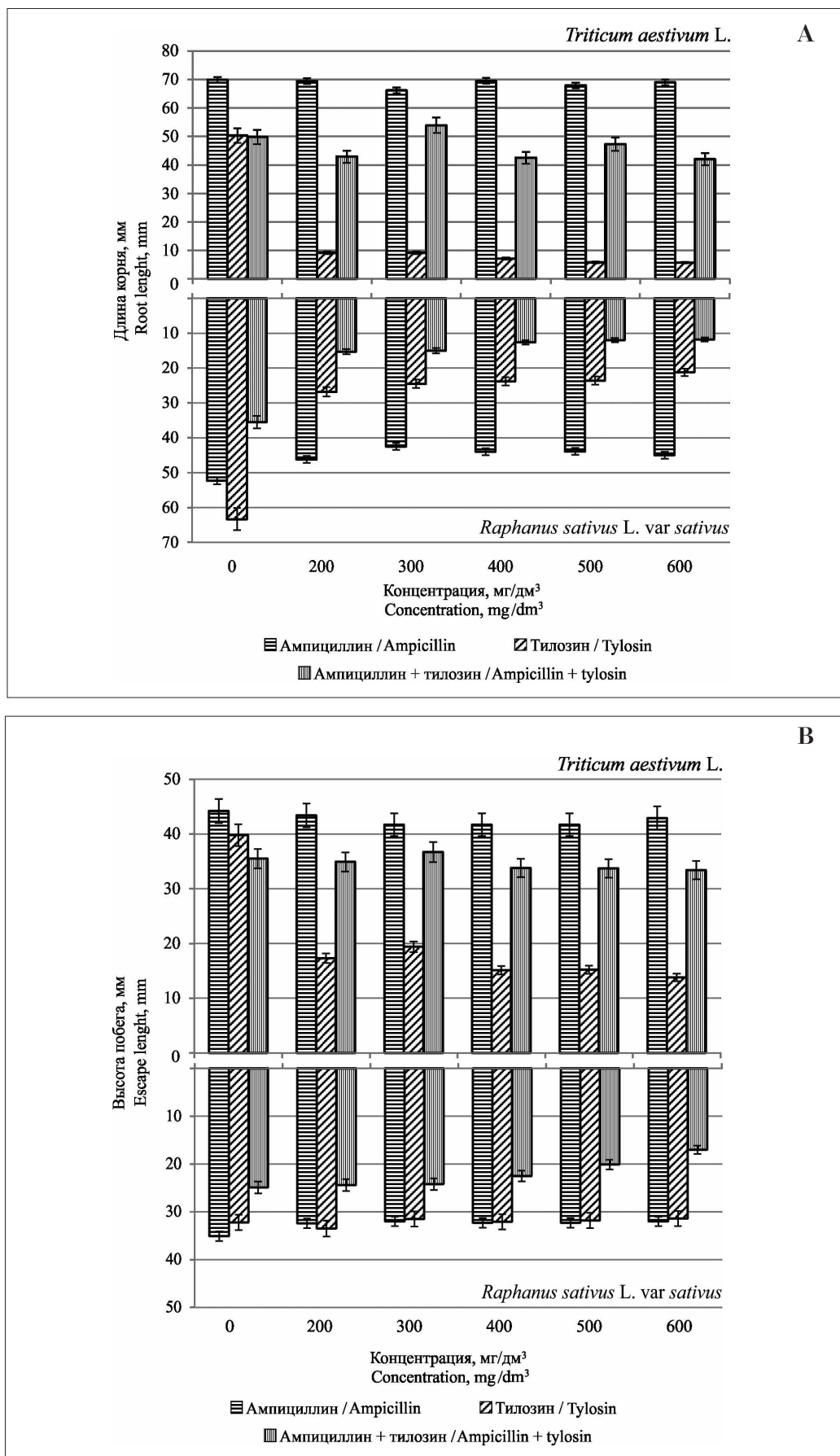


Рис. 4. Зависимость длины корней (А) и высоты побега (В) от концентрации антибиотиков
 Fig. 4. Dependence of root length (A) and length of the shoot (B) on antibiotic concentration

воздействии тилозина и его комбинированном воздействии с ампициллином активность уреазы во всём диапазоне концентраций снижается на 58–63% (рис. 2).

В интервале концентраций антибиотиков 200–600 мг/кг почвы по степени токсичности для целлюлазы антибиотики расположились в ряд: ампициллин > ампициллин + тилозин > тилозин. При индивидуальном воздействии тилозина на целлюлазу в концентрации 50 мг/кг почвы её активность резко снижается на 62% для ампициллина, 77% для тилозина и на 85% при их комбинированном воздействии (рис. 3).

Таким образом, каталаза наиболее чувствительна к ампициллину, уреазы – к тилозину, а целлюлаза, при концентрациях 50–100 мг/кг почвы – к смеси ампициллина и тилозина, при концентрациях 200–600 мг/кг почвы – к ампициллину. Следовательно, эффекты ингибирования целлюлазы зависят не только от вида антибиотиков, но и от их концентрации.

При изучении фитотоксичности ампициллина и тилозина при индивидуальном и комбинированном воздействии установлено, что во всём интервале концентраций наибольшее ингибирование роста корней у *T. aestivum* происходит при воздействии тилозина, а у *R. sativus* var. *sativus* – при комбинированном воздействии тилозина и ампициллина (рис. 4А).

Ингибирование роста побегов как при индивидуальном, так и при комбинированном воздействии антибиотиков значительно меньше, чем ингибирование роста корней. Наиболее сильное снижение роста побега происходит при индивидуальном воздействии тилозина для пшеницы, рост побегов редиса изменяется незначительно (рис. 4В).

Результаты показывают, что пшеница является более чувствительным тест-организмом для исследования воздействия изученных антибиотиков.

Заключение

Впервые проведена оценка влияния антибиотиков тилозина и ампициллина на каталазную, целлюлазную и уреазную активность слабокультуренной дерново-подзолистой почвы. Показано, что использованная почва бедна по содержанию каталазной, очень бедна по содержанию уреазной, однако обладает высокой целлюлазной активностью. Изученные антибиотики, как при индивидуальном, так и при комбинированном воздействии подавляют

активность ферментов. Эффекты токсического воздействия исследованных антибиотиков на активность ферментов зависят не только от вида антибиотика, но и от их концентрации. Исследованные антибиотики при всех концентрациях как при индивидуальном, так и при комбинированном воздействии, наиболее опасны для целлюлазы. При больших концентрациях антибиотиков чувствительность ферментов к ним снижается.

При исследовании фитотоксичности тилозина и ампициллина установлено, что наиболее чувствительным тест-параметром является длина корня, а тест-организмом – пшеница мягкая. Наибольшее ингибирование роста корней и побегов у *T. aestivum* происходит при индивидуальном действии тилозина, а у *R. sativus* var. *sativus* при комбинированном действии этих антибиотиков. В целом, сельскохозяйственные растения на начальных этапах развития более устойчивы к антибиотикам, чем исследованные почвенные ферменты.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ проект № 19-05-00363 А.

References

1. Hirsch R., Ternes T., Haberer K., Kratz K.-L. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment // *Sci. Total. Environ.* 1999. V. 225. P. 109–118. doi: 10.1016/S0048-9697(98)00337-4
2. Kim S.-C., Carlson K. Occurrence of ionophore antibiotics in water and sediments of a mixed-landscape watershed // *Water Res.* 2006. V. 40. P. 2549–2560. doi: 10.1016/j.watres.2006.04.036
3. Ternes T., Joss A. Human pharmaceuticals, hormones and fragrances: The challenge of micropollutants in urban water management. London: IWA Publishing, 2007. 468 p. doi: 10.2166/9781780402468
4. Nikolaou A., Meric S., Fatta D. Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments // *Anal. Bioanal. Chem.* 2007. V. 387. P. 1225–1234. doi: 10.1007/s00216-006-1035-8
5. Underwood J.C., Harvey R.W., Metge D.W., Repert D.A., Baumgartner L.K., Smith R.L., Roane T.M., Barber L.B. Effects of the antimicrobial sulfamethoxazole on groundwater bacterial enrichment // *Environ. Sci. Technol.* 2011. V. 45. P. 3096–3101. doi: 10.1021/es103605e
6. Zhou L.-J., Ying G.-G., Zhao J.-L., Yang J.-F., Wang L., Yang B., Liu S. Trends in the occurrence of human and veterinary antibiotics in the sediments of the Yellow River, Hai River and Liao River in northern China // *Environ. Pollut.* 2011. V. 159. P. 1877–1885. doi: 10.1016/j.envpol.2011.03.034

7. Egorov N.S. Fundamentals of the study of antibiotics. Moskva: Izd-vo MGU, 2004. 528 p. (in Russian).
8. Hohrin N.S. Feeding farm animals. Moskva: Kolos S, 2004. 692 p. (in Russian).
9. Yang J.-F., Ying G.-G., Zhao J.-L., Tao R., Su H.-C., Liu Y.-S. Spatial and seasonal distribution of selected antibiotics in surface waters of the Pearl Rivers, China // *Journal of Environmental Science and Health*. 2011. V. 46. P. 272–280. doi: 10.1080/03601234.2011.540540
10. Halling-Sørensen B. Inhibition of aerobic growth and nitrification of bacteria in sewage sludge by antibacterial agents // *Arch. Environ. Contam. Toxicol*. 2001. V. 40. P. 451–460. doi: 10.1007/s002440010197
11. Kemper N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment a review // *Ecol. Indicators*. 2008. V. 8. P. 1–13. doi: 10.1016/j.ecolind.2007.06.002
12. Kreuzig R., Kullmer C., Matthies B., Dieckmann H. Fate and behaviour of pharmaceutical residues in soils // *Fresenius Environ. Bull*. 2003. V. 12. P. 550–558.
13. Akimenko Y.V., Kazeev K.Sh., Kolesnikov S.I. Influence of pollution by antibiotics on the biological properties of ordinary chernozem: monograph. Rostov-na-Donu: Izd-vo Uznogo federalnogo un-ta, 2015. 153 p. (in Russian).
14. Akimenko Yu.V., Kazeev K.Sh., Kolesnikov S.I. Change of biochemical properties of the chernozem ordinary at pollution by biocides // *Agrochimiya*. 2015. No. 3. P. 81–87 (in Russian).
15. Akimenko Yu.V., Kazeev K.Sh., Kolesnikov S.I., Minnikova T.V. Estimation the soil ecological functions sustainability to antibiotic pollution // *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk*. 2017. No. 2. P. 207–210 (in Russian).
16. Akimenko Yu.V., Kazeev K.Sh., Kolesnikov S.I. The impact of antibiotics (benzylpenicillin, and nystatin) on the biological properties of ordinary chernozems // *Eurasian Soil Science*. 2014. V. 47. No. 9. P. 910–916. doi: 10.1134/S1064229314070023
17. Zvyagintsev D.G. Soil and microorganisms. Moskva: Izd-vo Moskovskogo un-ta, 1987. 256 p. (in Russian).
18. Chen W., Liu W., Pan N., Jiao W., Wang M. Oxytetracycline on functions and structure of soil microbial community // *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2013. V. 13. P. 967–975. doi: 10.4067/S0718-95162013005000076
19. Shoba S.A., Alyabina I.O., Kolesnikova V.M., Molchanov E.N., Rozhkov V.A., Stolbovoy V.S., Urusevskaya I.S., Shermet B.V., Konyushkov D.E. Soil resources of Russia. Soil-geographical database. Moskva: GEOS, 2010. 128 p. (in Russian).
20. GOST 17.4.4.02-84. Protection of nature. The soil. Methods of sampling and sample preparation for chemical, bacteriological, helminthological analysis. Moskva: Standardinform, 2008. 8 p. (in Russian).
21. Khaziev F.Kh. Methods of soil enzymology. Moskva: Nauka, 2005. 252 p. (in Russian).
22. Zvyagintsev D.G. Biological activity of soils and some scales for its evaluation // *Soil Science*. 1978. No. 6. P. 48–54.
23. Titova V.I., Kozlov A.V. Methods for assessing the functioning of soil microbiocenosis involved in the transformation of organic matter: a scientific and methodological guide. Nizhny Novgorod: Nizhegorodskaya s.-h. akademiya, 2012. 64 p.

Ранние и отдалённые эффекты гамма-излучения и уранилнитрата в липидах печени мышей

© 2020. А. Г. Кудяшева¹, д. б. н., с. н. с., в. н. с., Н. Г. Загорская¹, н. с.,
Л. Н. Шишкина², д. х. н., профессор, г. н. с., зав. лабораторией,

¹Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
167982, Россия, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,

²Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН,
119334, Россия, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4,
e-mail: kud@ib.komisc.ru

Изучены количественные изменения и взаимосвязи между показателями состава липидов печени мышей линии СВА (самцы) при раздельном и/или совместном действии раствора уранилнитрата в концентрации 0,002 г/л и гамма-излучения в дозе 1,6 сГр в течение месяца в ранние и отдалённые сроки после воздействий. В ранние сроки при раздельном воздействии уранилнитрата и хронического γ -излучения в малой дозе более существенные изменения количественного соотношения фракций фосфолипидов (ФЛ) обнаружены в группе мышей, которые подвергались только облучению. При совместном действии хронического γ -излучения и уранилнитрата выявлены увеличение содержание минорных фракций ФЛ и снижение доли основной фракции ФЛ – фосфатидилхолина. Спустя 30 сут после окончания воздействий наиболее значительные изменения липидного обмена в печени мышей обнаружены в группе животных, потреблявших в течение месяца только раствор уранилнитрата. При корреляционном анализе взаимосвязей между содержанием отдельных фракций и/или между обобщёнными показателями состава ФЛ обнаружены достоверные изменения масштаба и характера взаимосвязей как в ранние, так и в отдалённые сроки после окончания воздействий, что свидетельствует об отсутствии нормализации липидного обмена в печени мышей во всех вариантах экспериментов. Сложный и неоднозначный характер ответных реакций липидов печени мышей на воздействие факторов разной природы в малых дозах необходимо учитывать при оценке последствий неблагоприятных экологических факторов на биологические объекты.

Ключевые слова: уранилнитрат, гамма-излучение, мыши, печень, фосфолипиды, регуляция метаболизма.

Early and remote effects of gamma irradiation and uranyl nitrate in the liver lipids of mice

© 2020. A. G. Kudyasheva¹ ORCID: 0000-0002-9134-353X, N. G. Zagorskaya¹ ORCID: 0000-0002-3463-7398,
L. N. Shishkina² ORCID: 0000-0003-0147-2301

¹Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Division RAS,
28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Komi Republic, Russia, 167982,

²Emanuel Institute of Biochemical Physics of RAS,
4, Kosygin St., Moscow, Russia, 119334,
e-mail: kud@ib.komisc.ru

A certain danger is possessed by uranium compounds due to the high ability to accumulate in organs and tissues and to induce the oxidative stress. The soluble uranyl nitrate causes the oxidative damage the different biologically important compounds, including lipids. The aim of this work was to study the quantitative changes of the lipid composition in liver of mice CBA (males) and interrelations between the different parameters of the lipid peroxidation (LPO) in response to chronic γ -radiation at the dose of 16 cGy and presence of uranyl nitrate in drinking water at the concentration of 0.002 g/L under the separate and combined action of these factors. Mice were divided by four groups: I – control; II – a solution of uranyl nitrate consumption during 30 days; III – the chronic γ -irradiation at the total dose of 1,6 cGy during 30 days; IV – the combined action of these factors during 30 days. The decapitation of mice was performed by early (during 1 day after action) and remote (during 30 day after action) period. In early period the more substantial changes between the quantitative ratio of PL fractions was revealed in the mice group III, and under the combined action of factors the increase the minor fractions and the decrease of phosphatidylcholine in liver PL were obtained. The reliable changes of the scale and character of interrelations between shares of the PL separate fraction and/or the generalized parameters of PL composition were revealed in all experimental groups both early and remote periods after actions. This should be taken into account when evaluating the effects of physical and chemical factors on animals inhabiting in ecologically unfavorable situations.

Keywords: uranyl nitrate, gamma irradiation, mice, liver, phospholipids, regulation of metabolism.

В современных условиях биологические объекты подвергаются действию факторов физической и химической природы как естественного, так и антропогенного происхождения. В силу высокой способности накапливаться в органах несомненную опасность представляют тяжёлые естественные радионуклиды, среди которых преобладают широко распространённые в природе соединения урана. В процессе хозяйственной деятельности человека во многих случаях происходит вынос соединений природного урана на поверхность земли и их включение в биологический круговорот [1]. Поэтому существует проблема защиты человека и животных от повреждающего действия урана при поступлении его в организм. Токсичность урана и его соединений является следствием как радиоактивных свойств изотопов урана, так и влияния соединений урана на обмен веществ. Водорастворимый уранилнитрат $UO_2(NO_3)_2$ способен проникать и в липидную фазу, так как растворяется в спирте и ацетоне, используемых для извлечения и некоторых классов липидов. Полагают, что природа токсического действия поступивших в организм ионов уранила в низких концентрациях обусловлена длительным окислительным стрессом [2].

Устойчивость организма к действию неблагоприятных факторов среды во многом зависит от состояния процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), стационарность которых поддерживается физико-химической системой регуляции как на мембранном, так и на клеточном и органном уровнях [3, 4]. Процессы ПОЛ участвуют в адаптации мышевидных грызунов, обитающих на загрязнённых радионуклидами территориях [5]. Изменения в количественном соотношении фракций фосфолипидов (ФЛ), основных субстратов окислительных процессов, играют важную роль в функционировании клеточных мембран [6]. При введении в организм прооксидантные, генотоксические и цитотоксические свойства ионов уранила также обусловлены их способностью индуцировать окислительный стресс [2]. Важная роль в поддержании гомеостаза организма принадлежит гепатоцитам печени, которая является одним из основных органов биосинтеза липидов. Обладая высокой чувствительностью к техногенному загрязнению, гепатоциты играют приоритетную роль в формировании ранних и отдалённых биологических последствий действия факторов разной природы [7].

Цель исследований – провести сравнительный анализ взаимосвязей между показателями состава липидов печени лабораторных мышей при раздельном и совместном действии хронического γ -излучения в малой дозе и уранилнитрата в ранние и отдалённые сроки после воздействия.

Материалы и методы

Условия эксперимента. Объектами исследования были половозрелые мыши линии СВА (самцы), возраст 5 месяцев, обычно используемые при оценке токсических свойств разных соединений. Животные были разделены на 4 группы: группа 1 – контроль; группа 2 – ежедневное потребление в течение 30 сут раствора уранилнитрата ($UO_2(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$) с удельной активностью 25 Бк/л (0,002 г/л); группа 3 – хроническое γ -облучение мышей в течение 30 сут с мощностью дозы 2 мР/ч; группа 4 – в течение 30 сут мыши потребляли раствор уранилнитрата и одновременно подвергались воздействию γ -излучения, которое обеспечивали два источника ^{226}Ra с активностью $0,474 \cdot 10^6$ и $0,451 \cdot 10^6$ кБк, разнесённые на расстоянии 2,5 м. Геометрия их расположения обеспечивала сравнительно однородное облучение всех зверьков (неравномерность облучения не превышала 6%). Данный уровень излучения имитировал условия низкоинтенсивного внешнего γ -излучения на участках с повышенным фоном естественной радиоактивности в Республике Коми [8]. Суммарная поглощённая доза, определённая термомюминесцентными дозиметрами с детекторами ДТГ-4 (LiF) с последующей регистрацией на термомюминесцентной установке ДВГ-02ТМ (НПП «Доза», Россия), составляла 1,6 сГр. Каждое животное за 30 сут получало вместе с водой в среднем 0,18 мг уранилнитрата.

Забой мышей опытных и контрольных групп осуществляли спустя сутки (ранний период) и спустя 30 сут (отдалённый период) после окончания воздействия в 9–11 ч, чтобы избежать влияния суточных колебаний на исследованные показатели. При проведении эксперимента соблюдали принципы биоэтики и гуманного обращения с животными [9]. Общее количество мышей в экспериментах составляло 64 особи.

Методы исследования. Печень сразу после забоя помещали на лёд. Липиды из гомогената печени выделяли по методу Блая и Дайера в модификации Кейтса [10]. Качественный и количественный состав ФЛ

определяли методом тонкослойной хроматографии с использованием силикагеля типа G (Sigma, США) [11]. В качестве подвижной фазы использовали смесь хлороформ-метанол-ледяная уксусная кислота-вода в соотношении 50:30:8:4. Проявление хроматограмм проводили в парах йода. Количественный анализ отдельных фракций ФЛ проводили на спектрофотометре «Спекол-211» при длине волны 800 нм по образованию фосфорно-молибденового комплекса в присутствии аскорбиновой кислоты. Содержание стерина в липидах печени определяли на спектрофотометре «Спекол-211» при длине волны 625 нм по [12]. Помимо количественного соотношения отдельных фракций ФЛ оценивали обобщенные показатели состава липидов: содержание ФЛ (% ФЛ) и стерина (% стерина) в составе общих липидов; отношение количеств основных фракций ФЛ клеток млекопитающих фосфатидилхолин к фосфатидилэтаноламину (ФХ/ФЭ) и мольное отношение содержания стерина к фосфолипидам ($[\text{стерин}]/[\text{ФЛ}]$), отражающие структурное состояние мембранной системы органа; соотношение сумм более легкоокисляемых к более трудноокисляемым фракциям ФЛ ($\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$), характеризующее способность липидов к окислению [7]. Последнее соотношение вычисляли по формуле: $\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ} = (\text{ФИ} + \text{ФС} + \text{ФЭ} + \text{КЛ} + \text{ФК})/(\text{ЛФХ} + \text{СМ} + \text{ФХ})$, где ФИ – фосфатидилинозит, ФС – фосфатидилсерин, КЛ – кардиолипин, ФК – фосфатидная кислота, ЛФХ – лизоформы фосфолипидов, СМ – сфингомиелин. Все измерения проводили для каждого животного индивидуально. Для определения состава ФЛ для каждой пробы наносили по 4 параллельных дорожки.

Результаты обрабатывали методами вариационной статистики [13], используя Microsoft Office Excel 2007, и с помощью компьютерного пакета программ KINS [14]. Для оценки результатов статистического анализа использовали стандартные параметры: R – коэффициент корреляции, b – коэффициент линейной регрессии, p – уровень достоверности различий (вероятность ошибки).

Результаты и обсуждение

Результаты определения состава ФЛ печени мышей в контрольной и опытных группах в разные сроки после окончания исследованных воздействий представлены в таблицах 1 и 2. Величины обобщенных пока-

зателей состава липидов приведены в таблице 3. Формирование биологических последствий воздействия повреждающих факторов в малых дозах существенно зависит от исходного состояния параметров физико-химической системы регуляции ПОЛ в тканях животных [7, 15], величины которых подвержены выраженным суточным, сезонным и возрастным колебаниям [16]. В наших исследованиях были использованы мыши старшей возрастной группы: возраст мышей на момент забоя составлял 6 и 7 месяцев. Анализ различных показателей показал, что масса тела мышей в обеих контрольных группах одинакова ($27,2 \pm 1,2$ и $27,1 \pm 0,65$ г), индекс печени, т. е. отношение массы печени (в мг) к массе тела мыши (в г), также достоверно не различается ($46,1 \pm 0,8$ и $45,0 \pm 1,80$). Это свидетельствует о поддержании относительной стабильности интенсивности обменных процессов в печени мышей данных возрастных групп. Состав ФЛ печени в контрольных группах мышей достаточно стабилен (столбцы 1 в табл. 1 и 2). Можно отметить лишь рост варибельности доли основных фракций ФЛ внутри группы мышей в возрасте 7 месяцев и незначительное увеличение суммарного содержания минорных фракций фосфолипидов КЛ+ФК и ФИ+ФС. Наблюдается увеличение доли ФЛ на 34,5% у мышей в возрасте 7 месяцев, однако отношение основных фракций ФЛ и способность липидов к окислению в контрольных группах достоверно не различаются (табл. 3).

В ранние сроки при раздельном воздействии уранилнитрата и хронического γ -излучения более существенные изменения соотношения фракций ФЛ обнаружены в группе мышей, которые подвергались облучению: выявлено уменьшение доли лизоформ ФЛ, СМ и суммарного содержания ФИ+ФС в 2 раза ($p < 0,01$), 1,55 ($p < 0,01$) и 1,5 раза ($p < 0,05$) соответственно при росте доли ФХ на 9,8% ($p < 0,01$) (табл. 1). Наличие уранилнитрата в питьевой воде мышей в течение месяца вызывает незначительные изменения количественного содержания лишь некоторых минорных фракций ФЛ (табл. 1), а при совместном действии хронического γ -излучения и уранилнитрата (табл. 1) выявлено повышение суммарного содержания КЛ+ФК в 2,2 раза ($p < 0,01$), доли лизоформ ФЛ в 1,35 раза ($p < 0,05$) и уменьшение содержания ФХ на 7,7% ($p < 0,05$).

Однако спустя 30 сут после окончания воздействий (табл. 2) наиболее значительные изменения липидного обмена в печени мышей

Таблица 1 / Table 1

Состав фосфолипидов печени мышей СВА в контрольной и опытных группах мышей СВА (самцы) спустя 1 сутки после воздействий / The phospholipid composition of mice СВА liver in the control and experimental groups during 1 day after actions

Фракции фосфолипидов Phospholipid fractions	Относительное содержание фракции (%P) / Relative content of fraction (%P)			
	группа 1 (контроль) group 1 (control) n = 12	группа 2 (уранилнитрат) group 2 (uranyl nitrate) n = 16	группа 3 (γ-облучение) group 3 (γ-irradiation) n = 20	группа 4 (совместное действие) group 4 (combined action) n = 20
ЛФХ / LPC	3,37±0,24	3,14±0,15	1,65±0,20***	4,54±0,19**
СМ / SM	3,34±0,05	3,90±0,10*	2,15±0,22***	4,0±0,34
ФХ / PC	52,2±0,9	53,46±0,13	57,3±0,7***	48,5±1,07**
ФИ+ФС / PI+PS	9,57±0,10	8,44±0,36*	6,2±0,17**	8,3±0,9
ФЭ / PE	26,9±1,0	27,74±0,25	28,70±0,19	25,4±1,25
КЛ+ФК / CL+PA	4,58±0,45	3,33±0,13	3,96±0,42	9,3±0,9***

Примечания. Здесь и в таблице 2: n – количество хроматографических дорожек; ЛФХ – лизоформы ФЛ, СМ – сфингомиелин, ФХ – фосфатидилхолин, ФИ+ФС – фосфатидилинозит + фосфатидилсерин; ФЭ – фосфатидилэтаноламин; КЛ+ФК – кардиолипин + фосфатидная кислота. Здесь и далее в таблицах: различия между контролем и вариантом эксперимента достоверны при *p < 0,1, **p < 0,05, ***p < 0,01.

Notes. Here and in Table 2: n – number of the chromatographic tracks; LPC – lysoforms of phospholipids, SM – sphingomyelin, PC – phosphatidylcholine, PI + PS – phosphatidylinositol + phosphatidylserine, PE – phosphatidylethanolamine, CL – cardiolipin, PA – phosphatidic acid. Here and further in Tables: differences between control and experimental variant are reliable under *p < 0.1, **p < 0.05, ***p < 0.01.

Таблица 2 / Table 2

Состав фосфолипидов печени мышей СВА в контрольной и опытных группах мышей СВА (самцы) спустя 30 суток после воздействий / The phospholipid composition of mice СВА liver in the control and experimental groups during 30 day after actions

Фракции фосфолипидов Phospholipid fractions	Относительное содержание фракции (%P) / Relative content of fraction (%P)			
	Группа 1 (контроль) group 1 (control) n = 20	Группа 2 (уранилнитрат) group 2 (uranyl nitrate) n = 20	Группа 3 (γ-облучение) group 3 (γ-irradiation) n = 20	Группа 4 (совместное действие) group 4 (combined action) n = 16
ЛФХ / LPC	3,83±0,30	4,35±0,28	2,64±0,23**	3,09±0,04
СМ / SM	3,62±0,19	3,35±0,19	3,84±0,12	5,1±0,8*
ФХ / PC	52,25±0,65	54,3±1,3	53,04±0,09	50,75±0,75
ФИ+ФС / PI+PS	10,28±0,05	5,3±0,9***	9,86±0,22**	9,75±0,24
ФЭ / PE	27,18±0,17	25,62±0,33***	27,55±0,55	27,48±0,46
КЛ+ФК / CL+PA	2,85±0,25	7,1±0,8***	3,36±0,44	3,88±0,14***

обнаружены в группе животных, потреблявших в течение месяца только раствор уранилнитрата (группа 2): снижены доля суммарной фракции ФИ+ФС в 1,9 раза ($p < 0,01$) и относительное содержание ФЭ на 5,7% ($p < 0,01$) при росте доли фракций КЛ+ФК в 2,5 раза ($p < 0,01$). Спустя месяц после воздействия хронического γ-излучения выявлено только снижение доли лизоформ ФЛ в 1,45 раза ($p < 0,05$) и незначительное уменьшение суммарной доли ФИ+ФС (группа 3, табл. 2), а при совместном действии изученных факторов в липидах печени мышей группы 4 повышены доля СМ в 1,4 раза ($p < 0,1$) и суммарная доля более легкоокисляемых фракций КЛ+ФЛ в 1,4 раза ($p < 0,01$).

Несмотря на то, что выявленные количественные изменения затрагивают преимущественно минорные фракции ФЛ, изменение соотношения фракций в составе ФЛ оказывает влияние на способность липидов к окислению и структурное состояние мембранной системы печени. Из анализа данных таблицы 3 следует, что в ранний период после воздействий во всех опытных группах мышей достоверно падает мольное отношение [стерины]/[ФЛ] за счёт роста доли ФЛ в составе общих липидов. При этом соотношение ФХ/ФЭ, также характеризующее жёсткость структурного состояния мембранной системы печени, не отличается от контрольной величины, а от-

ношение Σ ЛОФЛ/ Σ ТОФЛ уменьшается при раздельном действии изученных факторов и имеет тенденцию к росту при их совместном использовании. Следовательно, чувствительность разных параметров системы регуляции ПОЛ к повреждающим воздействиям неодинакова.

В отдалённый период наиболее существенные различия обобщённых показателей состава липидов выявлены только в группе мышей, потреблявших в течение месяца раствор уранилнитрата: отмечен дальнейший рост доли ФЛ в составе общих липидов и отношения ФХ/ФЭ и снижение способности липидов к окислению. При совместном действии факторов отношение ФХ/ФЭ достоверно уменьшается и наблюдается тенденция роста способности липидов к окислению (табл. 3).

Отсутствие достоверных различий величин среднегрупповых показателей состояния системы регуляции ПОЛ в группе облучённых мышей не может рассматриваться как нормализация липидного обмена, поскольку повреждающие воздействия вызывают изменение масштаба и характера взаимосвязей между различными показателями физико-химической системы регуляции процессов

ПОЛ [4, 7]. Это обусловлено как наличием сигнальных функций у ряда фракций ФЛ и продуктов их окисления [17–19], так и влиянием характеристик липидов на процессы биосинтеза и деградации ФЛ [11]. В печени интактных мышей лизоформы ФЛ образуются преимущественно из ФХ. Это подтверждает наличие обратной корреляции ($R = -0,95 \pm 0,04$) между долей лизоформ ФЛ и относительным содержанием ФХ в составе ФЛ печени (рис. 1, контроль 1). Однако, если липиды печени характеризуются высокими величинами отношения ФХ/ФЭ $> 1,95$, обратная корреляционная взаимосвязь сохраняется ($R = -0,986 \pm 0,016$), но значение её коэффициента линейной регрессии в 2,1 раза выше, чем для других особей в контрольной группе (рис. 1, контроль 2).

В ранние сроки после воздействий при отсутствии различий средних значений отношения основных фракций ФЛ в опытных группах и контроле обратная корреляция между долей лизоформ ФЛ и содержанием ФХ выявлена только в липидах печени мышей группы 3 (рис. 1). При этом значение коэффициента корреляции ниже контрольного ($R = -0,74 \pm 0,22$), а коэффициент линейной ре-

Таблица 3 / Table 3

Обобщённые показатели состава липидов печени мышей СВА в контрольных и опытных группах в разные сроки после окончания воздействий / Generalized parameters of the liver lipid composition of mice СВА in the different time after ending of actions

Показатель Index	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Группа 4 Group 4
Ранние эффекты / Earlier effects				
% ФЛ / % PL	37,7±1,4 (n = 12)	50,0±0,4*** (n = 15)	49,0±1,6*** (n = 20)	48,6±1,3*** (n = 20)
ФХ/ФЭ / PC/PE	1,940±0,035	1,928±0,008	1,992±0,015	1,910±0,045
Σ ЛОФЛ/ Σ ТОФЛ Σ ЕОPL/ Σ РОPL	0,697±0,013	0,653±0,006**	0,636±0,008***	0,754±0,027
% стеринов % sterols	5,90±0,75 (n = 3)	5,67±0,46 (n = 4)	5,69±0,16 (n = 5)	5,55±0,16 (n = 5)
[стерины]/[ФЛ] [sterols]/[PL]	0,282±0,021	0,205±0,008**	0,210±0,004**	0,207±0,004**
Отдалённые эффекты / Remote effects				
% ФЛ (%PL)	50,7±1,5 (n = 20)	57,9±1,0*** (n = 20)	54,7±4,0 (n = 25)	52,75±1,25 (n = 24)
ФХ/ФЭ / PC/PE	1,922±0,012	2,120±0,026***	1,946±0,018	1,848±0,018**
Σ ЛОФЛ/ Σ ТОФЛ Σ ЕОPL/ Σ РОPL	0,672±0,008	0,613±0,017***	0,680±0,009	0,697±0,010

Примечание: n – число измерений; %ФЛ и %ХС – доли фосфолипидов и стеринов в составе общих липидов, ФХ/ФЭ – отношение содержания основных фракций фосфолипидов фосфатидилолин к фосфатидилэтаноамину; Σ ЛОФЛ/ Σ ТОФЛ – отношение сумм более легко- и более трудноокисляемых фракций фосфолипидов; [стерины]/[ФЛ] – мольное отношение содержания стеринов и фосфолипидов.

Note: n – number of measurements; %PC and %St are the phospholipids and sterols shares in the total lipid composition; PC/PE is the content ratio of the main fractions of phospholipids; Σ ЕОPL/ Σ РОPL is the ratio of sums of the more easily- to the more poorly oxidizable fractions of phospholipids, [sterols]/[PL] is the molar ratio of sterols and phospholipids.

грессии меньше обеих контрольных величин. Спустя 30 сут после хронического облучения величина коэффициента данной зависимости также ниже контрольного значения ($R = -0,78 \pm 0,17$), однако коэффициент линейной регрессии на порядок выше, чем в ранние сроки после воздействия (рис. 1). Спустя 1 сут и через месяц после воздействий как при потреблении мышами раствора уранилнитрата, так и при совместном действии исследованных факторов аналогичная корреляционная взаимосвязь отсутствует. Следовательно, значительные нарушения регуляции липидного обмена в печени мышей и при потреблении раствора уранилнитрата, и при совместном действии изученных факторов сохраняются в течение более длительного времени после воздействий.

В регуляции процессов ПОЛ важную роль играет обратная корреляционная взаимосвязь между способностью липидов к окислению, что количественно характеризуется величиной отношения $\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$, и структурным состоянием мембранной системы печени, характеризующимся отношением основных фракций ФЛ (ФХ/ФЭ) [4]. Для

липидов печени мышей СВА в возрасте 6 и 7 месяцев наблюдается общая корреляционная зависимость с $R = -0,83 \pm 0,11$ (рис. 2, прямая 1). Спустя 1 сут после потребления раствора уранилнитрата выявлено нарушение взаимосвязи между данными показателями, однако спустя месяц после воздействия взаимосвязь восстанавливается ($R = -0,925 \pm 0,065$), но коэффициент линейной регрессии в 2 раза выше контрольной величины (рис. 2, прямая 2).

Обратная корреляционная взаимосвязь между значениями $\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$ и ФХ/ФЭ поддерживается и в ранние сроки, и через месяц после хронического γ -облучения мышей (рис. 2, прямые 3 и 4), однако коэффициент корреляции взаимосвязи снижается ($R = -0,75 \pm 0,19$ и $R = -0,70 \pm 0,22$ для прямых 3 и 4 соответственно), а коэффициент линейной регрессии отличается от величины в контрольной группе, и в зависимости от времени после воздействия. Хотя при совместном действии изученных факторов данная взаимосвязь спустя месяц после воздействия восстанавливается ($R = -0,86 \pm 0,13$), величина её коэффициента линейной регрессии значитель-

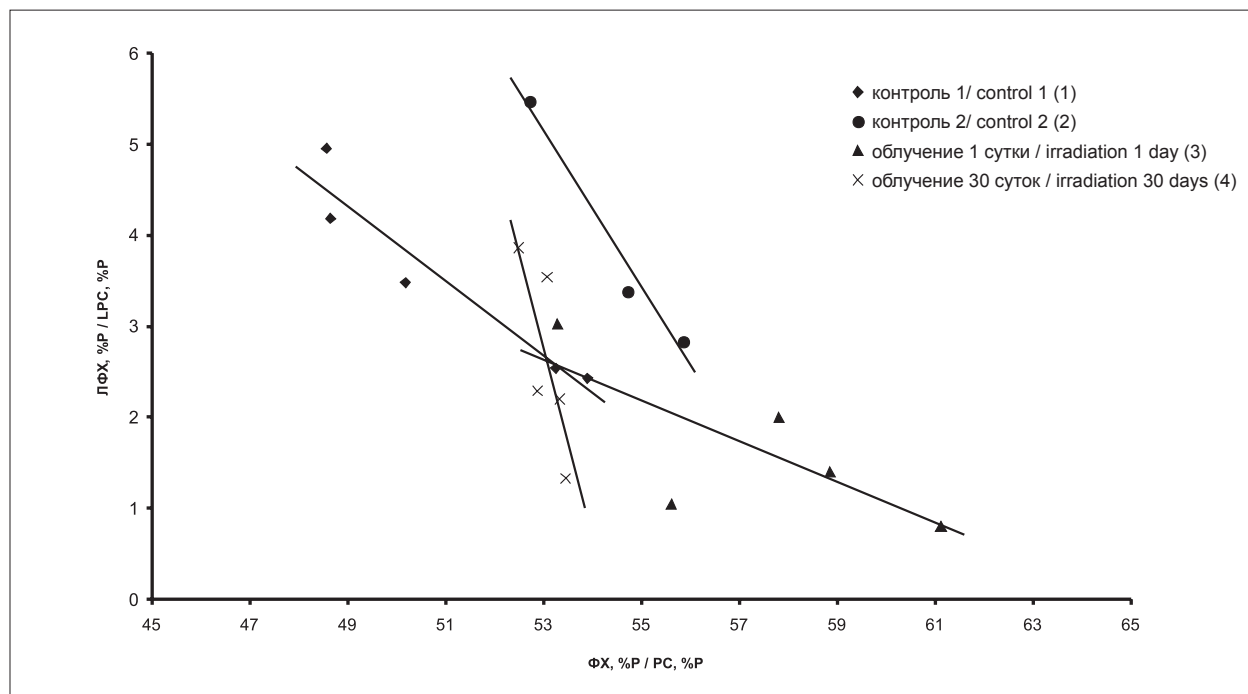


Рис. 1. Взаимосвязь между долей лизоформ (ЛФХ) и относительным содержанием фосфатидилхолина (ФХ) в фосфолипидах печени мышей СВА (самцы). Здесь и на рисунке 2: 1 – контроль 1 (отношение ФХ/ФЭ < 1,95); 2 – контроль 2 (отношение ФХ/ФЭ > 1,95); 3 – 1 сут после γ -облучения в дозе 1,6 сГр; 4 – 30 сут после γ -облучения мышей в дозе 16 сГр
Fig. 1. Interrelation between the lysoform (LPC) share and relative content of phosphatidylcholine (PC) in the liver phospholipids of mice CBA (males). Here and in Figure 2: 1 – control 1 (values of PC/PE < 13,95); 2 – control 2 (values of PC/PE > 1,95); 3 – 1 day after γ -irradiation at the dose of 1,6 cGy; 4 – 30 days after γ -irradiation at the dose of 1,6 cGy

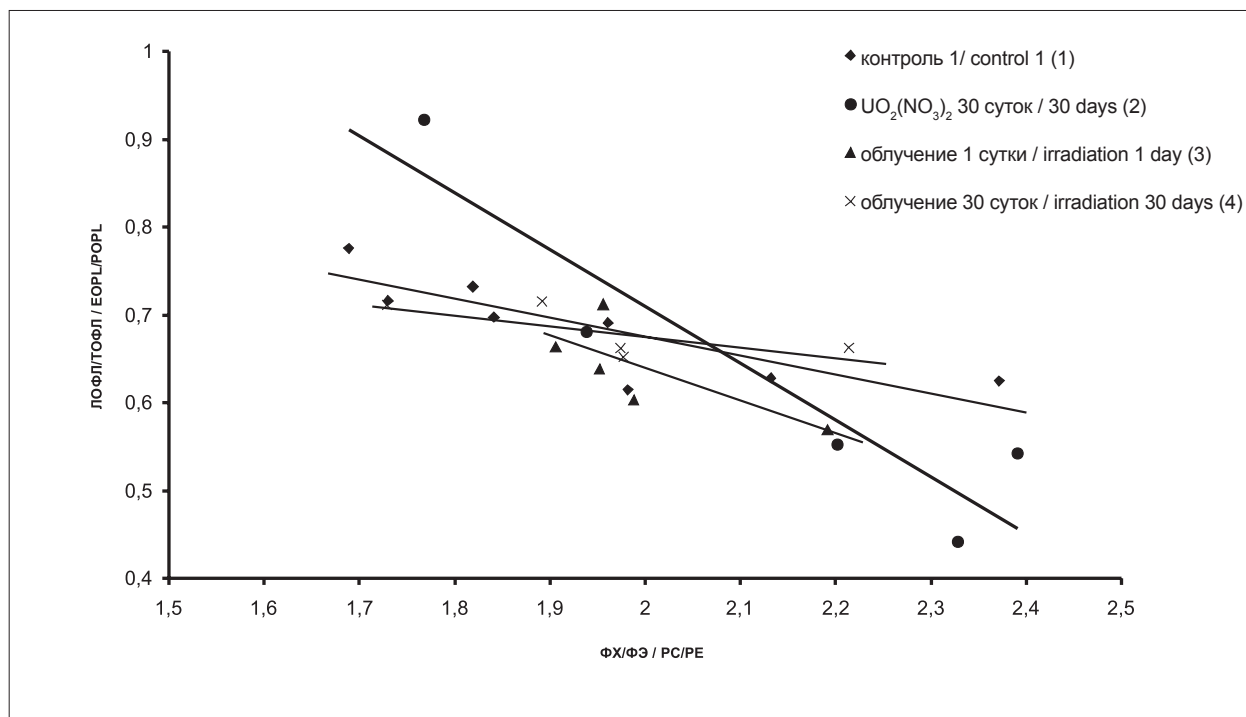


Рис. 2. Взаимосвязь между отношениями сумм более легко- и более трудноокисляемыми фракциями (Σ ЛОФЛ/ Σ ТОФЛ) и отношением основных фракций фосфатидилхолин/фосфатидилэтаноламин (ФХ/ФЭ) в фосфолипидах печени мышей линии СВА (самцы)
Fig. 2. Interrelation between the ratio of sums of the more easily- and more poorly oxidizable fractions Σ ЕОPL/ Σ РОPL) and the ratio of the main fractions phosphatidylcholine to phosphatidylethanolamine (PC/PE) in the liver phospholipids of mice СВА (males)

но отличается от аналогичных значений и в контроле, и в других опытных группах мышей.

Заклучение

Таким образом, уже в ранние сроки как при раздельном воздействии исследованных факторов, так и при совместном потреблении мышами в течение 30 сут раствора уранилнитрата и воздействию γ -излучения в суммарной дозе 1,6 сГр выявлены существенные изменения взаимосвязей между фракциями ФЛ в печени мышей СВА. Нормализация состава липидов печени не обнаружена и в отдалённые сроки после окончания воздействий во всех экспериментальных вариантах. Совокупность полученных данных и анализ литературы позволяют предположить, что существенные изменения масштаба и характера взаимосвязей между способностью липидов к окислению и структурным состоянием мембранной системы печени преимущественно обусловлены значительными изменениями в содержании минорных фракций ФЛ, обладающих сигнальными функциями. Значительные изменения не только относительного содержания минорных фракций ФЛ, но и существенная

вариабельность доли ФХ и ФЭ в составе ФЛ обнаружены ранее и в печени мышевидных грызунов, отловленных на участках с повышенным радиационным фоном в средне-таёжной зоне Республики Коми, который обусловлен аномальными концентрациями в почве и воде радионуклидов уранового ряда: радия-226, урана-238 и тория-232.

Сложный и неоднозначный характер ответных реакций липидов печени мышей на воздействие факторов разной природы в малых дозах вызывает необходимость детального изучения механизма формирования биологических последствий их воздействия на организм. Это необходимо учитывать и при прогнозировании последствий воздействия неблагоприятных факторов низкой интенсивности и в малых дозах на животных, обитающих в неблагоприятных экологических условиях.

Работа выполнена в рамках темы НИР Института биологии Федерального исследовательского центра Коми НЦ УрО РАН: Рег. № НИОКТР АААА-А18-118011190102-7 и гос. задания Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН (№ 44.4, гос. № темы: 0084-2019-0014.

Литература

1. Москалев Ю.И. Радиобиология инкорпорированных радионуклидов. М.: Энергоатомиздат, 1989. 264 с.
2. Гудков С.В., Черников А.В., Брусков В.И. Химическая и радиационная токсичность соединений урана // Российский химический журнал. 2014. Т. LVIII. № 3. С. 73–82.
3. Burlakova Ye.B., Pal'mina N.P., Mal'tseva Ye.L. Physicochemical system regulating lipid peroxidation in biomembranes during tumor growth // Membrane Lipid Oxidation / Ed. C. Vigo-Pelfrey. Boca Raton, Ann Arbor: CRC Press, 1991. V. III. P. 209–237.
4. Шишкина Л.Н., Кушнирева Е.В., Смотровая М.А. Новые подходы к оценке биологических последствий воздействия радиации в малых дозах // Радиационная биология. Радиоэкология. 2004. Т. 44. № 3. С. 289–295.
5. Shishkina L.N., Kudyasheva A.G., Zagorskaya N.G., Shevchenko O.G., Taskaev A.I. Participation of the lipid peroxidation processes in mechanism of the wild rodent adaptation to radioactive contamination of the chernobyl NPP zone // The Lessons of Chernobyl: 25 Years Later / Eds. E.B. Burlakova, V.I. Naidich. New York: Nova Science Publishers, 2012. P. 187–208.
6. Геннис Р. **Биомембраны: молекулярная структура и функции**. М.: Мир, 1997. 624 с.
7. Козлов М.В., Маракulina К.М., Шишкина Л.Н. Значимость исходного состояния печени мышей для формирования последствий совместного действия факторов разной природы // Радиационная биология. Радиоэкология. 2012. Т. 52. № 1. С. 44–49.
8. Kudyasheva A.G., Shishkina L.N., Shevchenko O.G., Bashlykova L.A., Zagorskaya N.G. Biological consequences of increased natural radiation background for *Microtus oeconomus* Pall. populations // J. Environ. Radioactivity. 2007. V. 97. P. 39–41.
9. Раскоша О.В., Кичигин А.И. Основные принципы надлежащей лабораторной практики при обустройстве вивария и организации научных исследований // Вестник Института биологии Коми НЦ УрО РАН. 2016. № 3. С. 19–25.
10. Кейтс М. Техника липидологии. М.: Мир, 1975. 322 с.
11. Биологические мембраны: Методы / Под ред. Дж.Б.С. Финдлея, В.Х. Эванза. М.: Мир, 1990. 423 с.
12. Sperry W.M., Webb M. A revision of the Schoenheimer-sperry method for cholesterol determination // J. Biol. Chem. 1950. V. 187. No. 1. P. 97–106.
13. Лакин Г.Ф. Биометрия. 3-е изд. М.: Высшая школа, 1990. 293 с.
14. Брин Э.Ф., Травин С.О. Моделирование механизмов химических реакций // Химическая физика. 1991. Т. 10. № 6. С. 830–837.
15. Бурлакова Е.Б., Голощапов А.Н., Жижина Г.П., Конрадов А.А. Новые аспекты закономерностей действия низкоинтенсивного облучения в малых дозах //

Радиационная биология. Радиоэкология. 1999. Т. 39. № 1. С. 26–34.

16. Климович М.А., Козлов М.В., Хрустова Н.В., Шишкина Л.Н. Влияние характеристик липидов на возрастные изменения взаимосвязей в системе регуляции метаболизма в тканях лабораторных мышей // Успехи геронтологии. 2010. Т. 23. № 3. С. 427–429.

17. Leonarduzzi G., Arkan M.C., Vacaca H., Chirpotto E., Sevenain A., Poli G. Lipid oxidation products in cell signaling // Free Radic. Biol. & Med. 2000. V. 28. No. 9. P. 1370–1378.

18. Торховская Т.И., Ипатова О.М., Захарова Т.С., Кочетова М.М., Халилов Э.М. Клеточные рецепторы к лизофосфолипидам как промоторы сигнальных эффектов // Биохимия. 2007. Т. 72. № 2. С. 149–157.

19. Kagan V.E., Fabisiak J.P., Svedova A.A., Tyurina Y.Y., Tyurin V.A., Schor N.F., Kawai K. Oxidative signaling pathway externalization of plasma membrane phosphatidylserine during apoptosis // FEBS Lett. 2000. V. 477. P. 1–7.

References

1. Moskaev Yu.I. Radiobiology of incorporated radionuclides. Moskva: Energoatomizdat, 1989. 264 p. (in Russian).
2. Gudkov S.V., Chernikov A.V., Bruskov V.I. Chemical and radiological toxicity of uranium compounds // Ross. Khim. Zhurnal. 2014. V. LVIII. No. 3. P. 73–82 (in Russian).
3. Burlakova Ye.B., Pal'mina N.P., Mal'tseva Ye.L. Physicochemical system regulating lipid peroxidation in biomembranes during tumor growth // Membrane Lipid Oxidation / Ed. C. Vigo-Pelfrey. Boca Raton, Ann Arbor: CRC Press, 1991. V. III. P. 209–237.
4. Shishkina L.N., Kushnirva Ye.V., Smotryaeva M.A. A new approach to assessment of biological consequences of exposure to low-dose radiation // Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya. 2004. V. 44. No. 3. P. 289–295 (in Russian).
5. Shishkina L.N., Kudyasheva A.G., Zagorskaya N.G., Shevchenko O.G., Taskaev A.I. Participation of the lipid peroxidation processes in mechanism of the wild rodent adaptation to radioactive contamination of the chernobyl NPP zone // The Lessons of Chernobyl: 25 Years Later / Eds. E.B. Burlakova, V.I. Naidich. New York: Nova Science Publishers, 2012. P. 187–208.
6. Gennis R.B. Biomembranes. Molecular structure and function. Moskva: Mir, 1997. 624 p. (in Russian).
7. Kozlov M.V., Marakulina K.M., Shishkina L.N. Significance of the initial state of the mice liver for the development of consequences after the combined action of factors of different nature // Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya. 2012. V. 52. No. 1. P. 44–49 (in Russian).
8. Kudyasheva A.G., Shishkina L.N., Shevchenko O.G., Bashlykova L.A., Zagorskaya N.G. Biological consequences

es of increased natural radiation background for *Microtus oeconomus* Pall. populations // J. Environ. Radioactivity. 2007. V. 97. P. 39–41.

9. Raskosha O.V., Kichigin A.I. Main principles of the proper laboratory practice for the equipping of vivarium and the organization of scientific investigations // Vestnik Instituta biologii Komi NTs UrO RAN. 2018. No. 3. P. 19–25 (in Russian). doi: 10.311140/vestnik.2016.3(197)3

10. Kates M. The technique of lipidology. Moskva: Mir, 1975. 322 p. (in Russian).

11. Biological membranes: the methods / Eds. J.B.S. Findley, B.X. Evans. Moskva: Mir, 1990. 423 p. (in Russian).

12. Sperry W.M., Webb M. A revision of the schoe-neimer-sperry method for cholesterol determination // J. Biol. Chem. 1950. V. 187. No. 1. P. 97–106.

13. Lakin G.F. Biometry. 3rd Edition. Moskva: Vysshaya shkola, 1990. 293 p. (in Russian).

14. Brim E.F., Travin S.O. Modeling the mechanisms of chemical reactions // Khimicheskaya fizika. 1991. V. 10. No. 6. P. 830–837 (in Russian).

15. Burlakova E.B., Goloshchapov A.N., Zhizhina G.P., Konradov A.A. New aspects of regularity action of low intensity radiation // Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya. 1999. V. 39. No. 1. P. 26–34 (in Russian).

16. Klimovich M.A., Kozlov M.V., Khrustova N.V., Shishkina L.N. Influence of the lipid characteristics on the age changes of the interrelations in the metabolic regulatory system of the laboratory murine tissues // Adv. Gerontology. 2010. V. 23. No. 3. P. 427–429.

17. Leonarduzzi G., Arkan M.C., Bacaka H., Chirpotto E., Sevenain A., Poli G. Lipid oxidation products in cell signaling // Free Radic. Biol. & Med. 2000. V. 28. No. 9. P. 1370–1378.

18. Torkhovskaya T.I., Ipatova O.M., Zakharova T.S., Kochetova M.M., Khalilov E.M. Lysophospholipid receptors in cell signaling // Biokhimiya. 2007. V. 72. No. 2. P. 149–157 (in Russian).

19. Kagan V.E., Fabisiak J.P., Svedova A.A., Tyurina Y.Y., Tyurin V.A., Schor N.F., Kawai K. Oxidative signaling pathway externalization of plasma membrane phosphatidylserine during apoptosis // FEBS Lett. 2000. V. 477. P. 1–7.

Влияние полисахаридов *Hericium erinaceus* БП 16 на фагоцитарную активность нейтрофилов крови человека

© 2020. Т. В. Полежаева^{1,4}, д. б. н., зав. лабораторией,
И. Г. Широких^{2,3}, д. б. н., зав. лабораторией, М. И. Сергушкина¹, м. н. с.,
Я. И. Назарова², н. с., А. А. Широких^{2,3}, д. б. н., в. н. с.,
А. Н. Худяков¹, к. б. н., с. н. с., О. О. Зайцева¹, к. б. н., с. н. с.,
О. Н. Соломина¹, к. б. н., н. с., И. Г. Патурова⁴, к. б. н., доцент,

¹Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения
Российской академии наук, ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, д. 50,

²Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого,
610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, д. 166 а,

³Вятский государственный университет,

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

⁴Кировский государственный медицинский университет,
610027, Россия, г. Киров, ул. Карла Маркса, д. 112,

e-mail: ddic@yandex.ru, irgenal@mail.ru

Ксилотрофный гриб *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. – ежевик гребенчатый – известен как источник полисахаридов, обладающих широким спектром биологического действия. Из отобранного в природе плодового тела гриба, фенотипически сходного с *Hericium erinaceus*, выделена мицелиальная культура БП 16. На основе анализа фрагмента, включающего ITS1, ген 5.8S рРНК и ITS2, установлено тесное (99,68%) сходство штамма БП 16 с депонированным в NCBI штаммом *H. erinaceus* CBS 202.31_MH855186.1. При лабораторном культивировании *H. erinaceus* БП 16 отличался повышенной способностью к плодообразованию. Из замороженных и высушенных плодовых тел гриба экстракцией 5% раствором горячей щёлочи получены четыре полисахаридных фракции (ПФ). В зависимости от способа предобработки плодовых тел (высушивание или замораживание) и агрегатного состояния (осадок и супернатант) ПФ различались сочетанием и количественным соотношением в их составе отдельных моносахаров (глюкозы, галактозы, ксилозы, арабинозы, маннозы, фукозы и рамнозы), содержанием белка и галактуроновой кислоты. С помощью метода световой микроскопии установлено, что наличие в клеточной среде каждой из четырёх использованных в работе ПФ *H. erinaceus* БП 16 в концентрации 1,2% достоверно ($p < 0,05$) и в равной степени повышает способность нейтрофилов фагоцитировать частицы латекса, а фракция № 3, наиболее обогащённая ксилозой, оказывает подобный эффект и в концентрации 0,6%. Низкая токсичность, высокая биологическая совместимость и физиологическая активность полисахаридов *H. erinaceus* имеют неоспоримые преимущества перед другими классами химических веществ.

Ключевые слова: *Hericium erinaceus*, ITS1_5.8S ITS2, грибные полисахариды, моносахаридный состав, нейтрофилы, фагоцитоз.

Influence of polysaccharides from *Hericium erinaceus* BP 16 on phagocytic activity of human blood neutrophils

© 2020. T. V. Polezhaeva^{1,4}, ORCID: 0000-0003-4999-3077

I. G. Shirokikh^{2,3}, ORCID: 0000-0002-3319-2729

M. I. Sergushkina¹, ORCID: 0000-0002-3113-527X, Y. I. Nazarova², ORCID: 0000-0002-2945-5282

A. A. Shirokikh^{2,3}, ORCID: 0000-0002-7808-0376, A. N. Khudyakov¹, ORCID: 0000-0003-3757-8263

O. O. Zaytseva¹, ORCID: 0000-0001-9427-0420, O. N. Solomina¹, ORCID: 0000-0001-5187-8698

I. G. Paturova⁴, ORCID: 0000-0002-8555-4525

¹Institute of Physiology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch
of the Russian Academy of Sciences, FRC Komi SC UB RAS,
50, Pervomayskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,

²Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, 166a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,
³Vyatka State University, 36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,
⁴Kirov State Medical University, 112, Karl Marx St., Kirov, Russia, 610027,
e-mail: ddic@yandex.ru, irgenal@mail.ru

An important condition for obtaining new pharmacological drugs with immunomodulatory effect is the search for active producers in natural habitats. The identification and isolation of new species and strains of fungi from the natural environment opens up prospects for the replenishment of collections of active producers and using them to develop new biotechnological products. The mushroom *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. has long been known as a source of polysaccharides with a wide spectrum of biological action. The purpose of this work is to assess the ability of polysaccharides from frozen and dried fruitbodies of the artificially cultivated mushroom *H. erinaceus* to influence the phagocytic activity of human neutrophils.

From the fungus fruitbody selected in nature, which is similar in phenotypic characters to *Hericium erinaceus*, mycelial culture BP 16 was isolated. Based on the analysis of the fragment including the internal transcribed spacer (ITS1), the 5.8S rRNA gene and ITS2 found close (99.68%) resemblance of the BP 16 strain to the *H. erinaceus* CBS 202.31 MH855186.1 strain which is deposited in the NCBI.

The isolated strain (BP 16) during laboratory cultivation was distinguished by an increased ability to produce fruits. Four polysaccharide fractions (PF) were obtained from the frozen and dried fruitbodies of this fungus by extraction with a 5% solution of hot alkali.

Depending on the method of pretreatment of fruitbodies (drying or freezing) and the aggregate state (sediment and supernatant), the polysaccharide fractions differed in combination and quantitative ratio in their composition of individual monosaccharides (glucose, galactose, xylose, arabinose, mannose, fucose and rhamnose), protein content and galacturonic acid.

It was established by light microscopy that the polysaccharides of each fraction of *H. erinaceus* BP 16 (at a concentration of 1.2%) equally increase the phagocytic activity of neutrophils, and fraction 3 (the most enriched in xylose) has a similar effect at a concentration of 0.6%.

Low toxicity, high biological compatibility and physiology activity of polysaccharides from *H. erinaceus* have undeniable advantages over other classes of chemicals. In the context of the search for new natural immunomodulators, further structural and functional study of *H. erinaceus* polysaccharides is very promising.

Keywords: *Hericium erinaceus*, ITS1_5.8S ITS2, mushroom polysaccharides, monosaccharide composition, neutrophils, phagocytosis.

В последние годы для получения новых лекарственных субстанций используют базидиальные макромицеты, различные лечебные эффекты которых обусловлены, в первую очередь, полисахаридными компонентами. Полисахариды являются не только субстратами для биосинтетических и энергетических процессов, но и важнейшими регуляторами физиологических функций, включая модуляцию иммунного ответа.

Ксилотрофный гриб *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. – ежовик гребенчатый – известен, как источник полисахаридов, обладающих широким спектром биологического действия. На сегодняшний день из плодовых тел и культивируемого мицелия *H. erinaceus* выделено, в общей сложности, тридцать пять полисахаридов [1]. Препараты, получаемые на основе полисахаридного комплекса гериция, обладают антиоксидантным [2, 3], гиполипидемическим [4], гепатопротективным [5], антимикробным [6, 7], противоопухолевым [8–10], а также иммуностимулирующим [11, 12] действием.

Важным условием получения новых фармакологических препаратов является поиск активных продуцентов в природных местообитаниях. Выявление и выделение в культуру новых видов и штаммов грибов из природной среды открывает перспективы пополнения коллекций активными продуцентами и служит основой для разработки новых биотехнологических продуктов. Авторами из отобранного в грабово-кисличной дубраве на территории Национального парка «Беловежская пуща» (Беларусь) плодового тела гриба, сходного по фенотипическим признакам с *H. erinaceus*, выделена мицелиальная культура БП 16. Задачи настоящего исследования включали: 1) уточнение таксономического положения выделенного штамма, 2) получение плодовых тел гриба при искусственном культивировании, 3) выделение полисахаридсодержащих фракций (ПФ) из замороженных и высушенных плодовых тел и определение их моносахаридного состава, 4) изучение *in vitro* способности полисахаридов оказы-

вать влияние на фагоцитарную активность нейтрофилов крови человека.

Объекты и методы

Таксономическое положение исследуемого штамма определяли на основе анализа фрагмента, включающего внутренний транскрибируемый спейсер (Internal transcribed spacer) ITS1, ген 5.8S рРНК и ITS2 (НПК «Синтол» (г. Москва)). Идентификацию секвенированной последовательности проводили с применением геномной и программной базы BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Мицелиальную культуру гриба выращивали на суслоагаре (4° Баллинга). Посевной мицелий получали на стерильном зерне овса. Для выращивания плодовых тел использовали субстрат из соломы, зерна и дубовых опилок в объёмном соотношении 6:3:1. В стерильных условиях субстрат инокулировали посевным зерновым мицелием в количестве 5% от массы субстрата. Ёмкости с инокулированным субстратом инкубировали при комнатной температуре (20 ± 1 °C) в течение 30 сут. После сбора плодовых тел одну часть подвергали замораживанию при -20 °C в электроморозильнике «Derby» (Дания), другую высушивали при 60 °C.

Для извлечения полисахаридов сухие (41,0 г) и замороженные (17,67 г) плодовые тела гриба измельчали по отдельности и подвергали экстракции, последовательно заливая сырьё водой при 20 и 70 °C, а затем 5%-ным водным раствором NaOH при 20 и 80 °C. На всех этапах осуществляли непрерывное перемешивание в течение 3 час. Остаток сырья отделяли центрифугированием.

Контроль экстракции полисахаридов осуществляли фенол-сернокислотным методом [13]. При положительной реакции на углеводы экстракт сливали, а остаток сырья повторно заливали экстрагентом (водой или 5% раствором NaOH), повторяя манипуляцию до отрицательной реакции на углеводы в экстракте. Горячие щелочные экстракты после нейтрализации уксусной кислотой осаждали добавлением 96% этанола (1:3, V/V), диализовали, концентрировали. Полученные осадки отделяли центрифугированием (13 000 об./мин, в течение 40 мин), растворяли в дистиллированной воде (1:1, V/V), диализовали против дистиллированной воды, растворы лиофилизировали.

Количественное определение нейтральных моносахаридов в виде соответствующих ацетатов полиолов после полного (в течение 3-х час)

кислотного гидролиза 2М трифторуксусной кислотой проводили газо-жидкостной хроматографией (ГЖХ) на хроматографе «Varian 450-GC» (США) с пламенно-ионизационным детектором, капиллярной колонкой VF-5 ms «Varian» (США), 0,25 мм, 30 м, гелием в качестве газа-носителя. ГЖХ ацетатов полиолов проводили в программе: от 175 °C (1 мин) до 250 °C (2 мин) со скоростью 3 °C/мин. Процентное содержание моносахаридов от суммарного препарата вычисляли из площадей пиков, используя коэффициенты отклика детектора [14]. В качестве внутреннего стандарта использовали мио-инозит «Sigma» (США). В ПФ также определяли содержание (весовые %) гликуроновых кислот по реакции с 3,5-диметилфенолом в присутствии концентрированной серной кислоты [15] и содержание белка по Лоури [16].

Фагоцитарную активность нейтрофилов оценивали с использованием инертных частиц латекса диаметром 0,08 мкм «Sigma-Aldrich» (Германия), которые в соотношении 1:10 разводили средой Хенкса «Биолот» (Россия). Разведённый латекс (0,05 мл) смешивали с 0,1 мл крови, помещали смесь в термостат при +37 °C на 30 мин и через каждые 10 мин встряхивали. Затем готовили мазки, которые последовательно окрашивали красителями эозин-метиленовым синим по Май-Грюнвальду «Минимед-стандарт» (Россия) и азур-эозином по Романовскому «Минимед-стандарт» (Россия) в течение 40 с и 30 мин соответственно. При микроскопировании (увеличение $\times 1000$) подсчитывали 100 нейтрофилов, определяли долю клеток с поглощёнными частицами латекса.

В работе использована венозная кровь беременных женщин-добровольцев с нормальным течением беременности с их информированного согласия. Забор крови проводили в вакуумные пробирки с Na-гепарином «Ningbo Greetmed Medical Instruments Co., Ltd.» (Китай).

При статистической обработке данных для каждого показателя вычисляли среднее арифметическое значение и среднее квадратичное отклонение ($M \pm \delta$). Для выявления статистически значимых различий между группами применяли непараметрический критерий Уилкоксона с использованием компьютерной программы «BIOSTAT».

Результаты и обсуждение

Для идентификации природного изолята БП 16 выбран универсальный для всех так-

**Т. В. Полежаева, И. Г. Широких, М. И. Сергушкина,
Я. И. Назарова, А. А. Широких, А. Н. Худяков,
О. О. Зайцева, О. Н. Соломина, И. Г. Патурова**
**«Влияние полисахаридов *Hericiium erinaceus* БП 16
на фагоцитарную активность
нейтрофилов крови человека». С. 166**

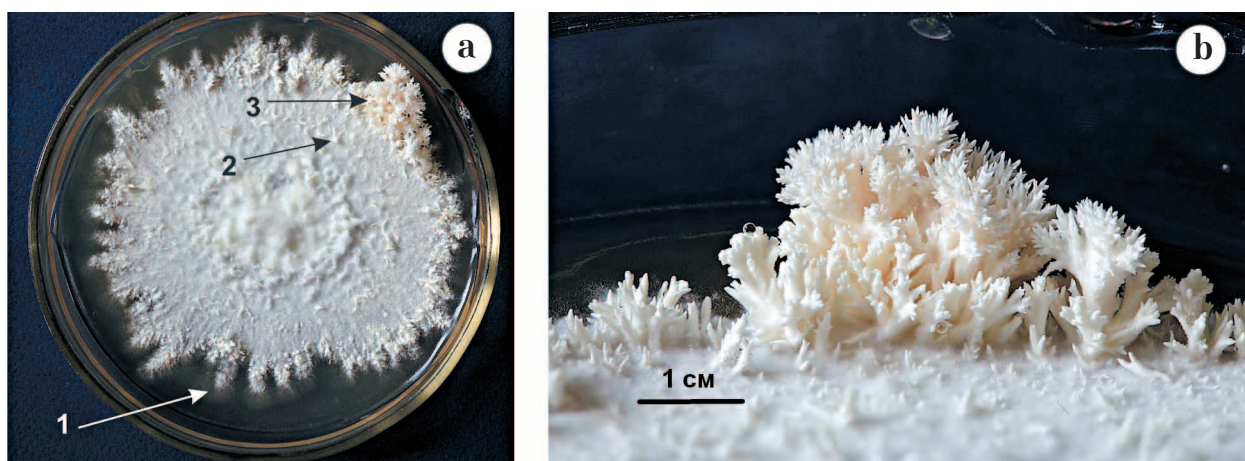


Рис. 1. Рост гриба *H. erinaceus* БП 16 в лабораторных условиях:
а – колония на сусло-агаре: 1 – мицелий, 2 – примордии,
3 – формирование плодового тела; б – плодовое тело, 21 сут культивирования
Fig. 1. The growth of the mushroom *H. erinaceus* BP 16 in the laboratory:
а – colony on malt-agar: 1 – mycelium, 2 – primordias,
3 – formation of the fruiting body; б – fruit body, 21 days of cultivation



Рис. 2. Выращивание плодовых тел
H. erinaceus БП 16 на питательном субстрате
Fig. 2. Growing *H. erinaceus* BP 16
fruit bodies on a nutrient substrate

сонов царства Fungi оперон рибосомальной РНК. Полученную нуклеотидную последовательность фрагмента оперона рРНК – ITS1_5.8S ITS2 сопоставляли с материалом, депонированным в генбанке NCBI. Сопоставление показало, что штамм является представителем рода *Hericium*, семейства *Hericiaceae*, порядка *Russulales*, класса *Agaricomycetes*, отдела *Basidiomycota*. Поисковым сервисом BLAST в качестве наиболее близкого (99,68% сходства) по последовательности ITS1_5.8S ITS2 к исследуемому грибу БП 16 предложен депонированный в NCBA штамм *H. erinaceus* CBS 202.31_MH855186.1.

При лабораторном культивировании *H. erinaceus* БП 16 отличался повышенной способностью к плодообразованию: уже через 18–20 сут роста на суслоагаре по периферии колоний начинали появляться примордии, а затем формировались небольшие плодовые тела – базидиомы (рис. 1). Посевным мицелием гериция инокулировали стерильный питательный субстрат, на котором через 36 сут роста появлялись зачаточные примордии, а ещё через 9–12 сут сформировались технически зрелые плодовые тела (рис. 2). Вторую волну плодоношения наблюдали через 20, третью – через 15 сут культивирования. Собранные за три волны плодоношения грибы для сохранения ценных свойств подвергали частично замораживанию, частично – высушиванию.

Из замороженных плодовых тел, в результате экстракции горячим 5% раствором NaOH с последующим осаждением этанолом, выделены фракции ПФ № 1 (супернатант) с выходом

1,25% и ПФ № 2 (осадок) с выходом 1,24% от в.-с. массы сырья. Из высушенных плодовых тел выделены фракции ПФ № 3 (супернатант) с выходом 1,65% и ПФ № 4 (осадок) с выходом 1,07% от в.-с. массы сырья. Суммарный выход полисахаридов из замороженных плодовых тел составил 10,01%, из высушенных – 14,95% (в пересчёте на сухое сырьё).

По данным ГЖХ, в состав углеводных цепей полисахаридов *H. erinaceus*, экстрагируемых горячей щёлочью, входят остатки следующих нейтральных моносахаридов: глюкозы, галактозы, ксилозы, арабинозы, маннозы, фукозы и рамнозы. В зависимости от способа предобработки плодовых тел (высушивание или замораживание) и агрегатного состояния (осадок и супернатант) ПФ характеризовались различным сочетанием и количественным соотношением в их составе отдельных моносахаров (табл. 1).

Сопоставление полученных данных с данными, ранее известными из литературы, в целом указывает на явное сходство штамма БП 16 с другими представителями вида. Так, ранее в моносахаридном составе углеводных цепей ежевика гребенчатого обнаружены остатки рамнозы, галактозы и глюкозы в соотношении 1,19 : 3,18 : 1,00 [17], глюкозы, галактозы и фукозы в соотношениях 1,00 : 2,11 : 0,42 [18], фукозы, галактозы и глюкозы в соотношении 1,00 : 4,00 : 1,00 [19].

Полисахаридсодержащие фракции, выделенные из *H. erinaceus* БП 16 горячей щёлочью, по существу, представляют собой гетерополисахаридные пептиды, о чём свидетельствует обнаружение в их составе белка – от 1,5

Таблица 1 / Table 1
Характеристика химического состава различных ПФ *H. erinaceus*
Characteristics of the chemical composition of different PF *H. erinaceus*

ПФ № PF No.	Галактуроновая кислота, % Galacturonic acid, %	Нейтральные моносахариды, мг/г Neutral monosaccharides, mg/g							Всего сахаров, % Total sugars, %	Белок, % Protein, %
		Rhamnose	Fucose	Arabinose	Glucose	Galactose	Xylose	Manose		
1	8,0	2,59	15,5	12,59	0	27,07	21,71	920,54	9,22	1,5
2	3,9	5,23	6,59	13,78	882,18	20,33	41,27	30,62	17,15	5,8
3	7,8	0	6,53	6,21	744,15	20,23	214,95	7,95	96,28	2,1
4	2,2	0	0	9,04	954,76	10,77	11,7	13,73	17,05	3,7

Влияние различных концентраций ПФ *H. erinaceus* БП 16 на фагоцитарную активность нейтрофилов крови человека ($n = 10, M \pm \sigma$)
Effect of different concentrations of PF *H. erinaceus* BP 16 on phagocytic activity of human blood neutrophils ($n = 10, M \pm \sigma$)

Нейтрофилы / Neutrophils	Концентрация ПФ / Concentration PF		
	0,3%	0,6%	1,2%
Контроль / Control	87±8,2		
С ПФ № 1 / With PF No. 1	92±9,5	92±10,6	96±2,9*
С ПФ № 2 / With PF No. 2	92±8,7	91±10,2	96±2,8*
С ПФ № 3 / With PF No. 3	92±6,3	94±6,9*	96±2,2*
С ПФ № 4 / With PF No. 4	91±6,5	89±9,9	94±4,8*

Примечание: * – различие с контролем значимо при $p < 0,05$.
Note: * – the difference with the control is significant at $p < 0.05$.

до 5,8% в зависимости от фракции. В каждой фракции, по результатам спектрофотометрии, содержалось также от 2,2 до 8,0 весовых % галактуроновой кислоты. Таким образом, состав ПФ *H. erinaceus* значительно изменялся в зависимости от способа предварительной обработки сырья и способа экстракции полисахаридов.

Характеристика фагоцитарной активности нейтрофилов. В контроле фагоцитарная активность нейтрофилов человеческой крови составила 87±8%. Наличие в клеточной среде каждой из четырёх исследуемых в работе ПФ *H. erinaceus* в концентрации 1,2% повышало фагоцитарную активность нейтрофилов достоверно и в равной степени (табл. 2).

Необходимо отметить, что ПФ № 3 оказывала данный эффект также в концентрации 0,6%, что может быть обусловлено более высоким содержанием в ней сахаров (96,28%) по сравнению с другими фракциями (9,22–17,15%) (табл. 1). Отличительной особенностью ПФ № 3 является также большее, по сравнению с другими фракциями (11,7–41,27 мг/г), содержание в ней ксилозы (214,95 мг/г). Возможно, этим обусловлен высокий фагоцитарный показатель данной фракции, известно, что полисахариды ксилан и гликоксилян, выделенные из *H. erinaceus*, характеризуются как противоопухолевые агенты [20].

Полисахариды ежевика гребенчатого способны повышать активность макрофагов [21, 22], что объясняют, в основном, наличием в их составе β-глюканов [23]. Наши результаты, подтверждающие способность полисахаридов из плодовых тел *H. erinaceus* БП 16 стимулировать фагоцитарную активность клеток, хорошо согласуются с этими представлениями, хотя вопрос о природе иммуномодулирующих компонентов *H. erinaceus* до настоящего времени остаётся открытым. Низкая токсич-

ность, высокая биологическая совместимость и метаболическая активность полисахаридов *H. erinaceus* имеют неоспоримые преимущества перед многими другими классами химических веществ.

Работа выполнена в рамках НИР Программы ФНИ государственных академий наук на 2013–2020 гг. № 0767-2019-0090 «Изучить потенциал полифункционального действия мицелиальных грибов и бактерий с целью создания новых препаратов для повышения адаптивности и экологической безопасности растениеводства и защиты окружающей среды от загрязнений» и № 0415-2016-003 «Влияние пектинов на функциональную сохранность клеток при замораживании».

References

1. 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 // International journal of biological macromolecules. 2017. V. 97. P. 228–237. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.01.040
2. Han Z.H., Ye J.M., Wang G.F. Evaluation of in vivo antioxidant activity of *Hericium erinaceus* polysaccharides // International journal of biological macromolecules. 2013. V. 52. P. 66–71. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2012.09.009
3. Li X.Y., Wang Z.Y., Wang L., Walid E., Zhang H. In vitro antioxidant and anti-proliferation activities of polysaccharides from various extracts of different mushrooms // International Journal of Molecular Sciences. 2012. V. 13. No. 5. P. 5801–5817. doi: 10.3390/ijms13055801
4. Byung K.Y., Jun B.P., Chi H.S. Hypolipidemic effect of an exo-biopolymer produced from a submerged mycelial culture of *Hericium erinaceus* // Bioscience Biotechnology and Biochemistry. 2003. V. 67. No. 6. P. 1292–1298. doi: 10.1271/bbb.67.1292
5. Zhang Z., Lva G., Pana H., Pandeyb A., Hec W. Antioxidant and hepatoprotective potential of endo-poly-

- saccharides from *Hericiium erinaceus* grown on tofu whey // Journal Biological Macromolecules. 2012. V. 51. No. 5. P. 1140–1146. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2012.09.002
6. Kim D.M., Pyun C.W., Ko H.G., Park W.M. Isolation of antimicrobial substances from *Hericiium erinaceum* // Mycobiology. 2000. V. 28. P. 33–38. doi: 10.1080/12298093.2000.12015719
7. Kim S.P., Moon E., Nam S.H., Friedman M. *Hericiium erinaceus* mushroom extracts protect infected mice against *Salmonella typhimurium* – induced liver damage and mortality by stimulation of innate immune cells // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2012. V. 60. No. 22. P. 5590–5596. doi: 10.1021/jf300897w
8. Wang J.C., Hu S.H., Lee T.M. Antitumor and immunoenhancing activities of polysaccharide from culture broth of *Hericiium* spp. // Kaohsiung Journal of Medical Sciences. 2001. V. 17. No. 9. P. 461–467.
9. Kim S.P., Kang M.Y., Kim J.H., Nam S.H., Friedman M. Composition and mechanism of antitumor effects of *Hericiium erinaceus* mushroom extracts in tumor-bearing mice // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2011. V. 59. No. 18. P. 9861–9869. doi: 10.1021/jf201944n
10. Li G., Yu K., Li F., Xu K., Li J., He S., Cao S., Tan G. Anticancer potential of *Hericiium erinaceus* extracts against human gastrointestinal cancers // Journal of Ethnopharmacology. 2014. V. 153. No. 2. P. 521–530. doi: 10.1016/j.jep.2014.03.003
11. Choi Y.I., Lee J.S., Lee U.Y., Lee T.S. Immunostimulating and antitumor effects on mouse sarcoma 180 by crude polysaccharides extracted from fruiting body of *Hericiium erinaceus* // Journal of Life Science. 2010. V. 20. P. 623–631. doi: 10.5352/jls.2010.20.4.623
12. Sheu S.C., Lyu Y., Lee M.S., Cheng J.H. Immunomodulatory effects of polysaccharides isolated from *Hericiium erinaceus* on dendritic cells // Process Biochemistry. 2013. V. 48. No. 9. P. 1402–1408. doi: 10.1016/j.procbio.2013.06.012
13. Dubois M., Gillies K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. Calorimetric method for the determination of sugars and related substances // Analytical Chemistry. 1956. V. 28. P. 350–356. doi: 10.1021/ac60111a017
14. York W.S., Darvil A.G., McNeil M., Stevenson T.T. Isolation and characterization of plant cell walls and cell-wall components // Methods in Enzymology. 1986. V. 118. P. 3–40.
15. Usov A.I., Bilan M.I., Klochkova N.G. Polysaccharides of Algae, 48. Polysaccharide composition of several Calcareous Red Algae: Isolation of alginate from *Corallina pilulitera* // Botanica Marina. 1995. V. 38. P. 43–51. doi: 10.1515/botm.1995.38.1-6.43
16. Lowry B.O., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // Journal of Biological Chemistry. 1951. V. 193. P. 265–275.
17. Jia L.M., Liu L., Dong Q., Fang J.N. Structural investigation of a novel rhamnoglucogalactan isolated from the fruiting bodies of the fungus *Hericiium erinaceus* // Carbohydrate Research. 2004. V. 339. P. 2667–2671. doi: 10.1016/j.carres.2004.07.027
18. Wang Z., Luo D., Liang Z. Structure of polysaccharides from the fruiting body of *Hericiium erinaceus* Pers. // Carbohydrate polymers. 2004. V. 57. No. 3. P. 241–247. doi: 10.1016/j.carbpol.2004.04.018
19. Zhang P., Sun J., Zhang C., Tang J., Fan X., Shi C. Structural investigation of a novel fucoglucogalactan isolated from the fruiting bodies of the fungus *Hericiium erinaceus* // Food Chemistry. 2007. V. 104. No. 2. P. 451–456. doi: 10.1016/j.carres.2004.07.027
20. Mizuno T. Bioactive substances in *Hericiium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. (Yamabushitake), and its medicinal utilization // International Journal of Medicinal Mushrooms. 1999. V. 1. P. 105–119. doi: 10.1615/intjmedmushrooms.v1.i2.10
21. Wang J.C., Hu S.H., Lee T.M. Antitumor and immunoenhancing activities of polysaccharide from culture broth of *Hericiium* spp. // Kaohsiung Journal of Medical Sciences. 2001. V. 17. No. 9. P. 461–467. doi: 10.1016/j.carbpol.2004.04.018
22. Kim S.P., Kang M.Y., Kim J.H., Nam S.H., Friedman M. Composition and mechanism of antitumor effects of *Hericiium erinaceus* mushroom extracts in tumor-bearing mice // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2011. V. 59. P. 9861–9869. doi: 10.1021/jf201944n
23. Dong Q., Jia L.M., Fang J.N. A beta-D-glucan isolated from the fruiting bodies of *Hericiium erinaceus* and its aqueous conformation // Carbohydrate Research. 2006. V. 341. No. 6. P. 791–795. doi: 10.1016/j.carres.2006.01.022

Значение клеточных факторов иммунитета при применении экологически безопасной сплит-конъюгированной противобруцеллёзной вакцины в сочетании с иммуномодуляторами

© 2020. Д. Абдессемед¹, к. в. н., ассистент, В. А. Агольцов², д. в. н., профессор, С. Ю. Веселовский², к. в. н., доцент, О. М. Попова², д. б. н., декан, Е. С. Красникова³, д. в. н., профессор, А. М. Семиволос², д. в. н., профессор, Д. А. Девришов⁴, д. б. н., заведующий кафедрой,

¹Университет Батна 1,
72060, Алжир, г. Батна, п. Эззуур, Кооператив Эль мюстакбель, д. 17,
²ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ,
410012, Россия, г. Саратов, ул. Театральная площадь, д. 1,
³ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ,
393760, Тамбовская обл., г. Мичуринск, ул. Интернациональная, д. 101,
⁴ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина,
109472, Россия, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23а,
e-mail: bd_dalia@hotmail.com, Agoltsov-Saratov@yandex.ru, davud@mgavm.ru

Одним из ключевых вопросов безопасности окружающей среды является свобода её от патогенов, главным образом, от возбудителей особо опасных инфекций, общих для человека и животных. Известно, что микроорганизмы попадают в окружающую среду не только с экскретами больных животных и людей, но и в результате формирования нестерильного иммунитета при применении живых вакцин. В этой связи, разработка экологически безопасных вакцин, обладающих высокими иммуногенными свойствами, является актуальной задачей современной науки. В статье приведены результаты исследований экологически безопасной сплит-конъюгированной вакцины против бруцеллёза животных, которая является перспективным препаратом для профилактики данного зооноза. Наивысшие фагоцитарная и дыхательная активности иммунных клеток крови были отмечены спустя 14 суток после иммунизации животных. Самые высокие фагоцитарный индекс (51), фагоцитарное число (2,1) и концентрация формазана в 1-м лимфоците (0,0342) были зафиксированы у животных, привитых сплит-конъюгированной вакциной против бруцеллёза при использовании фоспренила. При этом отмечался резкий подъём значений этих показателей и быстрое снижение. Это свидетельствует об активном формировании клеточного иммунного ответа. Применение полипептида С совместно со сплит-антигенами характеризовалось менее выраженной и более плавной динамикой данных показателей. При иммунизации сплит-антигенами без иммуномодулятора и иммунопротектора было отмечено незначительное и непродолжительное увеличение изучаемых параметров клеток. Это позволяет рекомендовать фоспренил в качестве усилителя иммунного ответа на вакцинацию данными антигенами. После проведённых испытаний установлено, что исследуемая вакцина формирует в организме животных клеточный иммунитет и, являясь инактивированной (убитой), не представляет никакой опасности для окружающей среды в вопросах распространения бруцеллёза.

Ключевые слова: экологическая безопасность, сплит-конъюгированная вакцина против бруцеллёза животных, фоспренил, полипептид С.

Importance of cellular immunity factors in application of the environmentally safe split-conjugated anti-brucellosis vaccine in combination with immunomodulators

© 2020. D. Abdessemed¹ ORCID: 0000-0003-4452-7827^{*}

V. A. Agoltsov² ORCID: 0000-0001-6991-7253^{*}, S. Yu. Veselovsky² ORCID: 0000-0002-4932-0529^{*}

O. M. Popova² ORCID: 0000-0002-3534-5370^{*}, E. S. Krasnikova³ ORCID: 0000-0003-4395-5862^{*}

A. M. Semyvolos² ORCID: 0000-0003-2081-2340^{*}, D. A. Devrishov⁴ ORCID: 0000-0002-1747-2800^{*}

¹University of Batna 1,

17, Cooperative El moustakbel, Ezzouhour, Batna, Algeria, 72060,

²Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov,

1, Teatralnaya Ploshchad, Saratov, Russia, 410012,

³FSBEI HE Michurinsk SAU,
101, Internationalnaya St., Michurinsk, Tambov region, Russia, 393760,

⁴Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K. I. Skryabin,
23a, Akademika Skryabina St., Moscow, Russia, 109472,
e-mail: bd_dalia@hotmail.com, Agoltsov-Saratov@yandex.ru, davud@mgavm.ru

The key issue of environmental safety is the absence of pathogens, mainly infectious agents of common to humans and animals' dangerous diseases. It is known that microorganisms enter the environment not only with the excretions of sick animals and people, but also as a result of the formation of non-sterile immunity when using live vaccines. In this regard, the development of high immunogenic environmentally safe vaccines is an urgent task of modern science. This work presents the results of studies of environmentally safe split-conjugated vaccine against animal brucellosis, which is a promising drug for preventing this zoonosis. The highest phagocytic and respiratory activity of immune blood cells was observed 14 days after animal immunization. The highest phagocytic index (51), phagocytic number (2.1) and formazan's concentration in one lymphocyte (0.0342) were recorded in animals vaccinated with split-conjugated brucellosis vaccine using fosprenil. Sharp increase in the values of these indicators and a rapid decline were registered. This indicates the active formation of cellular immune response. Using of polypeptide C together with split antigens was characterized by less pronounced and smoother dynamics of these indicators. After immunization with split antigens without immunomodulator and immunoprotector, a slight and short increase in the studied cell parameters was noted. This allows us to recommend fosprenil as an amplifier of the immune response to vaccination with these antigens. Tests revealed that the tested vaccine produces in animals' cellular immune response, and being inactivated (killed) does not pose any danger to the environment in the spread of brucellosis.

Keywords: environmental safety, split-conjugated vaccine against animal brucellosis, fosprenyl, polypeptide C.

Одним из ключевых вопросов безопасности окружающей среды (ОС) является свобода её от патогенов, главным образом, от возбудителей особо опасных инфекций, общих для человека и животных. Известно, что микроорганизмы попадают в ОС не только с экскретами больных животных и людей, но и в результате формирования нестерильного иммунитета при применении живых вакцин. Однако применение живых вакцин чревато негативными последствиями. Примером данному обстоятельству может служить неожиданная реверсия вакцинного штамма *Bacillus anthracis* STI – 1, который с 1942 по 1983 г. использовался для изготовления сибиреязвенной вакцины, в вирулентную форму возбудителя. Применение данной вакцины в 1983 г. привело к массовой гибели овец и обильному обсеменению ОС спорами возбудителя. Территория была признана экологически не безопасной, на ней была проведена огромная работа по дезинфекции животноводческих помещений и значительных площадей, включающих места выпаса животных. Другим примером может служить неконтролируемое применение живой вакцины против эмфизематозного карбункула на основе вакцинного штамма *Clostridium chauvoei* 2/14, которое привело к эпизоотии в 90-е годы XX века. *Clostridium chauvoei* также, как и *Bacillus anthracis* – почвенный микроорганизм, сохраняющийся в споровой форме десятилетиями. Почва для этих бактерий является естественной средой обитания. Однако в этих условиях возможны

реверсии и обретение данными микробами прежних свойств, которыми они обладали до аттенуации [1, 2].

Для специфической профилактики такого заболевания, как бруцеллёз, в настоящее время применяют только живые вакцины: из штаммов *Brucella abortus* 19 и *B. abortus* 82 для вакцинации крупного рогатого скота и из штамма *B. melitensis* Рев-1 для иммунизации овец и коз. Возбудитель бруцеллёза, также как и его вакцинные штаммы крайне устойчивы во внешней среде. В почве, воде, навозе, грубых кормах возбудитель может оставаться жизнеспособным в течение 4 месяцев, представляя собой значительную экологическую угрозу, так как за этот период времени вакцинный штамм может обрести новые свойства, в том числе и способность вызывать бруцеллёз у людей и животных. Испытанная нами вакцина приготовлена из отдельных иммуногенных компонентов инактивированного штамма, конъюгированных в общую субстанцию и депонированная адьювантом. При возможном попадании такой вакцины во внешнюю среду реверсия бруцелл невозможна. Следовательно, использование убитых вакцин против бруцеллёза животных является экологически безопасным способом борьбы с инфекцией, поскольку такие вакцины не могут участвовать в поддержании эпизоотического неблагополучия местности, так как их штаммы являются нежизнеспособными [3, 4].

Однако прежде, чем рекомендовать субъединичную вакцину в качестве адекватной

замены живой вакцины, необходимо экспериментальным путём доказать её иммуногенность и определить пути повышения иммунного ответа на её введение. Большинство учёных считает, что наибольшее значение в формировании противобруцеллёзной защиты имеют клеточные факторы иммунитета [5]. В формировании клеточного иммунитета особую роль выполняют макрофаги, нейтрофилы, натуральные киллеры, антиген-специфичные цитотоксические Т-лимфоциты, и в ответ на антиген выделяются цитокины [6]. Способствуют активации клеточного иммунитета различные иммуномодуляторы, которые активизируют нейтрофилы и моноциты, участвующие в фагоцитозе [7]. Наиболее распространёнными иммуномодуляторами, применяемыми в медицине и ветеринарии, являются гамовит [8], полиоксидоний [9, 10], а также в последнее время и фоспренил [11]. Использование полиоксидония чаще всего применимо в отношении человека, а гамовит и фоспренил используются в основном на мелких непродуктивных животных. В последнее время тенденция к использованию иммуномодуляторов в сочетании с вакцинами находит всё большее распространение. Подобный комплекс используется чаще всего с целью усиления как гуморального, так и клеточного иммунитета [12].

Целью исследования явилась сравнительная оценка эффективности применения иммунопротектора полипептида С и иммуномодулятора фоспренила при использовании экологически безопасной сплит-конъюгированной вакцины против бруцеллёза животных.

Материал и методы исследований

В эксперименте использовались 5-6-и месячные тёлочки ($n = 18$) чёрно-пёстрой породы, живой массой 100–150 кг. Животные были разделены на три группы по 6 голов в каждой по принципу аналогов, находились на выгульном содержании и полноценном рационе. Тёлочкам первой группы (I) в дозе 2,0 мл подкожно вводили сплит-конъюгированную вакцину против бруцеллёза животных (заявка на изобретение № 2017110713), содержащую очищенные иммуногенные белки и полипептиды, выделенные из штаммов *Brucella melitensis* Rev-1, *B. bovis* 19 и *B. abortus* 104М, сорбированные на гель гидроксиды алюминия и конъюгированные с протектором иммунного ответа – используемым в качестве растворителя полипептидом С.

Для телят второй группы (II) в качестве растворителя сплит-антигенов использовали физиологический раствор, вакцину вводили однократно подкожно в дозе 2,0 мл, а в качестве иммуномодулятора в область крупа внутримышечно вводили фоспренил в дозе 5,0 мл. Телятам третьей группы (III) проводилась иммунизация сплит-антигенами, разведёнными изотоническим раствором натрия хлорида в дозе 2,0 мл подкожно однократно без применения протекторов и модуляторов иммунного ответа.

До вакцинации, а затем через 14, 30 и 90 сут осуществляли аспирацию крови из ярёмной вены телят с использованием стерильных вакуумных систем с антикоагулянтом КЗЭДТА с целью определения фагоцитарной активности лейкоцитов и жизнеспособности лимфоцитов крови.

Фагоцитарную активность лейкоцитов изучали *in vitro* путём инкубации 0,5 мл стабилизированной крови с 0,5 мл взвеси суточной агаровой культуры золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus* 209P) – 10^8 КОЕ/мл или 0,5 по стандарту мутности МакФарланда, с последующей иммерсионной микроскопией мазков крови, окрашенных с применением набора Лейкодиф 200. Оценивали фагоцитарный индекс (ФИ) – процент активно участвующих в фагоцитозе лейкоцитов, а также фагоцитарное число (ФЧ) – среднее количество фагоцитированных микробов в пересчёте на один фагоцитирующий лейкоцит [13].

Лимфоциты крови получали центрифугированием стабилизированной крови в градиенте плотности фикол – урографина (1,077 г/мл) [14]. Жизнеспособность лимфоцитов оценивали по МТТ-тесту, характеризующему митохондриальную активность клеток и основанному на восстановлении соли тетразолия митохондриальными дегидрогеназами до нерастворимых кристаллов формазана с последующим колориметрическим учётом концентрации формазана и перерасчётом на 1 лимфоцит [15].

Результаты и обсуждение

Показатели фагоцитарной активности лейкоцитов крови тёлочек до и после иммунизации животных сплит-конъюгированной вакциной с полипептидом С, сплит-антигенами на физиологическом растворе одновременно с фоспренилом и без него, в динамике представлены в таблице 1.

Таблица 1 / Table 1

Результаты фагоцитоза до и после вакцинации / The results of phagocytosis before and after vaccination

Проба Sample	Вакцина с полипептидом С (гр. I) Vaccine with polypeptide С (gr. I)		Вакцина с фоспренилом (гр. II) Vaccine with fosprenil (gr. II)		Вакцина на физрастворе (гр. III) Vaccine in saline (gr. III)	
	14 сут после 14 days after		14 сут после 14 days after		14 суток после 14 days after	
	F	FB	F	FB	F	FB
1	14±1	16,0±2,0	20±2	19±2	20±2	24,0±2,0
2	18±2	40,0±4,0	22±2	21±2	22±2	36,0±3,0
3	18±2	16,0±2,0	22±2	21±2	22±2	32,0±3,0
4	20±2	28,0±3,0	20±2	20±2	18±2	30,0±3,0
5	16±1	16,0±2,0	24±2	20±2	20±2	28,0±3,0
6	24±2	32,0±3,0	22±2	26±2	22±2	36,0±3,0
<i>M±m</i>	18,3±2,7*	24,7±8,0	21,7±1,1	21,2±1,9	20,7±1,3	31,0±3,7
Проба Sample	30 сут после 30 days after	90 сут после 90 days after	30 сут после 30 days after	90 сут после 90 days after	30 сут после 30 days after	90 сут после 90 days after
	20,0±2,0	16,0±2,0	36,0±3,0	65,0±5,0	24,0±2,0	20,0±2,0
1	18,0±2,0	14,0±2,0	44,0±3,0	45,0±4,0	44,0±4,0	26,0±2,0
2	45,0±4,0	24,0±2,0	44,0±3,0	45,0±4,0	34,0±3,0	26,0±2,0
3	18,0±2,0	18,0±2,0	46,0±4,0	65,0±5,0	30,0±3,0	22,0±2,0
4	44,0±4,0	22,0±2,0	38,0±4,0	48,0±5,0	32,0±3,0	18,0±2,0
5	18,0±2,0	16,0±2,0	36,0±3,0	65,0±5,0	30,0±3,0	22,0±2,0
6	30,0±3,0	34,0±3,0	33,0±3,0	62,0±4,0	38,0±3,0	24,0±2,0
<i>M±m</i>	23,7±4,8	30,0±10,1	38,8±4,0*	58,3±7,3*	31,3±3,7	22,0±2,2

Примечание: F – количество фагоцитирующихся лейкоцитов (на 100); FB – количество фагоцитированных бактерий; * – достоверные различия опытных групп между собой (p < 0,05).

Note: F – number of phagocytosed leukocytes (per 100); FB – number of phagocytosed bacteria; * – significant differences between the experimental groups (p < 0.05).

Анализ данных таблицы 1 показал, что на момент вакцинации тёлочек вакциной против бруцеллёза животных, такие показатели активности фагоцитоза, как ФИ и ФЧ находились в среднем на одном уровне в экспериментальных группах. Однако в группе I показатель ФИ изначально был на 18,5% ниже, чем во II группе и на 13% ниже, чем в III группе, в то время как индекс ФЧ во всех группах составлял около 1. Через 14 сут после вакцинации, ФИ нейтрофилов и моноцитов во II группе был в 2,0 и 1,6 раз выше, чем в I и III группах. Что касается индекса ФЧ, то в I, II и III группах он составил соответственно 1,6; 2,0 и 1,4. Спустя 30 сут после иммунизации животных ФИ лейкоцитов у тёлочек I и III групп остался фактически на прежнем уровне, тогда как во второй группе он снизился на 31%, но, тем не менее, оставался в 1,6 и 1,2 раза выше, чем у животных первой и третьей групп. Снизился и индекс ФЧ: максимальное значение его было во второй группе – 1,5. В I и III группах он составил 1,3 и 1,4 соответственно. Через 90 сут после иммунизации животных ФИ лейкоцитов тёлочек второй группы уменьшился почти на 38%, но он тем не менее был в 1,3 раз больше, чем в группах I и III. Следует отметить, что ФИ во всех группах животных в этот период времени стремился к исходным значениям. Показатель ФЧ во всех экспериментальных группах уже составлял 1, как и на момент начала эксперимента.

Представленные данные свидетельствуют о более высокой активности фагоцитоза у животных второй группы, получивших иммуномодулятор фоспренил одновременно с бруцеллёзными сплит-антигенами. Известно, что фагоцитоз, являясь фактором клеточного иммунитета, также предшествует процессу презентации бактериальных антигенов макрофагами другим иммунокомпетентным клеткам, следствием чего являются трансформация лимфоцитов в плазматические клетки, продуцирующие антитела и обеспечивающие гуморальный иммунный ответ, а также продукция регуляторов иммунного ответа – цитокинов [6, 16]. Полученные нами данные могут являться свидетельством наиболее значительной активации клеточного и гуморального иммунитета у животных при сочетанном применении иммуномодулятора фоспренила и сплит-антигенов.

Результаты наших исследований коррелируют с мнением о том, что применение иммуномодуляторов вызывает усиление фагоцитарной активности гранулоцитов при сочетанном

введении их с противобруцеллёзными вакцинами, но показатели иммуногенности вакцин изменяются при использовании разных иммуномодуляторов [7]. В своих исследованиях мы использовали сплит-антигены – только те белки, антитела к которым играют протективную роль, что по мнению ряда отечественных и зарубежных авторов не оказывает излишней нагрузки на иммунную систему и способствует формированию высоко специфичного иммунного ответа [12, 17].

По нашим данным, максимальный подъём фагоцитарной активности приходился на 14 сут после иммунизации вакциной с применением фоспренила. Следовательно, мы можем предположить, что уже в этот период животные данной группы были максимально защищены от заражения бруцеллёзом на клеточном и гуморальном уровнях, что подтверждается мнением Ш.А. Кулжановой, показавшей в своих исследованиях выраженную противобруцеллёзную активность иммуномодуляторов [10].

Существует мнение, что концентрация формазана в 1-м лимфоците характеризует активность лимфоцитов, является показателем активности кислородзависимого киллинга цитотоксическим пулом позитивных клеток и способности клеток к пролиферации, что может свидетельствовать об участии их в иммунном ответе животных на введённую вакцину [10, 15].

Данные по изучению дыхательной активности лимфоцитов крови животных до и после иммунизации противобруцеллёзной сплит-конъюгированной вакциной с полипептидом С, сплит-антигенами на физиологическом растворе одновременно с фоспренилом и без него, в динамике представлены в таблице 2.

Как следует из данных таблицы 2, среднее значение концентрации формазана в одном лимфоците у животных перед иммунизацией сплит-антигенами на физиологическом растворе (III группа) было в 1,6 и 2,3 раза выше, чем у животных I и II групп. Однако, через 14 сут после вакцинации показатель активности митохондриальных ферментов лимфоцитов животных второй группы возрос более, чем в 4 раза и значительно превысил таковые в I и III группах, так как дыхательная активность лимфоцитов у животных этих групп увеличилась лишь в 1,3 и 1,2 раза соответственно. Несмотря на то, что дыхательная активность лимфоцитов тёлочек II группы на 30 сут от начала эксперимента снизилась на 24%, этот показатель, тем не менее, был в 1,8 раза выше,

Таблица 2 / Table 2

Концентрация формазаана в одном лимфоците, нг / Formazan's concentration in one lymphocyte, ng

Проба Sample	Вакцина с полипептидом С (гр. I) Vaccine with polypeptide C (gr. I)		Вакцина с фоспренилом (гр. II) Vaccine with fosprenil (gr. II)		Вакцина и физраствор (гр. III) Vaccine and saline (gr. III)	
	до вакцинации before vaccination	14 сут после 14 days after	до вакцинации before vaccination	14 сут после 14 days after	до вакцинации before vaccination	14 сут после 14 days after
1	0,0153±0,0016	0,0126±0,0014	0,0015±0,0004	0,0070±0,0009	0,0058±0,0004	0,0061±0,0014
2	0,0119±0,0012	0,0273±0,0027	0,0100±0,0012	0,1306±0,0151	0,0153±0,0014	0,0234±0,0019
3	0,0152±0,0015	0,0271±0,0025	0,0090±0,0011	0,0018±0,0008	0,0300±0,0034	0,0448±0,0047
4	0,0094±0,0003	0,0138±0,0011	0,0100±0,0014	0,0021±0,0019	0,0250±0,0027	0,0244±0,0021
5	0,0059±0,0003	0,0037±0,0004	0,0100±0,0010	0,0327±0,0036	0,0208±0,0024	0,0282±0,0030
6	0,0164±0,0041	0,0131±0,0014	0,0088±0,0009	0,0311±0,0034	0,0187±0,0019	0,0061±0,0009
<i>M±m</i>	0,0124±0,0032*	0,0167±0,0072	0,0082±0,0026*	0,0342±0,0385*	0,0193±0,0065*	0,0222±0,0115*
Проба Sample	30 сут после 30 days after	90 сут после 90 days after	30 сут после 30 days after	90 сут после 90 days after	30 сут после 30 days after	90 сут после 90 days after
1	0,0123±0,0019	0,0140±0,0016	0,0293±0,0031	0,01846±0,0019	0,0056±0,0006	0,0057±0,0008
2	0,0270±0,0029	0,0090±0,0011	0,0740±0,0082	0,0011±0,0001	0,0203±0,0022	0,0120±0,0091
3	0,0286±0,0031	0,0170±0,0018	0,0021±0,0019	0,0010±0,0001	0,0370±0,0039	0,0120±0,0093
4	0,0042±0,0041	0,0079±0,0008	0,0020±0,0018	0,0085±0,0011	0,0207±0,0019	0,0220±0,0022
5	0,0042±0,0043	0,0075±0,0009	0,0278±0,0029	0,0190±0,0022	0,0236±0,0025	0,0180±0,0019
6	0,0126±0,0014	0,0146±0,0015	0,0291±0,0031	0,0185±0,0021	0,0056±0,0007	0,0057±0,0011
<i>M±m</i>	0,0148±0,0084	0,0117±0,0032	0,0274±0,0206*	0,0111±0,0068	0,0188±0,0093	0,0126±0,0051

Примечание: * – достоверные различия опытных групп между собой ($p < 0,05$).
Note: * – significant differences between the experimental groups ($p < 0,05$).

чем I группе и в 1,5 раз выше, чем в III группе, хотя активность митохондриальных ферментов лимфоцитов снижалась в этих группах более плавно: на 12 и 18% соответственно. Спустя 90 сут после иммунизации животных, концентрация формазана в одном лимфоците у тёлочек всех экспериментальных групп понизилась и приближалась к исходным значениям до вакцинации. А в III группе она даже стала в 1,8 раз меньше исходных данных. При этом в группе, где был использован полипептид С, снижение дыхательной активности лимфоцитов происходило постепенно, всего на 26%, в то время как в двух других группах она снизилась резко – почти на 50%.

Полученные нами данные свидетельствуют о выраженной динамике дыхательной активности лимфоцитов и об интенсивности их участия в формировании клеточного и гуморального иммунного ответа на различных этапах эксперимента. Пик дыхательной активности лимфоцитов приходился на 14 сут после иммунизации, что коррелирует с полученными нами данными по наибольшей активности фагоцитоза в этот период (табл. 1). При этом отмечался скачкообразный подъём активности митохондриальных ферментов лимфоцитов и относительно резкий спад, в случае использования иммуномодулятора фоспренила. При применении иммунопротектора полипептида С регистрировалось наиболее плавное изменение этого показателя. Меньше всего данный показатель изменялся при вакцинации только сплит-антигенами.

Заключение

Наше исследование по применению сплит-конъюгированной противобруцеллёзной вакцины показало, что протективные антитела обнаруживаются спустя 7 месяцев после иммунизации, но их титр постепенно снижается к 7-му месяцу почти на 30% [18]. Создать более высокий титр защитных антител возможно при использовании модуляторов иммунитета [6]. Проведённые нами ранее исследования по применению иммуномодулятора полиоксидония в сочетании с бруцеллёзными сплит-антигенами показали, что что он стимулирует фагоцитарную активность, однако, при этом нами не было отмечено увеличение дыхательной функции клеток [9]. Представленные в настоящей статье результаты исследования свидетельствуют о том, что фоспренил не только повышает показатели фагоцитарной активности лейкоцитов, но и способствует росту по-

казателя жизнеспособности лимфоцитов крови иммунизированных животных.

Таким образом, сплит-конъюгированная вакцина против бруцеллёза животных является перспективным препаратом для профилактики данного зооноза. Применение вакцины сочетано с иммуномодулятором фоспренилом способствует активации фагоцитоза и повышению активности лимфоцитов крови животных. И, что особенно важно, испытываемая нами вакцина, являясь инактивированной (убитой), имеет огромное преимущество перед применяемыми в настоящее время живыми вакцинами, возбудитель которых, в ряде случаев обладающий остаточной вирулентностью, способен выживать в ОС, участвуя тем самым в формировании природных очагов инфекции и распространении бруцеллёза животных и человека.

Литература

1. Бакулов И.А., Гаврилов В.А., Селивёрстов В.В. Сибирская язва (антракс): новые страницы в изучении «старой болезни». Владимир: Посад, 2000. 281 с.
2. Галиулин А.К., Госманов Р.Г. Сибирская язва сельскохозяйственных животных. Казань: Отечество, 2013. 306 с.
3. Девришов Д.А., Янышев А.А. Эпизоотическая обстановка по бруцеллёзу животных в Российской Федерации и Республике Дагестан // Ветеринарная медицина. 2007. № 1. С. 16–17.
4. Девришов Д.А., Янышев А.А. Результаты эпизоотологического анализа по бруцеллёзу животных // Ветеринария. 2006. № 6. С. 30.
5. Ющук Н.Д., Ахмедова М.Д., Магомедова С.А. Т- и В-клеточный иммунитет у больных бруцеллёзом // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. 2008. № 3. С. 90–92.
6. Парахонский А.П. Эффекты ключевых регуляторных цитокинов при воспалении // В мире научных открытий: материалы X Международной научно-практической конференции. Москва, 2013. С. 36–40.
7. Чанборисов С.С. Иммуноморфологическая оценка противобруцеллёзных вакцин при сочетанном применении с иммуномодуляторами: автореферат дис. ... канд. вет. наук. Казань, 2001. 22 с.
8. Санин А.В., Кожевникова Т.Н., Агафонова А.Д. Гамавит повышает эффективность терапии бабезиоза собак: контролируемое исследование // Ветеринарный журнал Беларуси. 2017. № 6. С. 39–42.
9. Веселовский С.Ю., Агольцов В.А., Попова О.М., Девришов Д.А. Экспериментальное применение сплит-конъюгированной вакцины против бруцеллёза животных с использованием иммуномодулятора полиоксидония // Научная жизнь. 2018. № 2. С. 89–100.

10. Кулжанова Ш.А. Состояние системы фагоцитоза у больных хроническим бруцеллёзом в ходе лечения полиоксидонием // Медицинский журнал Западного Казахстана. 2009. № 2. С. 24–26.

11. Мурзалиев И.Д. Терапевтическая эффективность препарата «Фоспренил» // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2017. № 4 (150). С. 139–141.

12. Баринский И.Ф., Махмудов Ф.Р., Мордвинцева Э.Ю., Сергеев О.В. Специфические инактивированные вакцины и иммуномодуляторы как средство экстренной профилактики острых вирусных инфекций и рецидивов хронических вирусных заболеваний // Terra medica. 2014. № 4. С. 22–26.

13. Кутузова А.А. Изменения лейкоцитарной реакции крови, фагоцитоза и его расчётных коэффициентов в динамике хронического болевого синдрома // Медицинский вестник Башкортостана. 2009. № 2 (4). С. 142–145.

14. Artemev D.A., Krasnikova E.S., Krasnikov A.V., Radionov R.V., Stolbovskaya O.V., Kostishko B.B. The study of the structural features of the lymphocytes from cattle with and without retroviral infection using atomic force microscopy // Progress in Biomedical Optics and Imaging – Proceedings of SPIE 5, Optical Technologies in Biophysics and Medicine. 2018. P. 107160G.

15. Аникина Л.В., Пухов С.А., Дубровская Е.С., Афанасьева С.В., Ключков С.Г. Сравнительное определение жизнеспособности клеток с помощью МТТ и резазурина // Фундаментальные исследования. 2014. № 12. С. 1423–1427.

16. Truong Q.L., Cho Y., Park S., Kim K., Hahn T.W. *Brucella abortus* ΔcydCΔcydD and ΔcydCΔpurD double-mutants are highly attenuated and confer long-term protective immunity against virulent *Brucella abortus* // Vaccine. 2016. V. 34. No. 2. P. 237–244.

17. Baxter D. Active and passive immunity, vaccine types, excipients and licensing // Occup Med. 2007. V. 57. No. 8. P. 552–556.

18. Веселовский С.Ю., Агольцов В.А., Попова О.М., Смирнова К.Ю. Экспериментальное применение сплит-конъюгированной вакцины против бруцеллёза животных на крупном рогатом скоте // Аграрный научный журнал. 2018. № 6. С. 3–6.

References

1. Bakulov I.A., Gavrilov V.A., Seliverstov V.V. Anthrax: new pages in the study of the “old disease”. Vladimir: Posad, 2000. 281 p. (in Russian).

2. Galiulin A.K., Gosmanov R.G. Anthrax of farm animals. Kazan: Otechestvo, 2013. 306 p. (in Russian).

3. Devrshov D.A., Yanyshv A.A. Epizootic situation of animals' brucellosis in the Russian Federation and the Dagestan Republic // Veterinarnaya meditsina. 2007. No. 1. P. 16–17 (in Russian).

4. Devrshov D.A., Yanyshv A.A. The results of the epidemiological analysis on animals' brucellosis // Veterinarnaya meditsina. 2006. No. 6. P. 30 (in Russian).

5. Yushchuk N.D., Akhmedova M.D., Magomedova S.A. T- and B-cell immunity in patients with brucellosis // Bulletin

of the St. Petersburg State Medical Academy named after I.I. Mechnikov. 2008. No. 3. P. 90–92 (in Russian).

6. Parakhonsky A.P. Effects of key regulatory cytokines in inflammation // In the world of scientific discoveries: proceedings of the X International scientific-practical conference. Moskva, 2013. P. 36–40 (in Russian).

7. Chanborisov S.S. Immunomorphological evaluation of anti-brucellosis vaccines using combined with immunomodulators: abstract dis. ... kand. vet. sciences. Kazan, 2001. 22 p. (in Russian).

8. Sanin A.V., Kozhevnikova T.N., Agafonova A.D., Annikov V.V., Annikova L.V. Gamavit increases the effectiveness of babesiosis treatment at dogs: a controlled study // Belarus veterinary journal. 2017. No. 6. P. 39–42 (in Russian).

9. Veselovskiy S.Y., Agoltsov V.A., Popova O.M., Devrshov D.A., Kozlov S.V. Experimental application of split-conjugated vaccine against brucellosis of animals using the polyoxidonium immunomodulatory // Nauchnaya zhizn. 2018. No. 2. P. 89–100 (in Russian).

10. Kulzhanova Sh.A. Disorder of hemostasis system in brucellosis // Medical journal of West Kazakhstan. 2009. No. 2. P. 24–26 (in Russian).

11. Murzaliyev I.D. Therapeutic efficacy of Phosprenyl medical preparation // Bulletin of Altai State Agricultural University. 2017. No. 4 (150). P. 139–141 (in Russian).

12. Barinsky I.F., Makhmudov F.R., Mordvintseva E.Y., Sergeev O.V. Specific inactivated vaccines and immunomodulators as means of emergency prevention of acute viral infections and relapse prevention of chronic viral diseases // Terra medica. 2014. No. 4. P. 22–26 (in Russian).

13. Kutuzova A.A. Changes in blood leukocyte reactions, phagocytosis and its calculated coefficients in the dynamics of chronic pain syndrome // Meditsinskiy vestnik Bashkortostana. 2009. No. 2 (4). P. 142–145 (in Russian).

14. Artemev D.A., Krasnikova E.S., Krasnikov A.V., Radionov R.V., Stolbovskaya O.V., Kostishko B.B. The study of the structural features of the lymphocytes from cattle with and without retroviral infection using atomic force microscopy // Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE 5, Optical Technologies in Biophysics and Medicine. 2018. P. 107160G. doi: 10.1117/12.2317558

15. Anikina L.V., Pukhov S.A., Dubrovskaya E.S., Afanaseva S.V., Klochkov S.G. Comparative definition of cell viability by MTT and resazurin // Fundamentalnye issledovaniya. 2014. No. 12. P. 1423–1427 (in Russian).

16. Truong Q.L., Cho Y., Park S., Kim K., Hahn T.W. *Brucella abortus* ΔcydCΔcydD and ΔcydCΔpurD double-mutants are highly attenuated and confer long-term protective immunity against virulent *Brucella abortus* // Vaccine. 2016. V. 34. No. 2. P. 237–244. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.11.030

17. Baxter D. Active and passive immunity, vaccine types, excipients and licensing // Occup Med. 2007. V. 57. No. 8. P. 552–556. doi: 10.1093/occmed/kqm110

18. Veselovsky S.Yu., Agoltsov V.A., Popova O.M., Smirnova K.Yu. Experimental application of a split-conjugated vaccine against animal brucellosis in cattle // Agrarnyy nauchnyy zhurnal. 2018. No. 6. P. 3–6 (in Russian).

Оценка содержания общего и водорастворимого фтора в распространённых марках крупнолистового и пакетированного чая

© 2020. О. И. Байкова¹, аспирант, Д. Б. Петренко^{1,2}, к. х. н., доцент,
Н. Д. Свердлова¹, к. х. н., доцент,

Н. В. Васильев¹, д. х. н., профессор, заведующий кафедрой,

¹Московский государственный областной университет,
141014, Россия, Московская область, г. Мытищи, ул. Веры Волошиной, д. 24,

²Геологический институт Российской академии наук,
119017, Россия, г. Москва, Пыжевский пер, д. 7, стр. 1,

e-mail: DBPetrenko@yandex.ru

С применением ионометрического метода изучено содержание общего и водорастворимого фтора в крупнолистовом и пакетированном чае, реализуемом в Московском регионе. Содержание фторид-ионов в настоях чая, полученных классическим способом заваривания, составило 1,1–4,5 мг/дм³, при среднем значении 3,1 мг/дм³. Средние значения концентраций фторид-ионов в настоях крупнолистовых и пакетированных чаёв оказались близки и составили 3,3 и 2,8 мг/дм³ соответственно. Общее содержание фтора в исследованных образцах варьирует в диапазоне 290–760 мг/кг и в среднем составляет 409 мг/кг. Установлено, что употребление чая обеспечивает около 80% от суточной нормы фтора, что способствует профилактике кариеса и характеризуется низкой вероятностью возникновения отрицательных последствий воздействия фторидов на организм в долгосрочной перспективе.

Ключевые слова: водорастворимый фтор, общее содержание фтора, чай, ионометрия, коэффициент опасности.

The estimation of total and a water-soluble fluorine content in common brands of large-leaf and packaged tea

© 2020. O. I. Baykova¹ ORCID: 0000-0002-0651-3881^{*}

D. B. Petrenko^{1,2} ORCID: 0000-0003-0640-5159^{*}

N. D. Sverdlova¹ ORCID: 0000-0002-0307-6436^{*}

N. V. Vasiliev¹ ORCID: 0000-0002-8215-6687^{*}

¹Moscow Region State University,
24, Very Voloshinoy St., Mytitschi, Moscow region, Russia, 141014,

²Geological Institute, Russian Academy of Sciences,
bld. 1, 7, Pyzhevsky Pereulok, Moscow, Russia, 119017,

e-mail: DBPetrenko@yandex.ru

The content of total and water-soluble fluoride in large-leaf tea and packaged tea sold in the Moscow region has been studied. Using the ionometric method, the content of total and water-soluble fluoride was determined in 18 samples of widespread tea brands. The contents of fluoride ions in infusions of tea, obtained by the classical method of infusion, were 1.1–4.5 mg/dm³, with an average value of 3.1 mg/dm³. Fluorine in the investigated samples of tea is mainly in water-soluble form. The share of water-soluble fluoride in large-leaf and packaged teas was 81 and 76% of the total fluoride, respectively. The average values of fluorine concentrations in infusions of large-leaf and packaged teas were close and amounted to 3.3 and 2.8 mg/dm³, respectively. The total fluorine content in the studied samples varies in the range of 290–760 mg/kg and averages 409 mg/kg. On the example of the “Maysky tea” it was shown that in the first 5 minutes from the beginning of brewing, about 75% of the maximum possible amount of fluoride extracted into the aqueous phase. The calculation of the hazard quotient and comparison of the amounts of fluoride entering the human body with recommended standards showed that daily consumption of 1 dm³ of tea provides on average 80% of the daily norm of fluoride, which helps to prevent caries and is characterized by a low probability of negative effects of fluoride on the body in the long term.

Keywords: water-soluble fluorine, total fluorine content, tea, ionometry, hazard coefficient.

Содержание фтора в чае зависит от места его произрастания, времени сбора урожая, возраста листьев, срока хранения и ряда других факторов [1]. Известно, что чайное растение (*Camellia sinensis*) является гипераккумулятором фтора. Выращивание чайных кустов на почвах с кларковым содержанием фтора (330 мг/кг) приводит к его накоплению в листьях до нескольких тысяч мг/кг [2]. Значительная часть фтора, содержащегося в чайных листьях, легко переходит в водную фазу при их заваривании и затем усваивается организмом человека при употреблении напитка [3]. Чай, ежегодное употребление которого в мире достигает 18–20 млрд чашек [4], является наиболее популярным в мире напитком и одним из важнейших источников поступления фтора в организм человека [5, 6]. Физиологическая роль фторидов, присутствующих в составе чая, расценивается двояко. С одной стороны, имеются данные о возникновении флюороза (в частности у жителей США, Великобритании и Китая), вызванного употреблением чая, содержащего значительные количества фторидов [7, 8], с другой стороны, есть данные о том, что поступление фторидов с чаем полезно для профилактики кариеса [9, 10].

В работе [11] на примере девятнадцати коммерчески доступных чаёв китайского производства показано, что в чае, в основном, содержатся неорганические соединения фтора, но вместе с тем обнаружены также перфторированные соединения, содержащие менее шести атомов углерода, а также и перфтороктановая кислота. Известно также, что неорганические соединения фтора в чае, в основном, представлены фторидными комплексами алюминия, например, $[AlF_6]^{3-}$ [12]. Молекулярные механизмы, ответственные за накопление фтора в растениях чая всё ещё недостаточно ясны и в настоящее время только начинают интенсивно изучаться [13].

К настоящему моменту накоплен целый ряд данных о содержаниях фторидов в различных сортах чая, широко распространённых в зарубежных странах – Китае, США, Германии, Великобритании, Японии, Китае, Польше, Турции и т. д. [14, 15]. Вместе с тем, содержание фтора в различных марках чая, популярных на территории России изучено недостаточно, имеются лишь отдельные публикации на эту тему [16].

Целью работы было определение содержания общего и водорастворимого фтора в крупнолистных и пакетированных чаях, реализуемых в торговых учреждениях Мо-

сковского региона, а также дать оценку риска возникновения отрицательных последствий воздействия фторидов, содержащихся в чае, на организм человека.

Материалы и методы

Для исследования были взяты по 9 проб распространённых марок пакетированного и крупнолистного чая, приобретённых в различных торговых учреждениях на территории Московской области.

В данной работе для потенциометрического определения фторид-ионов использовали электродную систему, состоящую из фторид-селективного электрода «ЭЛИТ-221» и вспомогательного хлорид-серебряного электрода «ЭВЛ-1МЗ». Измерение ЭДС проводили на рН-метре-иономере «Эксперт-001» с точностью $\pm 0,1$ мВ при температуре окружающей среды 22–24 °С.

Приготовление настоя чая для оценки содержания водорастворимого фтора выполняли классическим способом: 2,0 г сухого чая заливали в стеклянном стакане 200 см³ кипящей дистиллированной воды, перемешивали, настаивали 5 мин и затем фильтровали через фильтр «белая лента». Фильтрат разбавляли в соотношении 1 : 1 (по объёму) буферным раствором состава (г/дм³): NaCl – 58,50; Na₃C₆H₅O₇ · 5H₂O – 0,36; CH₃COONa · 3H₂O – 102,00; CH₃COOH – 14,40, перемешивали. Затем измеряли ЭДС электродной системы и определяли концентрацию фторид-ионов в растворе по градуировочным графикам, построенным в диапазоне концентраций фторид-ионов 0,2–5,0 мг/дм³. Погрешность определения фторид-ионов не превышала 7% отн. [17, 18].

Для определения общего содержания фтора навески измельченных образцов чая массой 1,000 г помещали в никелевые тигли, смачивали 2 см³ насыщенного спиртового раствора гидроксида натрия и высушивали в течение 30 мин при температуре 105 °С, затем озоляли в муфельной печи в течение 4 ч, постепенно повышая температуру до 500 °С, и выдерживали при этой температуре 1 ч. После охлаждения тиглей до комнатной температуры к золе добавляли 3,0 г гидроксида натрия и тщательно перемешивали. Смесь сплавляли в муфельной печи при 550 °С в течение 35 мин до получения жидкого однородного расплава. Остывшие тигли со сплавом помещали в полиэтиленовые стаканы, заливали 50 см³ кипящей воды и оставляли на сутки. После этого добавляли 20 см³ 6 н HCl, переливали смесь

в мерную колбу и разбавляли до объема 100 см³ дистиллированной водой. Аликвотную часть анализируемого раствора 2 см³ отбирали в полипропиленовый стаканчик, добавляли 5 см³ цитратного буферного раствора, содержащего 250,0 г/дм³ лимонной кислоты (C₆H₉O₈ · 2H₂O) и 145,0 г/дм³ гидроксида натрия, доводили до объема 10 см³ дистиллированной водой, перемешивали и измеряли ЭДС электродной системы. Значение рН в измеряемых растворах составляло 5,0±0,1 ед. Концентрацию фторид-ионов в растворах определяли по градуировочным графикам.

В работе использованы химические реактивы производства ООО «Реахим» (Москва) квалификации «химически чистый» без дополнительной очистки.

Результаты и обсуждение

Результаты определения содержания общего и водорастворимого фтора в исследованных образцах чая представлены в таблице. Из полученных данных видно, что концентрации фторид-ионов в растворах, полученных при заваривании чая, составили от 1,1 до 4,5 мг/дм³ при среднем значении 3,1 мг/дм³. Средние значения концентраций фторидов в настоях крупнолистовых и пакетированных чаёв оказались близки и составили 3,3 и

2,8 мг/дм³ соответственно. Содержание водорастворимого фтора в пакетированных чаях варьирует в гораздо меньшей степени, чем в крупнолистовых.

Фтор в исследованных образцах чая находится преимущественно в водорастворимой форме. Доля водорастворимого фтора в крупнолистовых и пакетированных чаях составила 81 и 76% от его общего содержания соответственно. Полученные результаты согласуются с данными работ [19, 20], показывающими, что доля водорастворимого фтора в чае может достигать 96%. В нескольких образцах пакетированных чаёв («Tess», «Лисма зелёный», «Curtis») доля водорастворимого фтора оказалась значительно меньше средней – 32–39%.

На примере пакетированного чая «Майский» изучена зависимость концентрации фторидов в водной фазе от времени при заваривании чая (рис.).

Из полученных данных видно, что за первые 5 мин с начала заваривания в водную фазу переходит порядка 75% от максимально возможного количества фторидов.

Общее содержание фтора в исследованных образцах варьирует в диапазоне 290–760 мг/кг и в среднем составляет 409 мг/кг. Существенной разницы между средними содержаниями фтора в пакетированных (428 мг/кг) и крупнолистовых (390 мг/кг) чаях не отмечается.

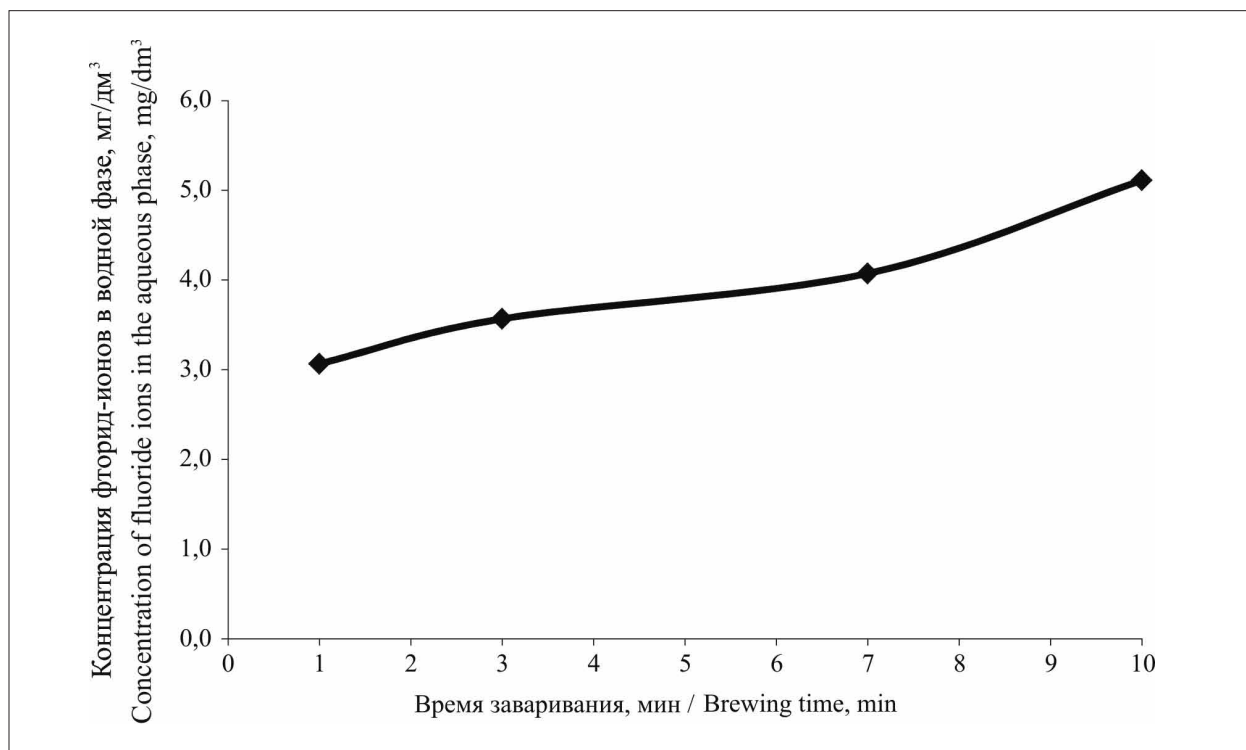


Рис. Зависимость концентрации фторидов в водной фазе от времени при заваривании чая
 Fig. Dependence of fluoride concentration in the aqueous phase on time during tea brewing

Содержание фтора в исследованных образцах чая
The fluorine content in the investigated samples of tea

№	Марка чая Tea brand	Концентрация фторид-ионов в настое чая, мг/дм ³ Fluoride ion concentration in tea, mg/dm ³	Содержание фтора, мг/кг Fluorine content, mg/kg		Доля водораство- римого фтора, % Fraction water soluble fluoride, %	Доля от суточной нормы фтора для взрослых, %* Share from daily fluoride for adults, %*
			водораство- римый фтор water soluble fluoride	общий фтор total fluorine		
Крупнолистовые чаи / Large-leaf tea						
1	«Золотые спирали» “Zoloty spirali”	3,1	310	390	79	78
2	«Маленькая леди» “Malenkaya ledi”	3,0	300	340	88	75
3	«Кандин» “Candin”	3,9	390	430	91	98
4	«Купи» “Kupi”	3,8	380	760	50	95
5	«Ричард» “Richard”	3,3	330	410	80	83
6	«Tess»	3,2	320	340	94	80
7	«Майский» “Mayskiy”	3,6	360	400	90	90
8	«Grenfield»	2,9	290	340	85	73
9	«Santata с апельсином и мятой» “Santata с apelsinom i myatoy”	3,1	310	440	70	78
Среднее значение Average value		3,3±0,3	332±28	428±100	81±10	83±7
Пакетированные чаи / Packeted teas						
10	«Майский» “Mayskiy”	3,9	390	420	93	98
11	«Липтон» “Lipton”	4,0	400	440	91	100
12	«Лисма черный» “Lisma chernyy”	2,4	240	290	83	60
13	«Лисма зелёный» “Lisma zelenyy”	1,1	110	340	32	28
14	«Ахмад» “Akhmad”	4,2	420	550	76	105
15	«Принцесса Нури» “Printsessa Nuri”	2,9	290	310	94	73
16	«Tess»	1,1	110	320	34	28
17	«Grenfield»	4,5	450	530	85	113
18	«Curtis чёрный» “Curtis black”	1,2	120	310	39	30
Среднее значение Average value		2,8±1,1	280±110	390±76	70±20	70±30
Среднее значение по всем образцам / Average value for all samples		3,1±0,5	310±51	409±57	76±11	77±13

Примечание: * – рассчитано для употребления чая 1,0 дм³/сут.

Note: * – calculated for tea consumption of 1.0 dm³/day.

Полученные в настоящей работе данные по содержанию фтора в чае достаточно хорошо согласуются с данными работ [15, 20, 21], показывающими, что общее содержание фтора в чае в большинстве случаев находится в диапазоне – 320–820 мг/кг, а концентрации фторид-ионов в настоях различных типов чаёв составляют 0,4–9,0 мг/дм³.

Для оценки риска для здоровья человека, связанного с поступлением в организм фторид-ионов при употреблении чая, использован подход, применённый в работе [22] на примере изучения воздействия фтора, содержащегося в чае, на здоровье жителей провинции Аньхой (Китай) и основанный на расчёте коэффициента опасности (hazard quotient) – *HQ*:

$$HQ = \frac{ADD}{RfD} \quad ADD = \frac{C \cdot IR}{m},$$

где *ADD* – хроническое ежедневное поступление фтора (мг/(кг · сут)), *RfD* – допустимое суточное поступление фторидов (0,06 мг/(кг · сут)), *C* – средняя концентрация водорастворимых фторидов в чае (мг/кг сухого вещества), *IR* – среднее суточное потребление чая (11,4 г/(чел · сут)), *m* – средняя масса тела взрослого человека – 62 кг. Полученное значение *HQ* составляет 0,93, что меньше единицы и указывает на низкую вероятность возникновения отрицательных последствий воздействия фторидов, содержащихся в чае, в длительной перспективе.

Учитывая, что рекомендуемая норма поступления фтора в организм человека составляет 2,5 мг/сут для детей и 4,0 мг/сут для взрослых [9, 15], можно заключить, что ежедневное употребление 1 дм³ в среднем обеспечивает 77% суточной потребности во фторе и способствует профилактике кариеса. Поступление фтора в организм с крупнолистовыми чаями в меньшей степени зависит от марки чая, чем для пакетированных чаёв и составляет 83±7 и 70±30% от суточной нормы.

Риск возникновения флюороза от употребления исследованных марок чая следует считать минимальным, поскольку максимальное найденное содержание фторидов в настое чая составило 4,5 мг/дм³, что соответствует употреблению 5,1 мг фторидов в сутки, при верхнем пределе толерантности организма по отношению к фтору 10 мг/сут [23].

Заключение

С использованием потенциометрического метода изучено содержание общего и водорас-

творимого фтора в 9 марках крупнолистовых и 9 марках пакетированных чаёв, реализуемых в торговых учреждениях на территории Московской области. Содержание фторид-ионов в настоях чая, полученных классическим способом заваривания, составило 1,1–4,5 мг/дм³, при среднем значении 3,1 мг/дм³. Наибольшие значения (> 4 мг/дм³) найдены для чаёв «Grenfield», «Ахмад» и «Липтон», минимальные (< 1,5 мг/дм³) – для чаёв «Лисма зелёный», «Tess» и «Curtis чёрный».

Показано, что фтор в исследованных образцах чая находится преимущественно в водорастворимой форме. На основе расчёта коэффициента опасности и сопоставления полученных концентраций фтора в чаях с рекомендуемыми нормами его поступления в организм установлено, что употребление чая исследованных марок обеспечивает порядка 80% от суточной нормы фтора, что способствует профилактике кариеса и характеризуется низкой вероятностью возникновения отрицательных последствий воздействия фторидов на организм в долгосрочной перспективе.

Литература

1. Cao J., Sha F.L., Liu J.W., Li Y. Safety evaluation on fluoride content in black tea // *Food Chemistry*. 2004. V. 86. P. 233–236.
2. Whitford G.M. Intake and metabolism of fluoride // *Advances in Dental Research*. 1994. V. 8. P. 5–14.
3. Malinowska E., Inkielewicz I., Czarnowski W., Szefer P. Assessment of fluoride concentration and daily intake by human from tea and herbal infusions // *Food and Chemical Toxicology*. 2008. V. 46. P. 1055–1061.
4. Mandiwana K.L., Panichev N., Panicheva S. Determination of chromium(VI) in black, green and herbal teas // *Food Chemistry*. 2011. V. 129. P. 1839–1843.
5. Fung K.F., Zhang Z.Q., Wong J.W.C., Wong M.H. Fluoride contents in tea and soil from tea plantations and the release of fluoride into tea liquor during infusion // *Environmental Pollution*. 1999. V. 104. P. 197–205.
6. Gramza-Michałowska A., Kobus-Cisowska J., Kmiecik D., Korczak J., Helak B., Dziedzic K., Gorecka D. Antioxidative potential, nutritional value and sensory profiles of confectionery fortified with green and yellow tea leaves (*Camellia sinensis*) // *Food Chemistry*. 2016. V. 211. P. 448–454.
7. Izuora K., Twombly J., Whitford G., Demertzis J., Pacifici R., Whyte M. Skeletal fluorosis from brewed tea // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2011. V. 96. P. 2318–2324.
8. Dhar V., Bhatnagar M. Physiology and toxicity of fluoride // *Indian Journal of Dental Research*. 2009. V. 20. P. 350–355.

References

9. Xiang Q., Zhou M., Wu M., Zho X., Lin L., Huang J., Liang Y. Relationships between daily total fluoride intake and dental fluorosis and dental caries // *Journal of Nanjing Medical University*. 2009. V. 23. P. 33–39.
10. Боринский Ю.Н., Боринская Е.Ю., Игнатъев Д.И. Фториды из напитка разных сортов чая в патогенезе и профилактике кариеса и флюороза зубов // *Микроэлементы в медицине*. 2008. Т. 9. С. 81–82.
11. Zhang R., Zhang H., Chen Q. Composition, distribution and risk of total fluorine, extractable organofluorine and perfluorinated compounds in Chinese teas // *Food Chemistry*. 2017. V. 219. P. 496–502.
12. Wong M.H., Fung K.F., Carr H.P. Aluminium and fluoride contents of tea, with emphasis on brick tea and their health implications // *Toxicology Letters*. 2003. V. 137. P. 111–120.
13. Liu Y., Cao D., Ma L. TMT-based quantitative proteomics analysis reveals the response of tea plant (*Camellia sinensis*) to fluoride // *Journal of Proteomics*. 2018. V. 176. P. 71–81.
14. Grumezescu A., Holban A.-M. *Food quality: balancing health and disease*. V. 13. Academic Press, 2018, 530 p.
15. Cao J., Zhao Y., Liu J. W. Safety evaluation and fluoride concentration of Pu'er brick tea and Bianxiao brick tea // *Food and Chemical Toxicology*. 1998. V. 36. P. 1061–1063.
16. Лошакова Л.Ю. Чай, как источник фтора в период беременности в регионе с низкой концентрацией фтора в питьевой воде // *Медицина в Кузбассе*. 2011. Т. 10. С. 45–48.
17. Petrenko D.B., Dmitrieva V.Yu., Gazarov R.A., Vasil'ev N.V. **Potentiometric micromethod for the determination of fluoride ion in natural objects** // *Fluorine notes*. 2018. V. 118. No. 3. P. 1–2.
18. ФР.1.31.2005.01774. Методика выполнения измерений водородного показателя (рН), общей жёсткости, массовых концентраций Cl⁻, Br⁻, I⁻, F⁻ и других ионов в водных средах методом потенциометрии. М.: Эконикс-эксперт, 2005. 127 с.
19. Kalayci S., Somer G. Factors affecting the extraction of fluoride from tea: application to three samples // *Fluoride*. 2003. V. 36. P. 267–270.
20. Das S., de Oliveira L.M., da Silva E., da Silva E., Liu Y., Ma L. Fluoride concentrations in traditional and herbal teas: Health risk assessment // *Environmental Pollution*. 2017. V. 231. P. 779–784.
21. Yi J., Cao J. Tea and fluorosis // *Journal of Fluorine Chemistry*. 2008. V. 129. P. 76–81.
22. Cai H., Zhu X., Peng C., Xu W., Li D., Wang Y., Fang S., Li Y., Hu S., Wan X. Critical factors determining fluoride concentration in tea leaves produced from Anhui province, China // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2016. V. 131. P. 14–21.
23. Chan L., Mehra A., Saikat S., Lynch P. Human exposure assessment of fluoride from tea (*Camellia sinensis* L.): A UK based issue? // *Food Research International*. 2013. V. 51. P. 564–570.
1. Cao J., Sha F.L., Liu J.W. Li Y. Safety evaluation on fluoride content in black tea // *Food Chemistry*. 2004. V. 86. P. 233–236. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.01.043
2. Whitford G.M. Intake and metabolism of fluoride // *Advances in Dental Research*. 1994. V. 8. P. 5–14. doi: 10.1177/08959374940080011001
3. Malinowska E., Inkielewicz I., Czarnowski W., Szefer P. Assessment of fluoride concentration and daily intake by human from tea and herbal infusions // *Food and Chemical Toxicology*. 2008. V. 46. P. 1055–1061. doi: 10.1016/j.fct.2007.10.039
4. Mandiwana K.L., Panichev N., Panicheva S. Determination of chromium(VI) in black, green and herbal teas // *Food Chemistry*. 2011. V. 129. P. 1839–1843. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.05.124
5. Fung K.F., Zhang Z.Q., Wong J.W.C., Wong M.H. Fluoride contents in tea and soil from tea plantations and the release of fluoride into tea liquor during infusion // *Environmental Pollution*. 1999. V. 104. P. 197–205. doi: 10.1016/S0269-7491(98)00187-0
6. Gramza-Michałowska A., Kobus-Cisowska J., Kmiecik D., Korczak J., Helak B., Dziedzic K., Gorecka D. Antioxidative potential, nutritional value and sensory profiles of confectionery fortified with green and yellow tea leaves (*Camellia sinensis*) // *Food Chemistry*. 2016. V. 211. P. 448–454. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.05.048
7. Izuora K., Twombly J.G., Whitford G., Demertzis J., Pacifici R., Whyte M. Skeletal fluorosis from brewed tea // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2011. V. 96. P. 2318–2324. doi: 10.1002/jbmr.2923
8. Dhar V., Bhatnagar M. Physiology and toxicity of fluoride // *Indian Journal of Dental Research*. 2009. V. 20. P. 350–355. doi: 10.4103/0970-9290.57379
9. Xiang Q., Zhou M., Wu M., Zho X., Lin L., Huang J., Liang Y. Relationships between daily total fluoride intake and dental fluorosis and dental caries // *Journal of Nanjing Medical University*. 2009. V. 23. P. 33–39. doi: 10.1016/S1007-4376(09)60023-X
10. Borinskiy Yu.N., Borinskaya E.Yu., Ignatev D.I. Fluorides from a drink of different varieties of tea in the pathogenesis and prevention of dental caries and dental fluorosis // *Mikroelementy v meditsine*. 2008. V. 9. P. 81–82 (in Russian).
11. Zhang R., Zhang H., Chen Q. Composition, distribution and risk of total fluorine, extractable organofluorine and perfluorinated compounds in Chinese teas // *Food Chemistry*. 2017. V. 219. P. 496–502. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.09.136
12. Wong M.H., Fung K.F., Carr H.P. Aluminium and fluoride contents of tea, with emphasis on brick tea and their health implications // *Toxicology Letters*. 2003. V. 137. P. 111–120. doi: 10.1016/S0378-4274(02)00385-5
13. Liu Y., Cao D., Ma L. TMT-based quantitative proteomics analysis reveals the response of tea plant (*Camellia*

- sinensis) to fluoride // Journal of Proteomics. 2018. V. 176. P. 74–81. doi: 10.1016/j.jprot.2018.02.001
14. Grumezescu A., Holban A.-M. Food quality: balancing health and disease. V. 13. Academic Press, 2018. 530 p.
15. Cao J., Zhao Y., Liu J.W. Safety evaluation and fluorine concentration of Pu'er brick tea and Bianxiao brick tea // Food and Chemical Toxicology. 1998. V. 36. P. 1061–1063. doi: 10.1016/S0278-6915(98)00087-8
16. Loshakova L.Yu. Tea as a source of fluoride during pregnancy in a region with a low concentration of fluoride in drinking water // Meditsina v Kuzbasse. 2011. V. 10. P. 45–48 (in Russian).
17. Petrenko D.B., Dmitrieva V.Yu., Gazarov R.A., Vasil'ev N.V. Potentiometric micromethod for the determination of fluoride ion in natural objects // Fluorine notes. 2018. V. 118. No. 3. P. 1–2.
18. FR.1.31.2005.01774. The measurement procedure for the hydrogen index (pH), total hardness, mass concentrations of Cl⁻, Br⁻, I⁻, F⁻ and others ions in aqueous media by potentiometry. Moskva: Ekoniks-expert, 2005. 127 p. (in Russian).
19. Kalayci S., Somer G. Factors affecting the extraction of fluoride from tea: application to three samples // Fluoride. 2003. V. 36. P. 267–270.
20. Das S., de Oliveira L.M., da Silva E., da Silva E., Liu Y, Ma L. Fluoride concentrations in traditional and herbal teas: Health risk assessment // Environmental Pollution. 2017. V. 231. P. 779–784. doi: 10.1016/j.envpol.2017.08.083
21. Yi J., Cao J. Tea and fluorosis // Journal of Fluorine Chemistry. 2008. V. 129. P. 76–81. doi: 10.1016/j.jfluchem.2007.11.001
22. Cai H., Zhu X., Peng C., Xu W., Li D., Wang Y., Fang S., Li Y., Hu S., Wan X. Critical factors determining fluoride concentration in tea leaves produced from Anhui province, China // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2016. V. 131. P. 14–21. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.04.023
23. Chan L., Mehra A., Saikat S., Lynch P. Human exposure assessment of fluoride from tea (*Camellia sinensis* L.): A UK based issue? // Food Research International. 2013. V. 51. P. 564–570. doi: 10.1016/j.foodres.2013.01.025

Public and municipal environmental control: problems and prospects of development in the Russian Federation

© 2020. D. G. Domrachev ^{ORCID: 0000-0002-7967-9129}
A. A. Kirillovykh ^{ORCID: 0000-0002-0035-9035}, V. N. Pugach ^{ORCID: 0000-0003-1220-4062}
Vyatka State University,
36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,
e-mail: zentr-pravo@mail.ru, kirillovykh2014@yandex.ru

The authors consider some problems of realization of public and municipal ecological control as types of public control in the sphere of environmental protection, including forms and methods of participation of the local population. Moreover, the effectiveness of municipalities in organizing appropriate control measures is evaluated.

The methodological basis of the study is the analytical method. It helps to consider the practice of regulation of environmental control, a method of comparative law that allows to reveal the system connections in legal regulation, regulatory features of legal acts, law enforcement practice in Russia and abroad.

Normative legal acts, decisions of law enforcement bodies, acts of official interpretation of law and doctrinal positions stated in scientific sources are materials for the study.

The authors identify practical problems and suggest measures for further legalization and improvement of public and municipal environmental control in the framework of the formation and development of civil society institutions in the Russian Federation.

Keywords: monitoring, supervision, ecology, law, state, municipality, community. environmental control, municipal environmental control, public environmental control.

УДК 349.6

Общественный и муниципальный экологический контроль: проблемы и перспективы развития в Российской Федерации

© 2020. Д. Г. Домрачев, к. ю. н., доцент, зав. кафедрой,
А. А. Кирилловых, к. ю. н., доцент, В. Н. Пугач, к. э. н., доцент, ректор,
Вятский государственный университет,
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,
e-mail: zentr-pravo@mail.ru, kirillovykh2014@yandex.ru

Рассмотрены отдельные проблемы реализации общественного и муниципального экологического контроля как видов публичного контроля в сфере охраны окружающей среды, в том числе форм и методов участия местного населения, а также оценки эффективности деятельности муниципальных образований в организации обеспечения соответствующих контрольных мероприятий.

Методологическую основу исследования составили аналитический метод, позволяющий рассмотреть практику регламентации вопросов организации экологического контроля, метод сравнительного правоведения, позволяющий раскрыть системные связи в правовом регулировании, регулятивные особенности правовых актов, правоприменительную практику в России и за рубежом.

В качестве материалов для исследования использованы нормативные правовые акты, решения правоприменительных органов, акты официального толкования права и доктринальные позиции, изложенные в научных источниках.

Определены практические проблемы и предложены меры по дальнейшей легализации и совершенствованию общественного и муниципального экологического контроля, а также комплекс мероприятий, требуемых к реализации в рамках формирования и развития институтов гражданского общества в Российской Федерации.

Ключевые слова: контроль, надзор, экология, право, государство, муниципалитет, общество, экологический контроль, муниципальный экологический контроль, общественный экологический контроль.

Market economy considers environmental control as an integral part of public administration which helps to promote rational environmental management, ensuring environmental protection and environmental safety. Nowadays the issue of developing the basics of state policy in the field of ecology in Russia and abroad is urgent. The concept of environmental safety in Europe has long been discussed in the scientific community [1–3] as an integral element of national security. In the Russian Federation, legal support of the state environmental policy requires the stability of legislation, strengthening of the control and supervision over its implementation [4, 5].

Foreign law considers the control and supervising activities of authorized public authorities as part of administrative-state management [6], including the sphere of ecology and environment. Currently, they are implementing state environmental supervision, keeping its federal and regional level of implementation as a type of control activity. In accordance with this distinction determined by the form of state structure, there are federal and regional state environmental supervision.

The practice of foreign countries shows a high level of effectiveness of civil society institutions in the field of environmental protection, including environmental control [7]. The role of public participation significantly increases [13] in processes of environmental protection and implementation of the sustainable development concept [8–12]. In the 1970s there appeared the practice of public participation in the discussion of issues related to environmental protection in some states [14]. The early 90s brought the concept of “public participation” in the development of environmental protection decisions, which allowed citizens to control the activities of both private production organizations and public regulatory authorities, and it came into use in Europe [7–8, 14–16].

The local nature of environmental problems confirms the effectiveness of their solution by local communities that have the necessary information about the negative factors of economic activity in certain territories.

At the same time, public environmental control promotes realization of citizens' constitutional rights [17–19]. As for the Russian law, we mean the realization of the right to a favorable environment [20], and participation in the state management. Self-control is able to some extent to increase the confidence of citizens and organizations in conducting control activities.

Public environmental control should become an integral part of environmental management [21].

The purpose of this work is to determine the main directions of development of legislation and organizational and legal mechanisms aimed to increase the effectiveness of environmental control, and fully realize the rights of citizens to a favorable environment.

Public control as an element of local public administration

Public environmental control is ecological function of the state, and its implementation is strategic in nature [22, 23]. An analysis of the basis of state policy of the Russian Federation in the field of environmental development up to 2030 [24] shows that the state does not pay significant attention to public environmental control in ensuring environmental protection.

Practical problems of implementing public environmental control are due to low level of awareness of citizens and public organizations about the state of the environment and sources of its impact within a particular municipality, lack of a clear definition of forms of public participation in control measures.

The information component in protecting the environment is an important condition for the necessary reaction of citizens to situations that can harm the environmental situation of a specific area. An environmental audit containing the necessary information about a particular object (enterprise) in terms of the environmental friendliness of its production processes (activities) can increase citizens' awareness of the risk of negative consequences for ecology and environment. Based on the analysis of this information, it is possible to develop appropriate measures (decisions) in relation to environmentally risky businesses. In this regard, the development and adoption of the Federal Law “On Environmental Audit” is important.

A dialogue between the government and society is of great importance in the framework of the democratization of public life management processes and widespread development of civil society institutions. As the state has an environmental function, it is necessary to achieve consensus between the two entities. The effectiveness of public environmental control is in real independence from government structures and department interests. The lack of necessary interaction, feedback, gives rise to serious negative consequences, resonant protests and

general dissatisfaction of citizens with the policies of the state in general, and local authorities in particular.

The low level of citizens' confidence in the effectiveness of environmental control by the state can be a factor in the development of local initiatives to protect their constitutional right to a favorable environment.

Effective control can be based on the institution of a public environmental inspector. Representatives of the public, residents of the relevant municipalities should be involved in the activities of official regulatory bodies.

Public environmental control can be carried out in various forms, including public hearings and their specific form – parliamentary hearings; referenda; public environmental review; appeals to the media; sending complaints, statements, claims to law enforcement agencies and the court.

Nowadays the mechanism of assessing the consequences of economic activity on the environment by the public is of particular importance. Its foundations are stated by the Order of the State Ecology Committee of the Russian Federation of 05.16.2000 No. 372 [25] and provide forms of participation of citizens (local communities) in decision-making regarding the economic activities of production facilities in the territories of municipalities. Specific forms are determined at the level of regulatory acts of local authorities and in some cases include public discussions (Khabarovsk Territory, Kurgan Region, Republic of Mordovia), in others – public hearings (Kaliningrad Region, Komi Republic, Novgorod Region).

The participation of the local population in assessing the consequences of economic activity is expressed in identifying and taking into account opinions on the location of capital construction projects within the boundaries of the municipality. Of course, such an opinion is not always necessary, if it concerns the construction of a residential building. But when it is supposed to place an object that can cause harm to the environment, then it is an ecologically significant object of capital construction. The consolidation of this concept, as well as an indication of the mandatory coordination of its construction with the local community in the legislation, is an important step towards democratization in the field of environmental management and control.

The experience of countries with a high level of anthropogenic pressure forces national governments to build a multi-stage system of environmental control and the countries of the

European Union are actively using the most optimal models [26]. For example, Germany has a three-level system of environmental control, an independent level forms municipal control, which includes control of the state of natural ecosystems, sanitary control, food safety control, etc. This system is focused on the initiative of the local population and allows citizens to actively participate in issues of local importance, including the field of environmental well-being [27].

We can state that the environmental control system, built on reasonable parity and the interaction of all levels of control activity (public and private), effectively ensures environmental safety interests of both the population of a particular municipality and the state as a whole.

Municipal environmental control in the mechanism of environmental protection: organizational and legal aspects

The special importance of municipal environmental control is associated with the direct influence of harmful factors in the territories of municipalities at the local level.

In accordance with the provisions of the Federal Law from 10.01.2002 No. 7-FZ (amended on July 29, 2018) "On Environmental Protection" (hereinafter – the Law No. 7-FZ) [28], the municipal environmental control was a type of environmental control and was carried out from 2002 to 2008. However, there were amendments to the legislation in the field of environmental protection, and now the Law No. 7-FZ does not treat municipal environmental control as a type of control activity. At the same time, according to environmental legislation in the broad sense, municipal control has a number of functions in the field of use and protection of natural resources, in particular, land, forestry, specially protected natural territories. For example, according to Art. 84 of the Forest Code of the Russian Federation from December 4, 2006 No. 200-FZ (amended on December 18, 2018) [29], the scope of local authorities is related to forest management in the part of municipal forest control in relation to forest plots that are in municipal ownership. That is, municipal control in the field of use and protection of natural resources is formally fixed and implemented, and the so-called municipal environmental control is absent. The current Federal Law "On Environmental Protection" does not mention, for example, municipal land control as the control activity of municipal authorities, which is actually carried out at the municipal level.

It seems that the development of the concept of “municipal environmental control” should have a broader sense. The determination of all its directions would solve not only the problems with the designation of the boundaries of the control activities of authorized bodies of local self-government, but also determine the responsibilities of the state and municipalities in the field of environmental safety.

Initially, the Federal Law of 06.10.2003 No. 131-FZ (amended on 04.24.2020) “On the General Principles of the Organization of Local Self-Government in the Russian Federation” (hereinafter – the Law No. 131-FZ) [30] assigned the powers to municipalities on the implementation of municipal environmental control. However, later, Law No. 131-FZ was amended according to which local authorities were deprived of the authority to implement municipal environmental control and the corresponding concept was withdrawn from the law. Such legal innovations were due to the fact that despite the allocation of municipal environmental control as a type of environmental control system, it did not receive the necessary implementation in practice. Most municipalities had serious difficulties in organizing control measures in the absence of sufficient budget funds.

The special role and importance of local self-government in solving environmental problems within a specific territory at the present stage determines the need to revive this type of environmental control. In addition, individual state powers in the field of state environmental control can be transferred to the local level with the provision of subventions from the respective budgets. It will allow local governments to solve environmental problems at the local level within the framework of solving state problems (for example, in relation to objects of social, cultural and other significance).

If such innovations are implemented in the current legislation, a functional separation of municipal environmental control and regional environmental control is necessary in order to avoid duplication of powers. These measures will ensure a reasonable balance between the need for economic development of the territories, taking into account the environmental friendliness of production and environmental protection from the activities of economic entities.

It should be noted that the implementation by local governments of their powers under Art. 18.1. Law No. 131-FZ (amended on April 24, 2020) “On the General Principles of the Organization of Local Self-Government in the Russian

Federation” requires a necessary assessment of effectiveness. In this regard, Decree of the President of the Russian Federation from April 28, 2008 No. 607 (amended on May 9, 2018) “On the evaluation of the effectiveness of local authorities in urban districts and municipal districts” [31] set performance indicators for the activities of local governments. An analysis of the provisions of the Decree shows that there are no necessary environmental performance indicators in relation to the activities of municipalities. Similar performance indicators were also established for public authorities of the constituent entities of the Russian Federation by Decree of the President of the Russian Federation from April 25, 2019 No. 193 [32]. However, they have no necessary values of the ecological situation in the region. Such environmental indicators should be included in indicators of sustainable development of territories, and should be taken into account in the group of environmental, social and economic indicators.

Conclusion

Based on the analysis of the problems of ensuring environmental control at the municipal level, we suggest a number of comprehensive measures aimed to improve the organizational and legal mechanism for the implementation of the state’s environmental function in terms of public administration in the field of environmental protection.

1. When implementing regulatory decisions regarding the assignment of environmental control functions to municipalities, the list of available performance indicators should include environmental quality standards. At the same time, the implementation of this proposal on the use of environmental indicators in assessing the effectiveness of individual municipalities is possible only with the transfer of appropriate authority to the level of municipalities and the necessary funding for monitoring activities.

2. It is necessary to define the whole list in the legislation (without an expanded interpretation) of objects of public and municipal environmental control. It makes possible to exclude the possibility of interference by control and supervisory authorities of other levels of government in those areas that are outside the scope of their functional powers, and provides an opportunity for full-fledged economic development of territories and economic entities.

3. At the public level, important environmental tasks can be solved by municipalities

in their implementation of control over the use of land on the territory of the municipality, the organization of the disposal of household waste, and forest management in the city.

4. Non-governmental organizations (associations) and bodies of territorial public self-government may participate in resolving issues affecting the interests of the population and related to the seizure, including purchasing of land for state and municipal needs and providing these land for construction.

5. Among the issues that can be resolved in the framework of public environmental control measures at the municipal level, we can distinguish the following ones:

- compliance with environmental norms and requirements when using land, forests, water bodies of local importance, local common minerals, construction of underground structures of local importance;

- the presence of sanitary protection zones of an enterprise – nature user approved in the established manner;

- the impact of the nature user's activities on specially protected natural territories, on the state of water protection zones of water bodies and the green zone;

- the implementation of environmental measures, municipal programs, treaties and agreements to ensure the implementation of the environmental interests of the population;

- compliance with the use and protection of green spaces, landscaping.

References

1. Hulme K. Environmental security: implications for international law // *Yearbook of International Environmental Law*. 2009. V. 19. No. 1. P. 3–26.
2. Wouters P., Vinogradov S., Magsig B.O. Water security, hydrosolidarity and international law: a river runs through it // *Ibid*. 2009. P. 97–134.
3. Scholtz W. Collective (environmental) security: The yeast for the refinement of international law // *Ibid*. P. 2009. 135–162.
4. Volkov A. Public administration: oversight and control issues // *Administrativnoe i municipalnoe pravo*. 2015. No. 7. P. 738–743 (in Russian).
5. Vagina O.V., Gaevskaya E.Y., Savina L.Y. Environmental safety as a component of the national security of the Russian Federation // *Biznes, Menedzhment i Pravo*. 2018. No. 2. P. 27 (in Russian).
6. Guillaume B., Deschodt J.-P., Verpeaux M. *Dictionnaire de la politique et de l'administration*. Paris, PUF, 2011. 67 p.
7. Pitruk A.V. Legal foundations for economic regulation of the environmental management and protection ecology // *Topical Problems of Control-2013: Theses of the International scientific-practical conference*. Moskva: SUM, 2013. P. 27–35 (in Russian).
8. du Plessis A. Public participation, good environmental governance and fulfillment of environmental rights // *P.E.R.* 2008. V. 2. P. 6. [Internet resource] <http://www.ajol.info/index.php/pelj/article/view/42232/9351> (Accessed: 08.11.2019).
9. World Commission on Environment and Development. *Our Common Future* / Ed. Brunt-land G. Oxford: 1987. 43 p.
10. Magraw D.B., Hawke L.D. Sustainable development // *The Oxford handbook of international environmental law* / Eds. D. Bodansky, J. Brunnee, E. Hey. Oxford, 2007. 618 p.
11. Atapattu S.A. *Emerging principles of international environmental law*. Ardsley: Transnational Publishers, 2006. 350 p.
12. Sands Ph., Peel Ja., Fabra A., MacKenzie R. Principles of international environmental law [Internet resource] https://assets.cambridge.org/97811084/20952/frontmatter/9781108420952_frontmatter.pdf (Accessed: 08.11.2019).
13. Ryan D.E. Integrating development and public participation into international environmental governance: a Latin American perspective on a World Environmental Organization. P. 2 [Internet resource] <http://www.farn.org.ar/docs/art16.pdf> (Accessed: 08.11.2019).
14. Richardson B.J., Razzaque J. Public participation in environmental decisionmaking // *Environmental Law for Sustainability* / Eds. B.J. Richardson, S. Wood. Oxford: Hart Publishing, 2006. P. 165–194.
15. Holder J., Lee M. *Environmental protection, law and policy: text and materials*. Oxford, 2007. 87 p.
16. Anton D.K., Shelton D.L. *Environmental protection and human rights*. Cambridge, 2011. 357 p.
17. Kloepfer M. *Umweltrecht*. Muenchen: Beck, 2008. 1964 p. (in German).
18. Bender B., Sparwasser R., Engel R. *Umweltrecht – Grundzüge des oeffentlichen Umweltschuttsrechts*, Mueller, Heidelberg, 2000. 447 p. (in German).
19. Erbguth W., Schlake S. *Umweltrecht*. Baden-Baden: Nomos, 2008. 75 p. (in German).
20. Krasnova I.O. The right to a favorable environment as constitutional and environmental law // *Actual problems of Russian law*. 2019. No. 8. P. 165–175 (in Russian). doi: 10.17803/1994-1471.2019.105.8.165-175
21. Kichigin N.V. *Legal problems of public environmental control (supervision): monograph*. Moskva: Triumph, 2012. 328 p. (in Russian).
22. Zhavoronkova N.G., Vypkhanova G.V. Legal problems of strategizing in environmental law // *Lex russica*. 2020. No. 1. P. 28–42 (in Russian). doi: 10.17803/1729-5920.2020.158.1.028-042
23. Kharkov V.N. Ensuring environmental safety and sustainable development as constitutional principles

of environmental policy of the Russian Federation // *Ekologicheskoe pravo*. 2019. No. 4. P. 3–6 (in Russian).

24. Fundamentals of state policy in the field of environmental development of the Russian Federation for the period up to 2030 (approved by the President of the Russian Federation 30.04.2012) // *Spravochno-pravovaya sistema Konsul'tant Plyus* (in Russian).

25. Order of the State Committee of the Russian Federation for environmental protection of 16.05.2000 No. 372 “On approval of the Regulations on the assessment of the impact of planned economic and other activities on the environment in the Russian Federation” // *Byulleten' normativnyh aktov federal'nyh organov ispolnitel'noy vlasti*. 2000. No. 31. 31 Jul. (in Russian).

26. Winter G. Assessment of the impact of alternative projects on the environment // *Ekologicheskoe pravo*. 2018. No. 5. P. 30–36 (in Russian).

27. Pitryuk A.V. To concerning the credentials of the municipal environmental monitoring // *Municipal'naya sluzhba: pravovye voprosy*. 2015. No. 1. P. 11–13 (in Russian).

28. Federal law of 10.01.2002 No. 7-FZ (as amended on 29.07.2018) “On environmental protection” // *Sobranie zakonodatel'stva Rossiyskoy Federacii*. 2002. No. 2. P. 133 (in Russian).

29. Forest code of the Russian Federation from 04.12.2006 No. 200-FZ (Ed. from 18.12.2018) // *Sobranie zakonodatel'stva Rossiyskoy Federacii*. 2006. No. 50. P. 5278 (in Russian).

30. Federal law of 06.10.2003 No. 131-FZ (Ed. from 24.04.2020) “On General principles of organization of local self-government in the Russian Federation” // *Collection of legislation of the Russian Federation*. 2003. No. 40. P. 3822 (in Russian).

31. Decree of the President of the Russian Federation of 28.04.2008 No. 607 (Ed. from 09.05.2018) “On the evaluation of the effectiveness of local governments of urban districts and municipal areas” // *Sobranie zakonodatel'stva Rossiyskoy Federacii*. 2008. No. 18. P. 2003 (in Russian).

32. The decree of the President of the Russian Federation from 25.04.2019 No. 193 “About assessment of efficiency of activity of the Supreme officials (heads of higher Executive bodies of state power) of subjects of the Russian Federation and enforcement authorities of subjects of the Russian Federation” // *Sobranie zakonodatel'stva Rossiyskoy Federacii*. 2019. No. 17. P. 2078 (in Russian).

СЛОВО О НАШЕМ ГЛАВНОМ РЕДАКТОРЕ

Тамара Яковлевна Ашихмина. Имя, знакомое тысячам и тысячам людей в России и одно из самых знаковых для города Кирова и Кировской области, где она родилась, стала почётным гражданином за неоценимый вклад в развитие образования и науки, за своё гражданское мужество, высочайшую принципиальность при решении любых жизненно важных для людей проблем. К своему юбилею Тамара Яковлевна подошла, имея столько заслуг и столько свершений, что их перечислять очень долго и очень трудно, потому что невозможно представить, что всё это сделано одним человеком.

Она никогда не шла проторёнными путями, всегда выбирая новое и неизведанное. Это и создание нового научного направления, связанного с комплексным мониторингом территорий в районе объекта хранения и уничтожения химического оружия, это и воспитание молодых специалистов, широкая научно-общественная и педагогическая деятельность. Это и создание нашего журнала «Теоретическая и прикладная экология». Наверное, нет аналогов в мире, как на энтузиазме одного человека, практически на пустом месте создавался этот журнал, который постепенно завоевывал позиции в научном мире, привлекая к авторству в нём и крупнейших учёных, и молодых, талантливых исследователей, объединив вокруг себя в составе редколлегии увлечённых людей, готовых после основной работы часами до глубокой ночи работать над присланными в журнал статьями.

Этот великий дар организатора, способного увлечь и привлечь людей, идёт от самой ранней юности и, наверное, унаследован от отца, человека, прошедшего страшную войну, возглавившего колхоз в труднейшие послевоенные годы. И сама Тамара Яковлевна – это ребёнок мая победного 1945 года. Качества лидера проявились у неё с первых дней учёбы в институте, где она возглавляла комсомольскую организацию. Юная, хрупкая внешне, она уже тогда обладала необычайными навыками организатора, огромной силой воли. Наверное, такими не становятся, такими только рождаются: уметь убеждать людей делать то, что надо, но чего не хочется делать, найти подход к каждому человеку и открыть в нём то, о чём и сам человек не подозревает, сочетать необходимую требовательность с уважением к желаниям и возможностям каждого.

И слава лучших студентов в городе в учебных и комсомольских делах, спорте, самодеятельности была нужна ей не ради собственного честолюбия и собственной славы (о них она не думала тогда, как не думает сейчас), а ради своего института.

Если сейчас спросить Тамару Яковлевну о её наградах и званиях, вряд ли она вспомнит хотя бы половину из них. Зато с тех давних времён и до сегодняшних дней она любит хвалить людей за их достижения, поощрять их, гордиться ими.

К любому делу, которым занималась и занимается Тамара Яковлевна, она относится очень серьёзно и ответственно. И этого она ждёт от других.

После окончания института Тамара Яковлевна защитила кандидатскую диссертацию по химии, была секретарём райкома и горкома комсомола, секретарём горкома КПСС, секретарём обкома КПСС по идеологии. У неё была очень высокая по тем временам должность (фактически второй человек в области после первого секретаря обкома партии). Но, по сравнению со многими партийными функционерами, многими начальниками, её отличала та доступность и простота, какие были и в её юные институтские годы. Она всегда внимательно слушала всех, пыталась максимально честно ответить на все вопросы, а это были очень непростые годы в жизни страны: конец 80-х – начало 90-х.

А потом начались очень трудные для Тамары Яковлевны годы, годы гонения на КПСС, когда всех коммунистов клеймили как злейших врагов, когда распалась страна, сменился строй и идеология. Она стала работать рядовым доцентом кафедры химии педагогического института, хотя, надо сказать, что преподавательской работы она никогда не бросала.

Но только спокойная, размеренная работа не для неё. Для Тамары Яковлевны по-новому открылась болевая точка нашей страны, да и мира в целом – это проблема обострения экологической ситуации. Неслучайно докторская диссертация Тамары Яковлевны посвящена актуальной на то время для Вятской земли задаче – созданию системы комплексного экологического мониторинга объекта хранения и уничтожения химического оружия «Марадыковский», которую она успешно защитила в 2003 г. Итоги диссертации обобщены в монографии «Комплексный экологический

мониторинг объектов хранения и уничтожения химического оружия». Она подобрала команду, открыла лабораторию биомониторинга, входящую в штат Института биологии Коми научного центра. Лаборатория стала первой в г. Кирове научной лабораторией, принадлежащей Российской академии наук. В лабораторию пришли работать люди разных специальностей, из разных научных и учебных заведений г. Кирова.

Решение интереснейших научных задач, совместная работа в коллективе единомышленников, который объединяет ботаников, микробиологов, зоологов, почвоведов, химиков и физиков. Получение результатов, имеющих не только большое научное значение, но и значимый прикладной аспект, позволяющий решать экологические проблемы региона, возможность постоянного общения с научными работниками других городов и стран.

Тамара Яковлевна сумела сделать невозможное в наше время: под её руководством дважды в год (зимой и весной) с 2003 г. проходят всероссийские научные конференции с международным участием «Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем» и «Экология родного края». По итогам обеих конференций выходят сборники материалов, которые постоянно используют в своей работе студенты, аспиранты, научные работники, преподаватели нашей страны. Эти конференции дают возможность общения маститых учёных и тех, кто только начинает свой путь в науке. Эти конференции стали практически стартовой площадкой для защиты многих кандидатских и докторских диссертаций, для реализации многих научных проектов. Если бы кто-то когда-либо записал отзывы участников конференций об их организации и их главном организаторе Тамаре Яковлевне – это был бы фактически гимн необычайно талантливому, щедрому, мудрому человеку.

За время существования лаборатория биомониторинга издала несколько коллективных монографий под редакцией Т.Я. Ашихминой, которые обобщили результаты оригинальных научных исследований сотрудников лаборатории, их аспирантов и диссертантов.

Не случайно, кандидатские и докторские диссертации, выполненные в лаборатории, возглавляемой Тамарой Яковлевной, защищаются в крупнейших престижных научных центрах России – МГУ им. М.В. Ломоносова, Южном федеральном университете (г. Ростов-на-Дону), Институте биологии Коми научного центра РАН.

Ещё один этап работы Тамары Яковлевны – создание журнала «Теоретическая и прикладная экология», главным редактором которого она стала. За эти годы журнал стал одним из самых рейтинговых научных журналов России, в нём публикуют результаты своих исследований крупнейшие учёные нашей страны. А впереди у Тамары Яковлевны всё новые и новые планы.

Мы, члены редколлегии и сотрудники лаборатории биомониторинга благодарны Тамаре Яковлевне за всё. Мы любим Вас и восхищаемся Вами. Пусть все наши горячие чувства нежности, любви и верности сделают хоть чуть-чуть легче Вашу жизнь. Но всё равно Вы будете постоянно искать новые направления работы. И этот поиск вечный. Пусть ещё долгие-долгие годы будут неразрывны Ваша жизнь и наши жизни:

Бесконечные майские дали...
Молодая листва за окном...
Вы учились, мечтали, дерзали,
Были первой всегда и во всём.

Лидер в жизни и лидер в науке –
Многогранный и яркий талант.
Острый ум и умелые руки –
Наш бесценный пожизненный грант.

Город Киров недаром
Гордится Тамарой,
Потому что Тамара
Его совесть и слава.

Химик, эколог, учёный,
Вождь, вдохновитель, редактор.
Девочка с рыжею чёлкой
В женщине мудрой осталась.
И сквозь годы всегда пробьётся
Вашей юности вечной солнце.

Далеко убегают облака по весеннему небу.
Майский ветер шумит
и тихонько качает листву.
В нашем городе светлом Вас любят,
Вас ценят, Вам верят,
Так, как верят в удачу, в спасенье, в судьбу.

Кто подарил Вам такую мудрость,
Быть вечно первой, где очень трудно?
Быть вечно первой, где неизвестность.
Дорога Ваша – дорога чести.

*Коллектив редколлегии журнала
«Теоретическая и прикладная экология»
и лаборатории биомониторинга
Института биологии
Коми НЦ УрО РАН и ВятГУ*

К ЮБИЛЕЮ ТАМАРЫ ЯКОВЛЕВНЫ АШИХМИНОЙ



Тамара Яковлевна с ректором ВятГУ В. Н. Пугачем и директором Института химии и экологии С.В. Фоминым на совещании по созданию федерального научно-образовательного консорциума «Передовые ЭкоТехнологии»



Тамара Яковлевна с доктором химических наук В. И. Холстовым, руководителем центра аналитических исследований по Конвенциям о запрещении химического оружия ФГУП «ГосНИИОХТ»



Тамара Яковлевна с лётчиком-космонавтом, дважды Героем СССР В.П. Савиных – участниками конференции «Экология родного края: проблемы, пути решения»



70-летний юбилей Тамары Яковлевны: поздравляют ректор ВятГУ В.Т. Юнгблюд и проректор Ю.А. Балыбердин

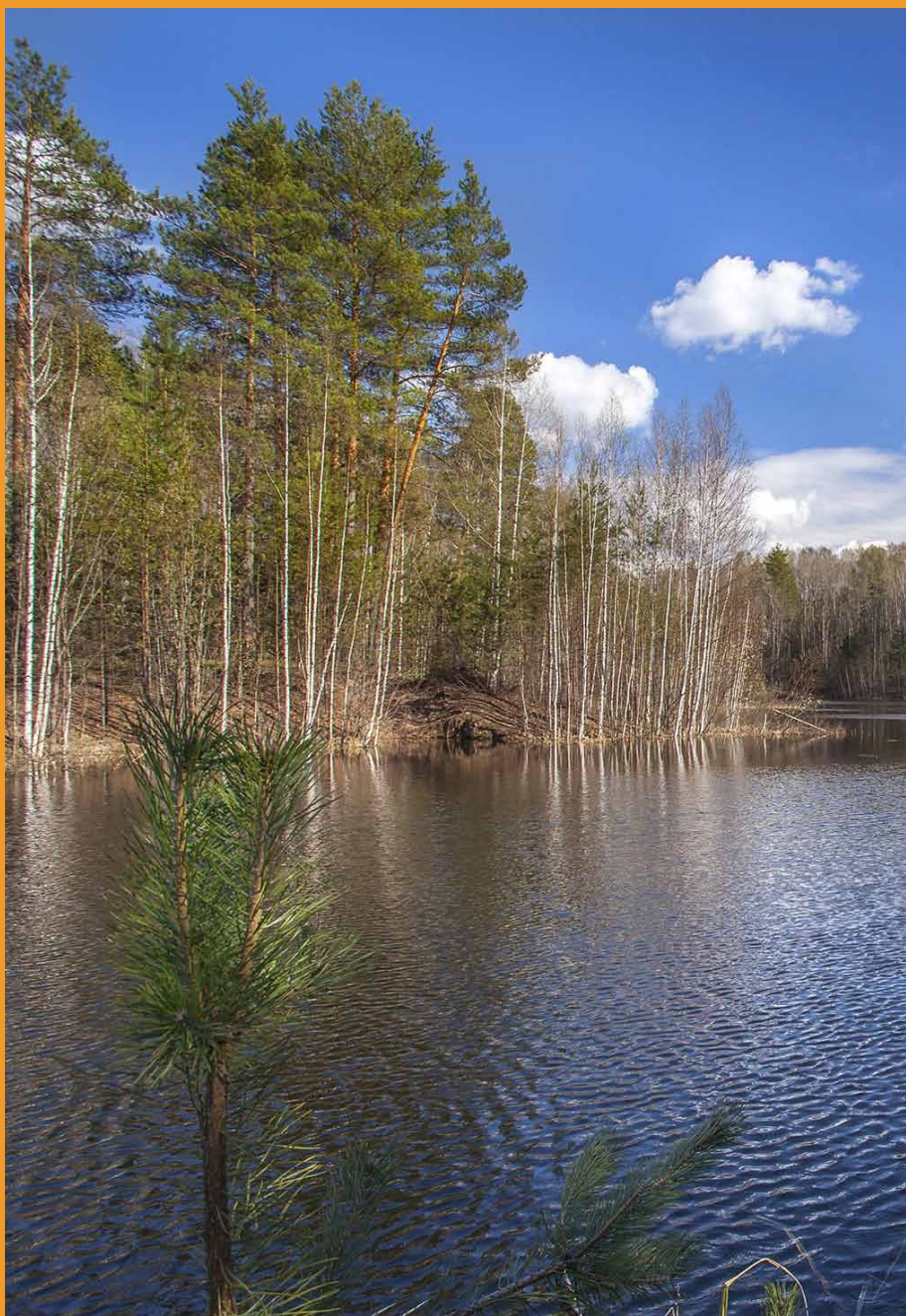


Тамара Яковлевна со своей первой аспиранткой, сейчас уже к.т.н., доцентом ВятГУ А.С. Ольковой



Коллектив лаборатории биомониторинга на презентации книги «Т. Я. Ашихмина. Учёный. Химик-эколог. Педагог. Общественный деятель» из серии «Почётные граждане города Кирова»

Индекс 82027, 48482



ISSN 1995-4301



9 771995 430004