



2020

*Теоретическая  
и прикладная*

**ЭКОЛОГИЯ**

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

**№ 3**

**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>

# НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР ВНЕДРЕНИЯ BIOTEХНОЛОГИИ



*Руководитель НОЦ внедрения  
биотехнологии В. Г. Комоско*



На базе Вятского государственного университета 1 июля 2015 г. создан научно-образовательный центр (НОЦ) внедрения биотехнологий, основной целью которого является организация научно-экспериментального производственного учебного центра по разработке и внедрению биопрепаратов, создаваемых на основе новейших биотехнологий. Научно-образовательный центр оборудован современными приборами, оборудованием и установками.

В НОЦ активно действует ряд научно-исследовательских лабораторий:

- микробиологическая лаборатория, оснащённая ламинарным боксом, микроскопом, рН-метром, термостатом, бытовыми холодильниками, шейкер-инкубатором, низкотемпературным холодильником, высокоскоростной центрифугой;
- лаборатория разработки пищевого оборудования и отработки технологий переработки молока;
- лаборатория оценки качества входного сырья и готовой продукции.

Оборудован и введён в эксплуатацию аппаратный зал, с установленными в нём лиофильной сушильной установкой, ультра- и микрофильтрационной системой для концентрирования и разделения микроорганизмов «Сартокон-мини», аппаратами культиваторами «БИОР-0,25», «БИОР-0,1» с датчиками контроля ведения технологического процесса, сепаратором АСГ-3М. Кроме того, имеются участок фасовки и приготовления готовых форм биопрепаратов; склад хранения реактивов, питательных сред и готовой продукции; препаратурская и другие вспомогательные помещения.

На базе НОЦ проводится разработка экспериментальных малозатратных полупромышленных технологий на основе лабораторных испытаний, обеспечивающих их последующее масштабирование и выпуск продукции на предприятиях микробиологической промышленности. Организуется оформление объектов интеллектуальной собственности и диссертационных работ аспирантов, соискателей, в том числе выпускников различных ВУЗов, а также оформление заявок для участия в целевых программах. Научными сотрудниками НОЦ реализуется выпуск экспериментальных серий биологических препаратов и оказание консультативных услуг по их применению, а также обеспечивается подготовка разрешительной документации на их использование.

Важной составляющей деятельности НОЦ является обучение и подготовка квалифицированных кадров для предприятий биологической промышленности. На базе НОЦ с использованием лабораторного и технологического оборудования проводятся практические занятия по промышленной микробиологии, биотехнологии, экологии, выполняются курсовые, дипломные проекты, обеспечивается научная и производственно-технологическая практика студентов.

Наряду с этим, коллектив центра нацелен и участвует в решении региональных экологических проблем, в том числе по отработке новых перспективных технологий ликвидации техногенных аварийных ситуаций, готов к сотрудничеству с учебными, научными и производственными организациями.



610020, Россия, г. Киров, ул. Володарского, 2,  
НОЦ внедрения биотехнологий ФГБОУ ВО ВятГУ  
+7 (8332) 742-603 [vg\\_komosko@vyatsu.ru](mailto:vg_komosko@vyatsu.ru)



Журнал включён в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёных степеней доктора и кандидата наук (№ 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, главный научный сотрудник, зав. лабораторией Института биологии Коми НЦ УрО РАН и Вятского государственного университета

**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. Скугорева**, 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](mailto: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](mailto: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: 20.09.2020.  
Тираж 250 экз. Заказ № 0689. 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 Федерального исследовательского центра «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. Доронников** 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 по науке и инновациям Вятского государственного университета
- 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., академик 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. Юнгблюд** д.и.н., профессор Вятского государственного университета



# Theoretical and Applied ECOLOGY

No. 3, 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, Chief Researcher,  
Head of Laboratory of Vyatka State University, Institute of Bio-  
logy 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, 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 Dymamoskiy 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".  
Release date: 20 September 2020.  
Circulation 250 copies. Order No. 0689. Free price.

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 Federal Research Center "Komi Science Center of the Ural Branch of RAS"
- T.K. Golovko** Doctor in Biology, Professor, 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, 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 of 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 of 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, Academician 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 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

- Т. Н. Ажогина, С. Г. Скугорева, А. А. К. Аль-Раммахи, Н. В. Пянная, М. А. Сазыкина, И. С. Сазыкин* Влияние поллютантов на распространение генов устойчивости к антибиотикам в окружающей среде ..... 6
- Е. Б. Романова, Е. И. Соломайкин* Экологические аспекты организации иммунной системы рептилий ..... 15

## СТАТЬИ

- Y. A. Tunakova, S. V. Novikova, D. V. Ivanov, A. R. Shagidullin, V. S. Valiev, A. J. Morais* Approaches for establishing threshold concentrations of priority pollutants in urban ecosystem components .... 23
- I. Bica, M. Solomonovich* A dynamical model of the coral-algae competition in a coral reef ecosystem ..... 29
- Т. И. Кутявина, В. В. Рутман, Т. Я. Ашишмина* Дистанционный мониторинг зарастания высшей водной растительностью акватории эвтрофированного водохранилища ..... 36
- Е. А. Домнина, Т. А. Адамович, А. С. Тимонов, Т. Я. Ашишмина* Thematic interpretation of high-resolution satellite images of vegetation based on field research data ..... 41
- Н. В. Богачева, Н. В. Позолотина, Н. П. Савиных, И. А. Коновалова* Отработка методики выделения и подготовки культуры базидомицетов для микоризации почвы ..... 46
- А. В. Гильдебрант, Л. И. Домрачева, В. А. Выростков, И. С. Сазыкин, Е. М. Кудеевская, М. А. Сазыкина* Влияние поверхностно-активных веществ на формирование биоплёнки штаммом *Acinetobacter calcoaceticus* ВКПМ В-10353 ..... 52
- А. Ф. Меysurova, А. А. Notov* Metal and metalloid contents in lichens from specially protected conservation areas ..... 58
- В. А. Коршунова, Е. Д. Лодыгин, М. В. Чарыкова, С. Н. Чуков* Сорбционное взаимодействие ионов золота и его элементов-спутников с гуминовыми кислотами торфянисто-подзолистых почв ..... 66
- А. В. Пунгин, К. В. Чайка, П. В. Федурев, Н. В. Николаева, А. С. Коломиец* Оценка влияния городской среды на видовое разнообразие и физиолого-биохимические особенности лишайников .... 72
- М. Л. Бурдуковский, П. А. Перепелкина, И. В. Киселева* Динамика растительности и свойств почв залежных экосистем ..... 78
- Э. Б. Дедова, В. И. Иванова, Г. Н. Кониева* Экологический мониторинг водоёмов Кумо-Маньгской впадины ..... 84
- М. Г. Дворников, В. В. Ширяев, В. Г. Сафонов, Д. П. Стрельников* Мониторинг природных и природно-антропогенных объектов в провинции Вятско-Камской возвышенности ..... 91
- В. Г. Терещенко, Ф. М. Шакирова, В. З. Латыпова, Н. Ю. Степанова, Ю. А. Северов, О. К. Анохина, А. Р. Гайсин, А. В. Гранин, Р. Р. Нуретдинов* Новый подход к оценке состояния запасов рыб на примере леща ..... 97
- Т. Ю. Браславская, Е. В. Тихонова, Д. В. Сухова, Н. Г. Уланова, К. Б. Попова, О. В. Чередищенко* Экологическая дифференциация синтаксонов лесной растительности Звенигородской биостанции МГУ .... 105
- L. V. Teteryuk, Yu. A. Bobrov, V. Yu. Teteryuk, T. I. Marchenko-Vagarova, Yu. V. Golubeva, V. A. Kanev, S. N. Plyusnin* *Lycopodiella inundata* (L.) Holub (Lycopodiaceae) in the Komi Republic (Russian Federation) ..... 111
- А. И. Фокина, С. Г. Скугорева, Л. И. Домрачева, А. Л. Ковина* Антагонистическая и сорбционная активность моно-, бинарных и трёхвидовых биоплёнок почвенных цианобактерий ..... 119
- И. К. Евстигнеева, В. П. Евстигнеев, И. Н. Танковская* Альгоценозы обрастания берегового гидротехнического сооружения в условиях штормовой деятельности (Крым, Чёрное море) ..... 126
- Л. В. Бойцова, К. Г. Мусеев, В. Н. Пищик, Е. Г. Зинчук, Ю. В. Хомяков* Исследование и экологическая оценка сложного компоста ... 133
- Л. В. Волкова, И. Н. Щенникова* Сравнительная оценка методов расчёта адаптивных реакций зерновых культур ..... 140

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ  
ПРОБЛЕМЫ  
ЭКОЛОГИИ

МЕТОДОЛОГИЯ  
И МЕТОДЫ  
ИССЛЕДОВАНИЙ.  
МОДЕЛИ И  
ПРОГНОЗЫ

ХИМИЯ ПРИРОДНЫХ  
СРЕД И ОБЪЕКТОВ

МОНИТОРИНГ  
ПРИРОДНЫХ И  
АНТРОПОГЕННО  
НАРУШЕННЫХ  
ТЕРРИТОРИЙ

ПОПУЛЯЦИОННАЯ  
ЭКОЛОГИЯ

АГРОЭКОЛОГИЯ

## АГРОЭКОЛОГИЯ

- Л. М. Козлова, Е. Н. Носкова, Ф. А. Попов* Оптимизация полевых севооборотов, как фактор сохранения почвенного плодородия и экологизации земледелия ..... 147
- В. И. Лазарев, Ж. Н. Минченко, А. Я. Башкатов* Агроэкологическое обоснование применения микроэлементных удобрений при возделывании яровой пшеницы ..... 154
- Л. В. Филип, В. А. Козвонин, Н. В. Сырчина, Е. П. Колеватых, Т. Я. Ашихмина* Влияние подкисления навозных стоков на их микробиологические характеристики ..... 161
- Е. М. Лаптева, Ю. А. Виноградова, С. И. Лоскутов, Я. В. Пухальский, Е. М. Перминова, В. А. Ковалева, Н. Т. Чеботарев* Влияние органических удобрений на структуру и состав почвенных микробных сообществ в агроценозах средней тайги (на примере Республики Коми) ..... 168

## ЭКОТОКСИКОЛОГИЯ

- В. А. Оборин, Т. Я. Ашихмина* Экспериментальное обоснование возможности применения эритроцитов в качестве модели при изучении мембраноповреждающего действия наночастиц ..... 176
- Н. М. Абдуллаева, П. Ш. Гитинова, Н. А. Загирова, Ш. И. Чалабов* Биотестирование неоникотиноида тиаметоксама с использованием сеголеток *Cyprinus carpio* ..... 182
- Н. Г. Рачкова, О. В. Раскоша* Последствия поступления урана и радия-226 в организмы растений и животных на территории складирования отходов радиевого промысла ..... 188

## РЕМЕДИАЦИЯ И РЕКУЛЬТИВАЦИЯ

- И. А. Дегтярева, Т. Ю. Мотина, Э. В. Бабынин, А. М. Ежкова, А. Я. Давлетшина* Эколого-токсикологическая оценка процесса биоремедиации нефтезагрязнённой почвы ..... 196

## СОЦИАЛЬНАЯ ЭКОЛОГИЯ

- И. Д. Дебеляя, Г. Ю. Морозова* Городские особо охраняемые природные территории в зелёной инфраструктуре города Хабаровска ..... 203
- Е. М. Концева, И. Ю. Попов, Д. Ю. Власов, Е. В. Перишина, Е. Е. Андронов, Е. В. Абакумов* Влияние урбанизации на процессы биологических инвазий в Арктике (на примере Ямальского региона) ..... 210
- Y. M. Gordeeva* Uncertainty and multifunctionality: legal challenges and opportunities for “Green Infrastructure” ..... 217
- М. А. Азямов* Влияние диальдерона на процесс инфицирования клеточных культур некоторыми вирусами ..... 224

## CONTENTS

### REVIEWS

- T. N. Azhogina, S. G. Skugoreva, A. A. K. Al-Rammahi, N. V. Gnennaya, M. A. Sazykina, I. S. Sazykin* Influence of pollutants on the spread of antibiotic resistance genes in the environment ..... 6
- E. B. Romanova, E. I. Solomaykin* Ecological aspects of the immune system of reptiles ..... 15

### ARTICLES

- Y. A. Tunakova, S. V. Novikova, D. V. Ivanov, A. R. Shagidullin, V. S. Valiev, A. J. Morais* Approaches for establishing threshold concentrations of priority pollutants in urban ecosystem components ..... 23
- I. Bica, M. Solomonovich* A dynamical model of the coral-algae competition in a coral reef ecosystem ..... 29
- T. I. Kutjavina, V. V. Rutman, T. Ya. Ashikhmina* Remote monitoring of overgrowth of the eutrophied reservoir water area by higher aquatic vegetation ..... 36
- E. A. Domnina, T. A. Adamovich, A. S. Timonov, T. Ya. Ashikhmina* Thematic interpretation of high-resolution satellite images of vegetation based on field research data ..... 41
- N. V. Bogacheva, N. V. Pozolotina, N. P. Savinykh, I. A. Konovalova* Checkout of methods for isolation and preparation of basidiomycete cultures for mycorrhization of soil ..... 46
- A. V. Gildebrant, L. I. Domracheva, V. A. Vyrostkov, I. S. Sazykin, E. M. Kudevskaya, M. A. Sazykina* The influence of surface-active substances on biofilm formation by the *Acinetobacter calcoaceticus* VKPM B-10353 strain ..... 52
- A. F. Meysurova, A. A. Notov* Metal and metalloid contents in lichens from specially protected conservation areas ..... 58
- V. A. Korshunova, E. D. Lodygin, M. V. Charykova, S. N. Chukov* Sorption interaction of gold and its pathfinder elements with humic acids of peat-podzolic soils ..... 66

## THEORETICAL PROBLEMS OF ECOLOGY

## METHODOLOGY AND RESEARCH METHODS. MODELS AND FORECASTS

## CHEMISTRY OF NATURAL ENVIRONMENTS AND OBJECTS

**MONITORING  
OF ANTHROPO-  
GENICALLY  
DISTURBED  
AREAS**

- A. V. Pungin, Ch. V. Chaika, P. V. Feduraev, N. V. Nikolaeva, A. S. Koplomiets* Assessment of the influence of the urban environment on species diversity and physiological and biochemical characteristics of lichens ....72
- M. L. Burdukovskii, P. A. Perepelkina, I. V. Kiseleva* Dynamics of vegetation and soil properties of fallow ecosystems ..... 78
- E. B. Dedova, V. I. Ivanova, G. N. Konieva* Environmental monitoring of water reservoirs of Kumo-Manych depression ..... 84
- M. G. Dvornikov, V. V. Shiryaev, V. G. Safonov, D. P. Strelnikov* Monitoring of natural and natural-anthropogenic objects in the province of Vyatka-Kama Upland ..... 91

**POPULATION  
ECOLOGY**

- V. G. Tereshchenko, F. M. Shakirova, V. Z. Latypova, N. Y. Stepanova, Yu. A. Severov, O. K. Anokhina, A. R. Gaisin, A. V. Granin, R. R. Nuretdinov* New approach to assessing the state of fish stocks on the example of bream ..... 97
- T. Yu. Braslavskaya, E. V. Tikhonova, D. V. Sukhova, N. G. Ulanova, K. B. Popova, O. V. Cherednichenko* Ecological differentiation of forest syntaxa at MSU's Zvenigorod Biological Station ... 105
- L. V. Teteryuk, Yu. A. Bobrov, B. Yu. Teteryuk, T. I. Marchenko-Vagapova, Yu. V. Golubeva, V. A. Kanev, S. N. Plyusnin* *Lycopodiella inundata* (L.) Holub (Lycopodiaceae) in the Komi Republic (Russian Federation) ..... 111
- A. I. Fokina, S. G. Skugoreva, L. I. Domracheva, A. L. Kovina* Antagonistic and sorption activity of mono-, binary, and three-species biofilms of soil cyanobacteria ..... 119
- I. K. Evstigneeva, V. P. Evstigneev, I. N. Tankovskaya* Algocenoses of fouling of onshore hydraulic structures under conditions of storm (Crimea, the Black Sea) ..... 126

**AGROECOLOGY**

- L. V. Boitsova, K. G. Moiseev, V. N. Pishchik, E. G. Zinchuk, Yu. V. Khomyakov* Research and environmental assessment of complex yard compost ..... 133
- L. V. Volkova, I. N. Shchennikova* Comparative evaluation of methods for calculating adaptive responses of cereals ..... 140
- L. M. Kozlova, E. N. Noskova, F. A. Popov* Optimization of field crop rotations as a factor of soil fertility preservation and greening of agriculture .... 147
- V. I. Lazarev, J. N. Minchenko, A. Ya. Bashkatov* Agroecological justification for the use of complex micronutrient-enriched fertilizers in the cultivation of spring soft wheat ..... 154
- L. V. Pilip, V. A. Kozvonin, N. V. Syrchina, E. P. Kolevatykh, T. Ya. Ashikhmina* Effects of acidifying manure effluent on its microbiological characteristics ..... 161
- E. M. Lapteva, Yu. A. Vinogradova, S. I. Loskutov, Ya. V. Puhalsky, E. M. Perminova, V. A. Kovaleva, N. T. Chebotarev* Influence of organic fertilizers on the structure and composition of soil microbial communities in agrocenoses of the middle taiga (on the example of the Komi Republic) ..... 168

**ECOTOXICOLOGY**

- V. A. Oborin, T. Ya. Ashikhmina* Experimental substantiation of the possibility of using red blood cells as a model for studying the membrane damaging effect of nanoparticles ..... 176
- N. M. Abdullaeva, P. S. Gitinova, N. A. Zagirova, S. I. Chalabov* Biotesting of neonicotinoids of thiamethoxam with the use of *Cyprinus carpio* ..... 182
- N. G. Rachkova, O. V. Raskosha* Consequences of uranium and radium-226 entering into the organisms of plants and animals in territory of radioactive wastes storage ..... 188

**REMEDIATION  
AND RECULTIVATION**

- I. A. Degtyareva, T. Yu. Motina, E. V. Babynin, A. M. Ezhkova, A. Ya. Davletshina* Ecological and toxicological assessment of bioremediation of oil-contaminated soil ..... 196

**SOCIAL ECOLOGY**

- I. D. Debelaya, G. Yu. Morozova* Urban protected areas in green infrastructure of Khabarovsk City ..... 203
- E. M. Koptseva, I. Yu. Popov, D. Yu. Vlasov, E. V. Pershina, E. E. Andronov, E. V. Abakumov* An influence of urbanization on the processes of biological invasions in Arctic (on example of Yamal Autonomous Region) ..... 210
- Y. M. Gordeeva* Uncertainty and multifunctionality: legal challenges and opportunities for "Green Infrastructure" ..... 217
- M. A. Aziamov* Dialderon effect on cell cultures infection by some viruses .... 224

## Влияние поллютантов на распространение генов устойчивости к антибиотикам в окружающей среде

© 2020. Т. Н. Ажогина<sup>1</sup>, аспирант, м. н. с.,

С. Г. Скугорева<sup>2</sup>, к. б. н., н. с.,

А. А. К. Аль-Раммахи<sup>3</sup>, аспирант, Н. В. Гненная<sup>1</sup>, магистр,

М. А. Сазыкина<sup>1</sup>, д. б. н., в. н. с., профессор,

И. С. Сазыкин<sup>1</sup>, к. б. н., в. н. с.,

<sup>1</sup>Южный федеральный университет,

344090, Россия, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, д. 194/2,

<sup>2</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,

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

<sup>3</sup>Технический университет им. Аль-Фурата Аль-Авсата,

54003, Ирак, г. Наджаф, ул. Хилла, д. 70,

e-mail: tazhogina@sfedu.ru, skugoreva@mail.ru, ameer.iraq1982@gmail.com,

gnennaya@sfedu.ru, samara@sfedu.ru, issa@sfedu.ru

Развитие бактерий, устойчивых к антибиотикам (АБ), является одной из наиболее значительных проблем в современной медицине и представляет серьёзную угрозу для здоровья человека. Изучение влияния различных химических соединений на диссеминацию генов антибиотикорезистентности (АРГ) у бактерий крайне важно для контроля распространения резистентности как в клинических условиях, так и природных микробиомах. Загрязнение окружающей среды различными поллютантами способствует распространению антибиотикорезистентных бактерий (АРБ) и АРГ в микробных сообществах окружающей среды. В данном обзоре проанализировано современное состояние исследований, оценивающих влияние различных поллютантов на распространение генов антибиотикоустойчивости в природных микробценозах. Антибиотики и тяжёлые металлы способствуют распространению АРГ и селекции штаммов, обладающих лекарственной устойчивостью. В ряде работ последних лет показано, что диссеминации АРГ и АРБ способствует также масса других, в том числе слабо изученных, поллютантов. Для таких загрязнителей, как полициклические ароматические углеводороды и пестициды в обзоре рассматриваются возможные механизмы, способствующие распространению резистентности к антибиотикам. Влияние микропластика исследовано недостаточно, но за счёт сорбции других поллютантов он, вероятно, может способствовать распространению АРГ.

**Ключевые слова:** гены антибиотикорезистентности; бактерии, резистентные к антибиотикам; загрязняющие вещества; полициклические ароматические углеводороды; природные микробиомы; распространение резистентности.

## Influence of pollutants on the spread of antibiotic resistance genes in the environment

© 2020. Т. Н. Azhogina<sup>1</sup> ORCID: 0000-0003-0274-783X, S. G. Skugoreva<sup>2</sup> ORCID: 0000-0003-2371-4949,

A. A. K. Al-Rammahi<sup>3</sup> ORCID: 0000-0002-6314-6416, N. V. Gnennaya<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-3691-3317,

M. A. Sazykina<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-6974-3361, I. S. Sazykin<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-0864-1473,

<sup>1</sup>Southern Federal University,

194/2, Stachki Prospekt, Rostov-on-Don, Russia, 344090,

<sup>2</sup>Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of RAS,

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

<sup>3</sup>Technical University Al-Furat Al-Awsat,

70, Hill St., Najaf, Iraq, 54003,

e-mail: tazhogina@sfedu.ru, skugoreva@mail.ru, ameer.iraq1982@gmail.com,

gnennaya@sfedu.ru, samara@sfedu.ru, issa@sfedu.ru



genes can be carried by uncultivated bacteria. It has been shown that introduction of pollutants into the environment contributes to the active selection of ARB and antibiotic-resistance genes (ARG). Antibiotics stimulate reproduction of ARB and selection of ARG. Resistance to heavy metals and antibiotics is achieved by the same mechanisms, which leads to the selection of ARG in environments contaminated with heavy metals. Bacteria can decompose polyaromatic hydrocarbons (PAH) or use them as a source of nutrients. Bacteria that are unable to decompose PAHs to fewer toxic products use various mechanisms to remove polyaromatic hydrocarbons from cells. Thus, with the help of efflux pumps, not only PAHs can be removed from cells, but also antibiotics or heavy metals, which leads to the emergence of ARG. The factor in the joint selection of ARG, resistance to heavy metals, and PAHs biotransformation genes is also their joint localization on mobile genetic elements. Resistance genes to metals and ARG are often a part of the same plasmids. For genes of hydrocarbon biodegradation pathways, transmission is shown using type I integrons, which also often transmit multidrug resistance. Resistance to pesticides occurs as the result of mutation. The mutated enzyme may be able to decompose not only pesticides, but also antibiotics. Microplastics are hydrophobic and capable of adsorbing a variety of pollutants. Large particles of microplastics promote the spread of antibiotic resistance genes. Multiple antibiotic resistance is an important public health issue. Understanding the mechanisms of emergence and spread of ARG may help to solve this problem.

**Keywords:** antibiotic resistance genes, antibiotic resistant bacteria, pollutants, polyaromatic hydrocarbons, natural microbiomes, resistance spread.

Гены устойчивости к антибиотикам (АРГ) рассматриваются как новый вид загрязнения и привлекают всё большее внимание в связи с их широким присутствием в окружающей среде. АРГ стали более распространёнными не только в результате сильного селективного давления антибиотиков (АБ), но и других факторов антропогенного воздействия [1].

Почвенный микробиом является резервуаром для множества АРГ, включая ещё не изученные. В нём также осуществляются различные генетические механизмы передачи генов устойчивости. Антропогенная деятельность также может способствовать переносу антибиотикорезистентных бактерий (АРБ) и АРГ в почвы, одновременно оказывая избирательное давление, которое может увеличивать количество почвенных АРГ. Кроме того, физические качества почвы могут оказывать существенное влияние на активность и стабильность как АБ, так и АРГ в почвенных частицах [2].

Ранее было установлено, что на распространение АРГ влияют тяжёлые металлы (ТМ), дезинфицирующие средства и АБ. Позднее появились работы, посвящённые влиянию различных поллютантов, таких как наночастицы, лекарственные препараты, средства личной гигиены, микропластик, сточные воды и полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), на микробные сообщества и распространение АРГ в различных средах. Но имеющаяся информация относительно взаимодействия «новых» [3, 4] и давно исследуемых органических поллютантов (за исключением АБ, бактериоцидов), а также ТМ на динамику АРГ весьма ограничена, и мировая библиография насчитывает всего несколько десятков работ [5].

Источниками генов антибиотикоустойчивости могут являться: органические вещества

(сточные воды [6–8], навоз, применяемый для удобрения почв [9, 10]), биологические агенты (бактериофаги [11]). Воздействие АРБ и АРГ, поступающих из окружающей среды, может усилить распространение детерминант устойчивости в микробиоме человека [12]. Многие гены устойчивости к АБ, обнаруженные в патогенных бактериях, могли быть привнесены из природных микробиоценозов и претерпели дальнейшую эволюцию, что указывает на безотлагательную необходимость определения резервуаров устойчивости к АБ в окружающей среде [13].

Приобретённая устойчивость к АБ возникает, когда восприимчивые бактерии приобретают гены, кодирующие механизм резистентности, посредством мутации или, чаще, передачи генетического материала от бактерий того же или другого вида. Передача может происходить несколькими способами: конъюгация, трансдукция и трансформация [14]. Это всё различные способы горизонтального переноса генов (ГПГ), который является основной движущей силой распространения устойчивости к АБ у бактерий [15].

При конъюгации гены устойчивости к противомикробным препаратам переносятся из одной бактериальной клетки в другую в составе таких мобильных генетических элементов (МГЭ) как конъюгативные плазмиды, конъюгативные транспозоны и геномные острова. При трансдукции генетический материал от одной бактерии к другой переносят бактериофаги. Как правило, это умеренные бактериофаги, способные встраиваться в бактериальную хромосому. При вырезании они способны мобилизовать фрагменты хромосомы. Остальные, весьма разнообразные мобильные генетические элементы, перемещаются между клетками лишь в составе перечисленных выше [16]. При трансформации

(поглощении бактерией внеклеточной ДНК) участие МГЭ и вовсе не обязательно, но АРГ, интегрированные в мобилом, встраиваются в бактериальные репликоны гораздо эффективнее. В реальности различные механизмы могут сочетаться – так, например, известны гибриды бактериофагов и плазмид [17].

Кроме того, химические соединения (например, АБ и ТМ) в различных концентрациях могут обеспечивать постоянный селективный отбор, способствуя эволюции существующих и появлению новых детерминант устойчивости [18]. Но влияние поллютантов на природные резистомы не ограничивается лишь АБ и ТМ. Известно, что в диссеминации АРГ и АРБ участвуют также ароматические углеводороды [19], пестициды [20] и другие органические загрязнители.

Целью данного обзора является привлечение внимания специалистов-экологов к проблеме распространения АРГ под воздействием широкого спектра различных органических поллютантов, а также к слабой изученности механизмов и степени влияния различных классов соединений на этот процесс.

### **Влияние антибиотиков на распространение АРГ в окружающей среде**

АБ представляют собой класс вторичных метаболитов, продуцируемых микроорганизмами, а также химически синтезированных аналогичных соединений, которые способны ингибировать рост и выживание других микроорганизмов. АБ используют в клинической практике, а также для профилактики, лечения и стимуляции роста животных. АБ присутствуют в окружающей среде в остаточных количествах и попадают туда главным образом с мочой, человеческим калом и навозом животных, а также с производственными сточными водами. Остатки АБ загрязняют почву, поверхностные и подземные воды, и в итоге способствуют размножению АРБ и распространению АРГ. На количество остатков АБ и пул бактерий, устойчивых к АБ, и их генов устойчивости в природных экосистемах влияет множество факторов: сброс промышленных и муниципальных сточных вод, стоки с удобренных сельскохозяйственных земель, эффективность микробиологической деградации АБ в очистных сооружениях и т. д. [21]. В частности, во всём мире относительно высок уровень загрязнения АБ воды и донных отложений. В поверхностных водах

он колеблется от нг/л до мкг/л, в то время как в донных отложениях и водных организмах варьирует от нг/г до мкг/г (в пересчёте на сухое вещество) [22].

Несколько АРГ часто обнаруживаются на одной и той же плазмиде или других мобильных генетических элементах, что приводит к корреляциям, обнаруженным с резистентностью к различным АБ [23]. В других исследованиях отмечалась слабая корреляция между АБ и АРГ или её отсутствие [24, 25]. Это можно объяснить тем, что микробные популяции могут сохранять гены устойчивости в течение длительного времени после их первоначального появления, что может привести к отсутствию прямой корреляции между АБ и АРГ [26]. Кроме того, появление в среде АБ способствует появлению устойчивости не только к этому классу АБ, но и к другим. Так, например, значительные положительные корреляции между количеством АРГ и соответствующими АБ или другим классом АБ были обнаружены в агроэкосистемах в Китае [27], Корее [28], Буркина Фасо и Камеруне [29]. Также, кроме возникновения непосредственной устойчивости к АБ, сами АБ могут стимулировать горизонтальный и вертикальный перенос генов [30].

Таким образом, АБ не только способствуют возникновению устойчивости к ним, но и её распространению посредством горизонтального и вертикального переноса генов. Но, поскольку АРГ сохраняются в среде дольше, чем сами АБ, прямую связь между ними не всегда возможно обнаружить. Необходимо также учитывать, что природные микробиомы являются резервуаром, в котором возникло и поддерживается разнообразие генетического материала, связанного с устойчивостью к АБ. Микроорганизмы продуцируют АБ в природе более 2 млрд лет. В течение всего этого времени у бактерий развивались механизмы резистентности к их токсическому действию [31].

### **Влияние тяжёлых металлов на распространение АРГ в окружающей среде**

Основными источниками поступления ТМ в почву, воду и донные отложения являются различные виды антропогенного воздействия, например, транспорт, металлургическая, лакокрасочная, химическая промышленность, получение тепла и энергии при сжигании ископаемого топлива, муници-

пальные и промышленные твёрдые и жидкие отходы [32, 33], сельскохозяйственная деятельность [34] и др.

Микробиота может достичь устойчивости к АБ посредством следующих механизмов: снижения проницаемости мембраны для АБ, инактивации АБ, активного выведения АБ за пределы клетки (эффлюкс), мутации гена, кодирующего мишень АБ, продукции бактерией альтернативных мишеней и образования бактериальных биоплёнок [35]. Стоит отметить, что резистентность к металлам достигается путём применения аналогичных стратегий. Например, устойчивость к As, Mn, Co, Cu, Ag, Zn, ципрофлоксацину, β-лактамам, хлорамфениколу и тетрациклину достигается снижением проницаемости мембран [36]. Устойчивость к As, Hg, хлорамфениколу и β-лактамам достигается инактивацией АБ/металлов [37, 38]. Многие микроорганизмы устойчивы к Cu, Co, As, Zn, Cd, тетрациклину, хлорамфениколу и β-лактамам благодаря активному выведению металла или АБ за пределы клетки [39]. Необходимо также отметить, что Cu, например, облегчает конъюгативный перенос плазмиды RP4 за счёт эффекта повреждения клеток, тем самым ускоряя передачу и пролиферацию ARG [40].

В исследованиях, проведённых в работе [41], показана опосредованная плазмидами устойчивость бактерий к тяжёлым металлам ( $Hg^{2+}$  и  $Cu^{2+}$ ) и АБ. Кроме того, совместное распространение плазмид-опосредованной устойчивости к ТМ и АБ наблюдалось у *E. coli*, присутствующей в микробиоме домашних животных [42].

Однако, могут иметь место и обратные эффекты. Su с коллегами исследовали влияние четырёх типичных наночастиц металлов и оксидов металлов (Cu, Zn, CuO и ZnO) на ARG. Наличие наночастиц уменьшало разнообразие ARG, при этом наночастицы оксида металла вызывали более выраженный эффект уменьшения количества и разнообразия ARG по сравнению с растворимыми формами. В итоге комбинированные эффекты корпускулярных и растворимых форм металлов определяют степень распространения ARG [3].

В процессе реализации токсических эффектов металлы или АБ сталкиваются с одними и теми же мишенями, что в результате приводит к апоптозу или развитию резистентности к АБ, вызванной металлами (или, наоборот, резистентности к металлам, вызванной АБ), а также способствуют ко-селекции соответствующих детерминант резистентности.

## Влияние ПАУ на распространение ARG в окружающей среде

Полициклические ароматические углеводороды повсеместно распространены в различных средах, и их концентрации возрастают в случае антропогенного загрязнения и техногенных аварий. В результате загрязнения ПАУ значительно изменяется структура почвенных бактериальных сообществ. Толерантные к ПАУ бактериальные изоляты из среды, сильно загрязнённой углеводородами, часто проявляют высокую устойчивость к металлам и АБ [19]. Концентрации ПАУ в почвах определяются балансом между их накоплением в результате атмосферного осаждения и потерей из-за летучести, биodeградации, фотолитиза [43].

Бактерии могут использовать различные стратегии противодействия токсичности ПАУ. Они способны разлагать ПАУ до менее токсичных метаболитов, используя группу внутриклеточных ферментов, а также использовать ПАУ в качестве питательных веществ для поддержания роста, когда они являются единственным источником углерода [44, 45]. Кроме того, даже те бактериальные популяции, которые не способны разлагать ПАУ, могут использовать различные способы для того, чтобы избежать токсического воздействия этих углеводородов [46]. Так, эффлюксные насосы, способные выводить токсичные вещества за пределы клеток, являются широко распространённым механизмом устойчивости к различным поллютантам, таким как АБ, ТМ, ПАУ [47]. Показано, что ARG, кодирующие перенос АБ ароматического ряда через эффлюксные насосы, распространены в почвах, подверженных загрязнению ПАУ [19].

Установлена сильная положительная корреляция между быстро десорбирующейся фракцией пирена и содержанием ARG [48]. Таким образом, биодоступный пирен, а не общий пирен, играет основную роль в поддержании и изменении содержания ARG в почве. Этому может способствовать возникновение окислительного стресса, SOS-ответа, мутагенеза и ГПГ при деградации ПАУ [49–51].

В исследовании [1] показано, что в прибрежных микробных сообществах, подвергшихся воздействию ПАУ, присутствовали интегроны I класса, несущие гены *fadD* и *fadK*, связанные с минерализацией ПАУ [52]. Обычно количество интегронов в любой водной экосистеме коррелирует со степенью загрязнения

АБ и ТМ [53]. Интегроны, особенно интегроны класса I, очень часто положительно коррелировали с количеством АРБ и АРГ в реках [54]. Например, большое количество (40%) мультирезистентных бактерий, содержащих интегроны класса I, были обнаружены в реке Торса, Индия. Более того, большее количество мультирезистентных бактерий положительно коррелировало с содержанием интегровов в микробиоме, что доказывает значительную связь между мультирезистентностью и интегронами [55]. Вероятно, ПАУ способствовали распространению генов *fadD* и *fadK* среди различных микроорганизмов. Одновременно, вместе с ними, ПАУ способствовали совместному отбору АРГ, поскольку эти два типа генов могут существовать в одном и том же интегрене I класса. Это означает, что механизм совместного отбора может быть вовлечён в конъюгативный перенос АРГ, индуцированный ПАУ.

#### Влияние пестицидов на распространение АРГ в окружающей среде

Присутствие в окружающей среде пестицидов способствует нарушению сложившихся микробиомов и появлению и распространению бактерий, резистентных к пестицидам.

Микроорганизмы-деконструкторы пестицидов могут обладать устойчивостью к антимикробным веществам, включая АБ, из-за схожести действия этих веществ и пестицидов [20].

Появление у бактериального штамма устойчивости к пестициду посредством генетических мутаций, которые позволяют штамму одновременно обладать резистентностью к ряду АБ, называется перекрёстной устойчивостью. Эволюция путей деградации пестицидов, наряду с генетическими мутациями, привела к повышению уровня множественной лекарственной устойчивости среди почвенных бактерий из-за постоянного поступления пестицидов [56, 57]. Пестициды могут проникать в организм человека и животных с пищей, что приводит к появлению в микрофлоре организма бактерий с множественной лекарственной устойчивостью в результате перекрёстной резистентности. Таким образом, пестициды влияют на микроорганизмы, способствуя развитию устойчивости к АБ.

Гены устойчивости к пестицидам всегда передаются в виде генных кластеров, и эти кластеры могут нести гены устойчивости к АБ. Кроме того, для некоторых индуцированных мутаций изменённый активный сайт целевого

фермента может расщеплять как пестициды, так и АБ, что приводит к перекрёстной резистентности. В литературе встречаются сообщения о бактериях, демонстрирующих устойчивость к пестицидам, а также к широкому спектру АБ [58]. В одном из исследований штаммы бактерий дикого типа (*Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*) постоянно подвергались воздействию сублетальных концентраций гербицидов (Камба, Раундап и 2,4-D). Впоследствии у них развилась устойчивость к таким АБ, как ампициллин, тетрациклин, цiproфлоксацин, канамицин и хлорамфеникол [59]. Таким образом, загрязнение окружающей среды пестицидами приводит к росту количества индуцированных мутаций, обеспечивающих резистентность к пестицидам (и АБ), а также распространению штаммов, обладающих перекрёстной устойчивостью. Кроме того, влияние пестицидов может усиливать распространение АРГ за счёт ко-селекции генных кластеров, несущих детерминанты резистентности как к пестицидам, так и к АБ.

#### Влияние загрязнения микропластиком на распространение АРГ в окружающей среде

Микропластиком считаются частицы пластика размером менее 5 мм [60], которые могут накапливаться в воде [61], почве [62], а также в живых организмах [63], и в итоге попадать в организм человека с пищей. Микропластик способен адсорбировать ТМ и гидрофобные органические загрязнители. Адсорбция органических загрязнителей микропластиком включает поверхностную адсорбцию и заполнение пор полимерных структур [64]. Так как микропластик, как и многие органические загрязнители, обладает гидрофобными свойствами, он способен легко адсорбироваться частицами почвы и органическими веществами [65].

Свойства, источник и возраст микропластика влияют на его адсорбционную способность [66]. В работе [64] исследована адсорбция  $Zn^{2+}$  на поверхности микропластика и обнаружено, что в результате этого облегчается биодоступность ионов цинка. Проведено исследование [67], показывающее, что частицы микропластика крупных размеров способны адсорбировать большое количество АРГ и ТМ, а также мобильных генетических элементов, которые могут способствовать распространению устойчивости к АБ. Роль собственно микроскопических

частиц пластика в распространении ARG практически не исследована. Но результаты опубликованных работ позволяют утверждать, что частицы микропластика, сорбируя органические загрязнители, ТМ и генетический материал, содержащий детерминанты резистентности, способны создавать высокие локальные концентрации поллютантов. Как следствие, микропластик в местах накопления создаёт условия, крайне благоприятные для распространения ARG.

В целом корреляционный анализ показал более сильную положительную связь между численностью ARG и содержанием биодоступных органических загрязнителей, по сравнению с общим количеством органических загрязнителей. Это свидетельствует о прямом влиянии биодоступности смешанных загрязнителей на распространение ARG в почве [68].

### Заключение

Появление бактерий, обладающих множественной устойчивостью к АБ, привело к возникновению важной проблемы в здравоохранении. Анализ исследований по данной теме показывает значительный пробел в знаниях о влиянии большинства поллютантов на распространение ARG в природных микробиомах. Исключения составляют АБ, бактериоциды и ТМ, роль которых в отборе и распространении ARG в значительной степени исследована. Крайне мало число работ, направленных на исследование того, какие вещества и в какой степени участвуют в механизме совместного отбора ARG, горизонтального переноса генетического материала и адаптивной эволюции бактерий.

Обзор литературных источников, посвящённых влиянию загрязнения на распространение ARG, показывает, что проблема роста резистентности бактерий не может быть решена лишь борьбой с поступлением АБ в окружающую среду и с их неконтролируемым использованием в здравоохранении и сельском хозяйстве. Для прояснения этого вопроса необходимо проведение исследований, направленных на подробное изучение механизмов влияния различных классов химических соединений на вышеперечисленные генетические процессы в бактериальных сообществах. Необходимо также изучение генетических процессов в микробоценозах, загрязнённых смесями поллютантов, для выяснения синергетических и интерференционных взаимодействий загрязняющих веществ.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № 0852-2020-0029, Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-34-90107).*

*Funding: Research was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in the framework of State assignment No. 0852-2020-0029 in the field of scientific activity, the Russian Foundation for Basic Research (Grant number No. 19-34-90107).*

### References

1. Wang J., Zhao Z., Chen J., Lu H., Liu G., Zhou J., Guan X. PAHs accelerate the propagation of antibiotic resistance genes in coastal water microbial community // *Environmental Pollution*. 2017. V. 231. P. 1145–1152. doi: 10.1016/j.envpol.2017.07.067
2. Cytryn E. The soil resistome: the anthropogenic, the native, and the unknown // *Soil Biology and Biochemistry*. 2013. V. 63. P. 18–23. doi: 10.1016/j.soilbio.2013.03.017
3. Su Y., Wu D., Xia H., Zhang C., Shi J., Wilkinson K.J., Xie B. Metallic nanoparticles induced antibiotic resistance genes attenuation of leachate culturable microbiota: The combined roles of growth inhibition, ion dissolution and oxidative stress // *Environment International*. 2019. V. 128. P. 407–416. doi: 10.1016/j.envint.2019.05.007
4. Wang S., Xue N., Li W., Zhang D., Pan X., Luo Y. Selectively enrichment of antibiotics and ARGs by microplastics in river, estuary and marine waters // *Science of the Total Environment*. 2020. V. 708. P. 134594. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134594
5. Zhu Y.G., Zhao Y., Zhu D., Gillings M., Penuelas J., Ok Y.S., Capon A., Banwart S. Soil biota, antimicrobial resistance and planetary health // *Environment International*. 2019. V. 131. P. 105059. doi: 10.1016/j.envint.2019.105059
6. Huang L., Xu Y., Xu J., Ling J., Zheng L., Zhou X., Xie G. Dissemination of antibiotic resistance genes (ARGs) by rainfall on a cyclic economic breeding livestock farm // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2019. V. 138. P. 114–121. doi: 10.1016/j.ibiod.2019.01.009
7. Fan X.Y., Gao J.F., Pan K.L., Li D.C., Dai H.H., Li X. Functional genera, potential pathogens and predicted antibiotic resistance genes in 16 full-scale wastewater treatment plants treating different types of wastewater // *Biore-source Technology*. 2018. V. 268. P. 97–106. doi: 10.1016/j.biortech.2018.07.118
8. Sazykin I.S., Seliverstova E.Y., Khmelevtsova L.E., Azhogina T.N., Kudeevskaya E.M., Khammami M.I., Gnennaya N.V., Al-Rammahi A.A.K., Rakin A.V., Sazykina M.A. Occurrence of antibiotic resistance genes in sewages of Rostov-on-Don and lower Don River //

Theoretical and Applied Ecology. 2019. V. 4. P. 76–82. doi: 10.25750/1995-4301-2019-4-076-082

9. Chen Z., Zhang W., Yang L., Stedtfeld R., Peng A., Gu C., Boyd S., Li H. Antibiotic resistance genes and bacterial communities in cornfield and pasture soils receiving swine and dairy manures // *Environmental Pollution*. 2019. V. 248. P. 947–957. doi: 10.1016/j.envpol.2019.02.093

10. Wen X., Mi J., Wang Y., Ma B., Zou Y., Liao X., Liang J., Wu Y. Occurrence and contamination profiles of antibiotic resistance genes from swine manure to receiving environments in Guangdong Province southern China // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2019. V. 173. P. 96–102. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.02.023

11. Calero-Cáceres W., Balcázar J.L. Antibiotic resistance genes in bacteriophages from diverse marine habitats // *Science of the Total Environment*. 2019. V. 654. P. 452–455. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.11.166

12. Tiedje J.M., Wang F., Manaia C.M., Virta M., Sheng H., Liping M.A., Zhang T., Topp E. Antibiotic resistance genes in the human-impacted environment: a one health perspective // *Pedosphere*. 2019. V. 29. No. 3. P. 273–282. doi: 10.1016/S1002-0160(18)60062-1

13. Mafiz A., Perera L., He Y., Zhang W., Xiao S., Hao W., Sun S., Zhou K., Zhang Y. Case study on the soil antibiotic resistome in an urban community garden // *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2018. V. 52. No. 2. P. 241–250. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2018.05.016

14. MacGowan A., Macnaughton E. Antibiotic resistance // *Medicine*. 2017. V. 45. No. 10. P. 622–628. doi: 10.1016/j.mpmed.2017.07.006

15. Chen C., Pankow C., Oh M., Heath L., Zhang L., Du P., Xia K., Pruden A. Effect of antibiotic use and composting on antibiotic resistance gene abundance and resistome risks of soils receiving manure-derived amendments // *Environment International*. 2019. V. 128. P. 233–243. doi: 10.1016/j.envint.2019.04.043

16. Osborn A.M., Böltner D. When phage, plasmids, and transposons collide: genomic islands, and conjugative- and mobilizable-transposons as a mosaic continuum // *Plasmid*. 2002. V. 48. No. 3. P. 202–212. doi: 10.1016/S0147-619X(02)00117-8

17. Canchaya C., Proux C., Fournous G., Bruttin A., Brussow H. Prophage genomics // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2003. V. 67. No. 2. P. 238–276. doi: 10.1128/MMBR.67.2.238-276.2003

18. An X., Su J., Li B., Ouyang W., Zhao Y., Chen Q., Cui L., Chen H., Gillings M., Zhang T., Zhu Y. Tracking antibiotic resistome during wastewater treatment using high throughput quantitative PCR // *Environment International*. 2018. V. 117. P. 146–153. doi: 10.1016/j.envint.2018.05.011

19. Chen B., He R., Yuan K., Chen E., Lin L., Chen X., Yang Y. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) enriching antibiotic resistance genes (ARGs) in the soils // *Environmental Pollution*. 2017. V. 220. P. 1005–1013. doi: 10.1016/j.envpol.2016.11.047

20. Ramakrishnan B., Venkateswarlu K., Sethunathan N., Megharaj M. Local applications but global implications: Can pesticides drive microorganisms to develop antimicrobial resistance? // *Science of the Total Environment*. 2019. V. 654. P. 177–189. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.11.041

21. Manyi-Loh C., Mamphweli S., Meyer E., Okoh A. Antibiotic use in agriculture and its consequential resistance in environmental sources: potential public health implications // *Molecules*. 2018. V. 23. No. 4. P. 795. doi: 10.3390/molecules23040795

22. Liu X., Lu S., Guo W., Xi B., Wang W. Antibiotics in the aquatic environments: a review of lakes, China // *Science of the Total Environment*. 2018. V. 627. P. 1195–1208. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.271

23. Berg J., Thorsen M.K., Holm P.E., Jensen J., Nybroe O., Brandt K.K. Cu exposure under field conditions coselects for antibiotic resistance as determined by a novel cultivation-independent bacterial community tolerance assay // *Environmental Science & Technology*. 2010. V. 44. No. 22. P. 8724–8728. doi: 10.1021/es101798r

24. Wang J., Ben W., Yang M., Zhang Y., Qiang Z. Dissemination of veterinary antibiotics and corresponding resistance genes from a concentrated swine feedlot along the waste treatment paths // *Environment International*. 2016. V. 92. P. 317–323. doi: 10.1016/j.envint.2016.04.020

25. Wang N., Guo X., Yan Z., Wang W., Chen B., Ge F., Ye B. A comprehensive analysis on spread and distribution characteristic of antibiotic resistance genes in livestock farms of Southeastern China // *PLoS ONE*. 2016. V. 11. No. 7. P. e0156889. doi: 10.1371/journal.pone.0156889

26. Hall A.R., Colegrave N. Decay of unused characters by selection and drift // *Journal of Evolutionary Biology*. 2008. V. 21. No. 2. P. 610–617. doi: 10.1111/j.1420-9101.2007.01473.x

27. Cheng W., Li J., Wu Y., Xu L., Su C., Qian Y., Zhu Y.-G., Chen H. Behavior of antibiotics and antibiotic resistance genes in eco-agricultural system: a case study // *Journal of Hazardous Materials*. 2016. V. 304. P. 18–25. doi: 10.1016/j.jhazmat.2015.10.037

28. Awad Y.M., Kim K.R., Kim S.-C., Kim K., Lee S.R., Lee S.S., Ok Y.S. Monitoring antibiotic residues and corresponding antibiotic resistance genes in an agroecosystem // *Journal of Chemistry*. 2015. Article ID 974843. P. 1–7. doi: 10.1155/2015/974843

29. Bougnom B.P., Thiele-Bruhn S., Ricci V., Zongo C., Piddock L.J.V. Raw wastewater irrigation for urban agriculture in three African cities increases the abundance of transferable antibiotic resistance genes in soil, including those encoding extended spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) // *Science of the Total Environment*. 2019. P. 134201. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134201

30. Li B., Qiu Y., Song Y., Lin H., Yin H. Dissecting horizontal and vertical gene transfer of antibiotic resistance plasmid in bacterial community using microfluidics // *Environment International*. 2019. V. 131. P. 105007. doi: 10.1016/j.envint.2019.105007

31. Holmes A.H., Moore L.S., Sundsfjord A., Steinbakk M., Regmi S., Karkey A., Guerin P.J., Piddock L.J. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance // *The Lancet*. 2016. V. 387. No. 10014. P. 176–187. doi: 10.1016/S0140-6736(15)00473-0
32. Zwolak A., Sarzyńska M., Szpyrka E., Stawarczyk K. Sources of soil pollution by heavy metals and their accumulation in vegetables: a review // *Water Air Soil Pollut.* 2019. V. 230. P. 164. doi: 10.1007/s11270-019-4221-y
33. Naik M.M., Pandey A., Dubey S.K. Biological characterization of lead-enhanced exopolysaccharide produced by a lead resistant *Enterobacter cloacae* strain P2B // *Biodegradation*. 2012. V. 23. No. 5. P. 775–783. doi: 10.1007/s10532-012-9552-y
34. Seiler C., Berendonk T.U. Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture // *Frontiers in Microbiology*. 2012. V. 3. P. 399. doi: 10.3389/fmicb.2012.00399
35. Sekyere J.O., Asante J. Emerging mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria and fungi: advances in the era of genomics // *Future Microbiology*. 2018. V. 13. No. 2. P. 241–262. doi: 10.2217/fmb-2017-0172
36. Silver S., Phung L.T. Bacterial heavy metal resistance: new surprises // *Annual Review of Microbiology*. 1996. V. 50. No. 1. P. 753–789. doi: 10.1146/annurev.micro.50.1.753
37. Mukhopadhyay R., Rosen B.P. Arsenate reductases in prokaryotes and eukaryotes // *Environmental Health Perspectives*. 2002. V. 110. No. Suppl 5. P. 745–748. doi: 10.1289/ehp.02110s5745
38. Wright G.D. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2005. V. 57. No. 10. P. 1451–1470. doi: 10.1016/j.addr.2005.04.002
39. Nies D.H. Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes // *FEMS Microbiology Reviews*. 2003. V. 27. No. 2–3. P. 313–339. doi: 10.1016/S0168-6445(03)00048-2
40. Wang Q., Liu L., Hou Z., Wang L., Ma D., Yang G., Guo S., Luo J., Qi L., Luo Y. Heavy metal copper accelerates the conjugative transfer of antibiotic resistance genes in freshwater microcosms // *Science of the Total Environment*. 2020. P. 137055. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.137055
41. Jayaprakashvel M., Vijay S., Karthigeyan C.P., Hussain A.J. Isolation and characterization of mercury resistant marine bacteria from the coastal area of Chennai, India // *International Journal of Advanced Research in Engineering and Applied Sciences*. 2015. V. 4. P. 64–76.
42. Fang L., Li X., Li L., Li S., Liao X., Sun J., Liu Y. Co-spread of metal and antibiotic resistance within ST3-IncHI2 plasmids from *E. coli* isolates of food-producing animals // *Scientific reports*. 2016. V. 6. P. 25312. doi: 10.1038/srep25312
43. Wang Z., Liu S., Zhang T. Characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil horizon from high-altitude mountains in Northeastern China // *Chemosphere*. 2019. V. 225. P. 93–103. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.03.001
44. Kanehisa M., Araki M., Goto S., Hattori M., Hirakawa M., Itoh M., Yamanishi Y. KEGG for linking genomes to life and the environment // *Nucleic acids research*. 2007. V. 36. No. Suppl 1. P. D480–D484. doi: 10.1093/nar/gkm882
45. Kweon O., Kim S.J., Holland R.D., Chen H., Kim D.W., Gao Y., Cerniglia C.E. Polycyclic aromatic hydrocarbon metabolic network in *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1 // *Journal of Bacteriology*. 2011. V. 193. No. 17. P. 4326–4337. doi: 10.1128/JB.00215-11
46. Ren G., Ren W., Teng Y., Li Z. Evident bacterial community changes but only slight degradation when polluted with pyrene in a red soil // *Frontiers in Microbiology*. 2015. V. 6. P. 22. doi: 10.3389/fmicb.2015.00022
47. Adebusuyi A.A., Foght J.M. An alternative physiological role for the EmhABC efflux pump in *Pseudomonas fluorescens* cLP6a // *BMC Microbiology*. 2011. V. 11. No. 1. P. 252. doi: 10.1186/1471-2180-11-252
48. Sun M., Ye M., Wu J., Feng Y., Shen F., Tian D., Liu K., Hu F., Li H., Jiang X., Yang L., Kengara F. Impact of bioaccessible pyrene on the abundance of antibiotic resistance genes during *Sphingobium* sp. and sophorolipid-enhanced bioremediation in soil // *Journal of Hazardous Materials*. 2015. V. 300. P. 121–128. doi: 10.1016/j.jhazmat.2015.06.065
49. Sazykin I.S., Sazykina M.A., Khmelevtsova L.E., Khammami M.I., Karchava Sh.K., Zhuravleva M.V., Kudееvskaya E.M. Expression of SOD and production of reactive oxygen species in *Acinetobacter calcoaceticus* caused by hydrocarbons oxidation // *Annals of Microbiology*. 2016. V. 66. doi: 10.1007/s13213-015-1188-9
50. Sazykin I.S., Sazykina M.A., Khmelevtsova L.E., Seliverstova E.Yu., Karchava Sh.K., Zhuravleva M.V. Antioxidant enzymes and reactive oxygen species level of the *Achromobacter xylooxidans* bacteria during hydrocarbons biotransformation // *Archives of Microbiology*. 2018. V. 200. No. 7. P. 1057–1065. doi: 10.1007/s00203-018-1516-0
51. Sazykin I., Makarenko M., Khmelevtsova L., Seliverstova E., Sazykina M. Cyclohexane, naphthalene and diesel fuel increase oxidative stress, CYP153, sodA and recA genes expression in *Rhodococcus erythropolis* // *Microbiology Open*. 2019. V. 22. P. e855. doi: 10.1002/mbo3.855
52. Dong Y., Du H., Gao C., Ma T., Feng L. Characterization of two long-chain fatty acid CoA ligases in the Gram-positive bacterium *Geobacillus thermodenitrificans* NG80-2 // *Microbiological Research*. 2012. V. 167. No. 10. P. 602–660. doi: 10.1016/j.micres.2012.05.001
53. Reise S.P., Waller N.G. Item response theory and clinical measurement // *Annual Review of Clinical Psychology*. 2009. V. 5. P. 27–48. doi: 10.1146/annurev-genet-102209-163504
54. Chen B., Liang X., Nie X., Huang X., Zou S., Li X. Item response theory and clinical measurement // An-

- nual Review of Clinical Psychology. 2009. V. 5. P. 27–48. doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.06.010
55. Mukherjee S., Chakraborty R. Incidence of class 1 integrons in multiple antibiotic-resistant Gram-negative copiotrophic bacteria from the River Torsa in India // Research in Microbiology. 2006. V. 157. No. 3. P. 220–226. doi: 10.1016/j.resmic.2005.08.003
56. Bergman J. Does the acquisition of antibiotic and pesticide resistance provide evidence for evolution? // Journal of Creation. 2003. V. 1. No. 17. P. 26–32.
57. Anjum R., Krakat N. Detection of multiple resistances, biofilm formation and conjugative transfer of *Bacillus cereus* from contaminated soils // Current Microbiology. 2016. V. 72. No. 3. P. 321–328. doi: 10.1007/s00284-015-0952-1
58. Kirubakaran R., Murugan A., Chinnathambi P., Parraj A. Influence of residual pesticide on plant growth promoting bacteria isolated from agriculture field // Journal of Basic Applied Plant Sciences. 2017. V. 1. No. 2. P. 11.
59. Kurenbach B., Marjoshi D., Amabile-Cuevas C.F., Ferguson G.C., Godsoe W., Gibson P., Heinemann J.A. Sublethal exposure to commercial formulations of the herbicides dicamba, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, and glyphosate cause changes in antibiotic susceptibility in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium // MBio. 2015. V. 6. No. 2. P. e00009-15.
60. Dudas S., Covernton G., Miller M.R., Pearce C., Gurney-Smith H., Dower J. Does habitat influence bivalve microplastic concentration? // Salish Sea Ecosystem Conference. 2018. [Internet resource] <https://cedar.wvu.edu/ssec/2018ssec/allsessions/404/> (Accessed: 11.05.2020).
61. Kwon O.Y., Kang J.H., Hong S.H., Shim W.J. Spatial distribution of microplastic in the surface waters along the coast of Korea // Marine Pollution Bulletin. 2020. P. 110729. doi: 10.1016/j.marpolbul.2019.110729
62. Chai B., Li X., Liu H., Lu G., Dang Z., Yin H. Bacterial communities on soil microplastic at Guiyu, an E-Waste dismantling zone of China // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2020. V. 195. P. 110521. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110521
63. Dowarah K., Patchaiyappan A., Thirunavukkarasu C., Jayakumar S., Devipriya S.P. Quantification of microplastics using Nile Red in two bivalve species *Perna viridis* and *Meretrix meretrix* from three estuaries in Pondicherry, India and microplastic uptake by local communities through bivalve diet // Marine Pollution Bulletin. 2020. V. 153. P. 110982. doi: 10.1016/j.
64. Hodson M.E., Duffus-Hodson C.A., Clark A. Plastic bag derived-microplastics as a vector for metal exposure in terrestrial invertebrates // Environmental Science & Technology. 2017. V. 51. No. 8. P. 4714–4721. doi: 10.1021/acs.est.7b00635
65. Horton A.A., Walton A., Spurgeon D.J., Lahive E., Svendsen C. Microplastics in freshwater and terrestrial environments: evaluating the current understanding to identify the knowledge gaps and future research priorities // Science of the Total Environment. 2017. V. 586. P. 127–141. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.01.190
66. do Sul J.A.I., Costa M.F. The present and future of microplastic pollution in the marine environment // Environmental Pollution. 2014. V. 185. P. 352–364. doi: 10.1016/j.envpol.2013.10.036
67. Lu X.M., Lu P.Z., Liu X.P. Fate and abundance of antibiotic resistance genes on microplastics in facility vegetable soil // Science of the Total Environment. 2020. V. 709. P. 136276. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.136276
68. Sun M., Ye M., Wu J., Feng Y., Wan J., Tian D., Shen F., Liu K., Hu F., Li H., Jiang X., Yang L., Kengara F. Positive relationship detected between soil bioaccessible organic pollutants and antibiotic resistance genes at dairy farms in Nanjing, Eastern China // Environmental Pollution. 2015. V. 206. P. 421–428. doi: 10.1016/j.envpol.2015.07.022 marpolbul.2020.110982



## Экологические аспекты организации иммунной системы рептилий

© 2020. Е. Б. Романова, д. б. н., профессор,  
Е. И. Соломайкин, аспирант,  
Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского  
(Национальный исследовательский университет),  
603950, Россия, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23,  
e-mail: romanova@ibbm.unn.ru

В обзоре систематизированы данные литературы по формированию стратегий иммунной защиты рептилий к патогенам среды обитания и приведены собственные исследования иммуногематологических показателей ядовитых и неядовитых змей. Рептилии – первые полностью наземные позвоночные эктотермные животные. Лимфоидная система рептилий высокоорганизованная, лимфомиелоидный комплекс характеризуются гетерогенностью. Защита от ксенобиотиков обеспечивается неспецифическим (врождённым) и специфическим (адаптивным, приобретённым) иммунитетом. Врождённая система, по сравнению с адаптивными ответами, реагирует более быстро и эффективно. Мощная защита против инфекций представлена антимикробными пептидами: лизоцимами, дефензимами, системой комплемента, набором неспецифических лейкоцитов, формированием воспалительной реакции, набором цитокин-подобных компонентов. Механизмы адаптивного иммунитета реализуются действием клеточных и гуморальных факторов. Отличительной особенностью рептилий является ослабленная реакция отторжения чужеродного трансплантата. Гуморальные иммунные ответы осуществляются посредством В-лимфоцитов. Для рептилий известно как минимум два класса иммуноглобулинов, обсуждаются их строение и функции. Отмечены особенности переключения внутриклеточного синтеза иммуноглобулинов с одного изотипа на другой; соматическая рекомбинация генов иммуноглобулинов. Показано, что стратегия иммунной защиты определяется как онтогенетическими особенностями рептилий, так и путём поступления, величиной и длительностью воздействия антигенов, диапазоном внешней температур, сезонностью. Выявлены закономерности иммунного реагирования ядовитых и неядовитых змей на комплекс факторов окружающей среды. Впервые использован иммуногематологический подход для оценки состояния популяции узорчатого полоза *Elaphe dione* на заповедной территории. В механизмах формирования адаптивной реакции рептилий на популяционном уровне установлена биотопическая и межвидовая изменчивость.

**Ключевые слова:** рептилии, иммунная система, врождённый иммунитет, адаптивный иммунитет, иммуногематология.

## Ecological aspects of the immune system of reptiles

© 2020. E. B. Romanova ORCID: 0000-0002-1925-7864  
E. I. Solomaykin ORCID: 0000-0003-4030-8272  
N.I. Lobachevsky University of Nizhny Novgorod (National Research University)  
23, Gagarina Prospekt, Nizhny Novgorod, Russia, 603950,  
e-mail: romanova@ibbm.unn.ru

We systematized the literature data on reptiles' immune system and provided our own research on the immunohematological characteristics of venomous and non-venomous snakes at that review.

The reptiles' lymphomyeloid complex is characterized by heterogeneity. The protection against to a wide range of habitat antigens is provided by two forms of immune response: innate and adaptive immunity. The innate immunity in comparison with adaptive responses responds more quickly and effectively. Protection against infections is represented by antimicrobial peptides, the complement system, a set of nonspecific leukocytes, and the formation of an inflammatory reaction, with a set of cytokine-like components. The mechanisms of adaptive immunity are cellular and humoral factors actions. The reptiles have a weakened reaction of transplant rejection. Humoral immune responses are carried out by B-lymphocytes. In this paper there are discussed the structure and functions reptiles' immunoglobulins, as well as the switching features of intracellular synthesis of immunoglobulins from one isotype to another. It was shown that the immune protection strategy is determined not only by the ontogenetic features of reptiles, but also by the input, size, and duration of exposure to antigens, by the range of external temperatures, by seasonality. The patterns of the immune response of venomous and non-venomous snakes to a complex of environmental factors were revealed. For the first time an immunohematological approach has been used to assess the status of the population of *Elaphe dione* in nature reserve. Biotopic and interspecific variability was found in the mechanisms of formation of the adaptive response at the population level.

**Keywords:** reptiles, immune system, innate immunity, adaptive immunity, immunohematological approach.

Одной из главных задач факториальной экологии является исследование влияния абиотических факторов на живые организмы в природных условиях с целью установления пределов толерантности и оценки устойчивости видов к внешним воздействиям. Ключевой гомеостатической системой организма, обеспечивающей адаптацию организма к постоянно изменяющимся условиям среды, является иммунная система. В настоящее время многое известно о функционировании иммунитета млекопитающих, гораздо менее изучены другие группы позвоночных, в том числе первые настоящие наземные позвоночные – пресмыкающиеся или рептилии (Reptilia) [1–5]. Современные рептилии представлены отрядами: Клювоголовые (Rhynchocephalia), Крокодилы (Crocodylia) и Черепахи (Chelonia). Вместе с птицами и млекопитающими рептилии формируют группу амниот – первично-наземных высших позвоночных, единственных эктотермных животных, не подвергающихся метаморфозу. Неспецифические иммунные ответы рептилий во многих случаях протекают сильнее, чем у млекопитающих, но относительно мало изучены. Реакции же адаптивного иммунитета, включая клеточный и гуморальный ответы, практически не исследованы. Изучение специфических форм защиты от чужеродных агентов у представителей этого класса крайне важно для познания эволюционного становления иммунитета и отслеживания преемственной связи с птицами и млекопитающими, для которых характерен высший уровень иммуноэволюции – интегрированный клеточный и гуморальный иммунитет.

Целью настоящей работы явилась систематизация данных литературы по формированию стратегий иммунной защиты рептилий к совокупности чужеродных агентов инфекционной и неинфекционной природы, постоянно поступающих в организм из окружающей среды.

### **Лимфомиелоидные органы и ткани рептилий**

Важнейшая функция иммунитета заключается в поддержании динамического равновесия внутренней среды организма, защите от паразитов и чужеродных агентов (ксенобиотиков). Рептилии – эволюционно первая группа животных, у которой начинается расхождение клеток по самостоятельным лимфатическим и кровеносным путям [6, 7].

Организация иммунной системы рептилий имеет много общего, с одной стороны, с кровью рыб и амфибий, с другой – птиц и млекопитающих [8–10].

Лимфоидную и кроветворную систему рептилий объединяют в единый лимфомиелоидный комплекс, включающий хорошо организованную вилочковую железу (тимус), селезёнку, лимфоидную ткань кишечника, лимфоидные агрегаты в клоаке и костный мозг [1, 11]. В центральных органах иммунной системы рептилий (костном мозге, тимусе) происходит формирование и созревание иммуноцитов. Костный мозг рептилий является основным источником стволовых элементов кроветворения [12], местом созревания Т-клеток [13] и начинает развиваться на самых ранних этапах онтогенеза [14]. У взрослых животных в зависимости от систематической принадлежности наблюдаются анатомические вариации тимуса как по локализации, так и по числу сформированных долей.

Тимус рептилий подвержен возрастной и сезонной инволюции, выражающейся в нивелировке различий между корой и медуллой, замещением лимфоидной массы органа соединительной тканью [15–17]. Морфологически тимус наиболее выражен осенью, в зимний период наблюдается его инволюция с последующей реконструкцией к весне [18].

В периферических органах иммунной системы (селезёнке, скоплении лимфоидной ткани, лимфоузлах) происходит пролиферация и дифференцировка зрелых лимфоцитов, продуцируются антитела и эффекторные лимфоциты. Селезёнка рептилий имеет дольчатое строение [19], характеризуется наличием гистологически различающихся участков: красной и белой пульпы [20, 21]. Зародышевые центры в селезёнке не образуются [22, 23]. Лимфатические узлы рептилий не имеют фолликул или центров размножения [24, 25]. Сезонные изменения в лимфоидных органах рептилий контролируются нейроэндокринной системой [18, 26, 27].

### **Врождённый иммунитет**

Существенным препятствием на пути проникновения ксенобиотиков в организм являются внешние покровы [28]. Мощная защита против инфекций у рептилий представлена антимикробными пептидами: лизоцимами – гидролитическими ферментами, разрушающими пептидогликановый слой

клеточной стенки бактерий, и дефензимами [33, 34]. Впервые  $\beta$ -дефензин, известный как пептид TBD-1, был выделен из лейкоцитов европейской болотной черепахи (*Emys orbicularis*) [35]. К другим семействам антимикробных пептидов рептилий относится пеловатерин [36] и кателицидины [37–39].

Ключевым компонентом врождённого иммунитета является система комплемента – группа сывороточных белков, которые циркулируют в плазме крови [40]. Интересно, что система комплемента американского аллигатора (*Alligator mississippiensis*) более эффективна в отношении нескольких штаммов грамположительных бактерий [41], вируса иммунодефицита типа 1 (ВИЧ-1), вируса лихорадки Западного Нила, вируса простого герпеса [42] по сравнению с сывороткой крови человека. Клеточные механизмы неспецифической резистентности у рептилий представлены набором лейкоцитов: моноцитами, базофилами, эозинофилами и гетерофилами [43]. Моноциты обрабатывают и представляют антигены, а также высвобождают цитокины – гуморальные регуляторы межклеточных взаимодействий [4, 44, 45]. Фагоцитарная активность этих клеток существенно зависит от температуры [46]. Гетерофилы участвуют в воспалительной реакции и подавляют вторжение микроорганизмов [47–49]. Эозинофилы играют важную роль в защите от паразитарных инфекций [4] и развитии воспалительных реакций [49]. Активация антиген-специфических рецепторов на мембране базофилов приводит к дегрануляции клетки и выбросу гистамина [50].

В ответ на внутриклеточные патогены, у рептилий образуются гистиоцитарные гранулёмы с участием макрофагов, которые активно продуцируют цитокины. Так, у черепах (*Testudo graeca*) обнаружена способность синтезировать интерфероны макрофагами [51] и клетками миокарда [52]. Есть сведения об идентификации хемокина, гомолога интерлейкина-8 (IL-8) в панцире мягкотелой трёхкоготной черепахи (*Pelodiscus sinensis*) [53]; интерлейкина-2 в тимоцитах диадемового полоза (*Spalerosophis diadema*) [54, 55]. Интенсивность развития у рептилий воспалительной реакции определяется оптимальной для вида температурой окружающей среды [56–58]. Установлен сложный характер взаимосвязи активации неспецифических факторов резистентности рептилий, как эктотермных животных, с температурой среды обитания [58].

### Адаптивный (приобретённый) иммунитет

Под адаптивным (приобретённым) иммунным ответом понимают специфический по отношению к антигену ответ, осуществляемый клонами иммунокомпетентных клеток, имеющих соответствующие антигенраспознающие рецепторы [1]. Механизмы адаптивного иммунитета реализуются действием клеточных и гуморальных факторов.

**Клеточные реакции.** Т-лимфоциты являются основными участниками клеточной формы иммунного реагирования и обнаружены у представителей всех отрядов рептилий [59]. Пролиферативная способность Т-клеток имеет выраженный сезонный характер [55, 60, 61]. При этом, у черепах не обнаружено половых различий в интенсивности клеточных реакций [61, 62]. Напротив, у песчаных змей они чётко выражены [63]. Реакция бласттрансформации Т-лимфоцитов у ящериц протекает аналогично реакции у млекопитающих [64, 65].

Отличительной особенностью рептилий является менее эффективное отторжение аллотрансплантата по сравнению с амфибиями [66], при этом установлена слабая выраженность индивидуальных различий по антигенам гистосовместимости [67].

**Гуморальные реакции.** Гуморальные иммунные ответы (посредством В-лимфоцитов) у рептилий осуществляются медленнее по сравнению с млекопитающими [5]. Наиболее активным органом в продукции антител является селезёнка (50% В-клеток). В периферической крови обнаружено 25% В-клеток; в костном мозге – 20%; в тимусе – 1%. В раннем онтогенезе дифференцировка В-клеток осуществляется в печени [1]. Подобно В-клеткам других амниот В-клетки красноухой черепахи (*Trachemys scripta*) обладают и фагоцитарной способностью [68].

Рептилии производят не менее двух классов иммуноглобулинов: IgM и IgY [69]. IgM синтезируется первым в ответ на инфекцию, IgY передаётся от матери к эмбриону, имеет длительный период полураспада, производится в большем количестве [70]. Гены тяжёлой цепи иммуноглобулинов содержат высокий уровень генетического разнообразия и расположены в виде единого локуса с множеством генов варибельной области в структуре молекулы [71], поэтому рептилии характеризуются гетерогенностью по иммуноглобулинам [72–76]. В результате рекомбинации

между IgM и IgY возможно возникновение IgA-подобных иммуноглобулинов [77, 78]. Рептилии также могут производить иммуноглобулин IgD [76, 79, 80], функция которого пока не изучена. После иммунизации антитела обнаруживаются в плазме крови рептилий в течение шести–восьми недель [3, 39, 71, 81–83]. При повторном воздействии антигена период выработки антител сокращается [3, 4, 84, 85]. Однако, в отличие от млекопитающих, не происходит увеличения титра антител [5] и вновь синтезируются первичные IgM [4, 5]. Наиболее высокие иммунные ответы наблюдаются при определённой, оптимальной для конкретного вида рептилий температуре [41, 46, 86, 87]. Исследования стратегий иммунной защиты рептилий имеют важное практическое значение в ветеринарии для оценки клинического состояния и лечения заражённых животных [88–90].

Знание механизмов регуляции защитных функций организма необходимо для решения практических природоохранных вопросов в области экологии отдельных видов. В этой связи отметим работы, посвящённые оценке воздействия конкретных поллютантов [91, 92] и антропогенных загрязнителей среды [93, 94] на иммунный статус организма рептилий, сравнительному анализу адаптивных реакций системы крови ядовитых и неядовитых змей [95, 96], оценке состояния популяции узорчатого полоза *Elaphe dione* на особо охраняемой территории [97].

### Заключение

Подводя итог систематизации сведений о строении иммунной системы рептилий, отметим гетерогенность лимфомиелоидного комплекса и фактическое его соответствие лимфоидной системе высокоорганизованных позвоночных животных. Являясь эволюционно более продвинутой группой, по сравнению с амфибиями, рептилии обладают широким спектром адаптивных реакций, сведения о которых на сегодняшний день фрагментарны и мало изучены. Врождённая система иммунитета характеризуется более высоким развитием и эффективной реакцией на широкий спектр патогенных антигенов среды обитания, по сравнению с адаптивными ответами. Иммунная система рептилий является ключевой гомеостатической структурой, чувствительным маркером неспецифических и специфических реакций организма, что имеет практическую значи-

мость, связанную с оценкой качества среды путём биоиндикации.

Не менее актуальны и вопросы определения характеристик популяционного иммунного гомеостаза, обеспечивающего выживание и существование рептилий в условиях антропогенного стресса.

### References

- Galaktionov V.G. Immunology. Moskva: Izdatel'skiy centr "Akademiya", 2004. 528 p. (in Russian).
- Cooper E.L. Comparative immunology. New Jersey: Engle Wood Cliffs, Prentice-Hall, Inc., 1976. 422 p.
- Work T.M., Balazs G.H., Rameyer R.A., Chang S.P., Berestecky J. Assessing humoral and cell-mediated immune response in Hawaiian green turtles, *Chelonia mydas* // Vet. Immunol. Immunopathol. 2000. V. 74. P. 179–194. doi: 10.4049/jimmunol.0803251
- Coico R. Immunology. A short course. Hoboken, NY: Wiley-Liss Publications, 2003. 237 p.
- Zimmerman L.M., Vogel L.A., Bowden R.M. Understanding the vertebrate immune system: insights from the reptilian perspective // J. Experimental Biology. 2010. V. 213. P. 661–671. doi: 10.1242/jeb.038315
- Cuchens M.A., Clem L.W. Phylogeny of lymphocyte diversity. III. Mitogenic responses of reptilian lymphocytes // Dev. Comp. Immunol. 1979. V. 3. P. 287–297. doi: 10.1016/s0145-305x(79)80025-7
- Dabrowski Z., Sano Martins I.S., Tabarowski Z. Haematopoiesis in snakes (Ophidia) in early postnatal development // Cell. Tissue Res. 2007. V. 328. P. 291–299. doi: 10.1007/s00441-006-0303-4
- Cooper E.L., Klempau A.E., Zapata A.G. Reptilian immunity // Biol. Reptilia. New York, 1985. V. 14. P. 601–636.
- Eliman M.M. Hematology and plasma chemistry of the Inland bearded dragon // Bull. Ass. Rep. Amph. Vet. 1997. V. 7. No. 4. P. 15–26. doi: 10.2307/41262610
- Metin K., Turkozan O., Kargin F., Basimoglu Koca Y., Taskavak E., Koca S. Blood cell morphology and plasma biochemistry of the captive European Pond turtle *Emys orbicularis* // Acta. Vet. Brno. 2006. V. 75. P. 49–55. doi: 10.2754/avb200675010049
- Kvell K., Cooper E.L., Engelmann P., Bovari J., Nemeth P. Blurring borders: innate immunity with adaptive features // Clin. Dev. Immunol. 2007. V. 2007. P. 83671. doi: 10.1155/2007/83671
- Zapata A.G., Leceta J., Villena A. Reptilian bone marrow. An ultrastructural study in the Spanish lizard, *Lacerta hispanica* // J. Morphol. 1981. V. 168. P. 137–149. doi: 10.1002/jmor.1051680203
- Jurd R.D. Reptiles and birds // Immunology: A comparative approach / Ed. R.J. Turner. West Sussex, England: John Wiley & Sons, Ltd., 1994. P. 137–172.

14. Lu Y., Li P. Development of thymus gland in snake // *J. Morphol.* 2001. V. 248. No. 3. P. 256.
15. Hussein M.F., Badir N., El Ridi R., Akef M. Effect of seasonal variation on lymphoid tissues of the lizards, *Mabuya quinquetaeniata licht* and *Uromastyx aegyptia forsk* // *Dev. Comp. Immunol.* 1978. V. 2. P. 469–478. doi: 10.1016/S0145-305X(78)80008-1
16. Hussein M.F., Badir N., El Ridi R., El Deeb S. Effect of splenectomy on the humoral immune response in the lizard, *Scincus scincus* // *Cell. Mol. Life Sci.* 1979. V. 35. P. 869–870. doi: 10.1007/BF01955118
17. El Ridi R., Badir N., El Rouby S. Effect of seasonal variations on the immune system of the snake, *Psammophis schokar* // *J. Exp. Zool.* 1981. V. 216. P. 357–365. doi: 10.1002/jez.1402160303
18. Krumm I.I. Comparative analysis of cell replacement in hibernators // *Comp. Biochem. Physiol.* 1992. V. 101A. P. 11–18. doi: 10.1016/0300-9629(92)90620-6
19. Cooper E.L. Comparative immunology. Moskva: Mir, 1980. 442 p. (in Russian).
20. Zapata A.G., Leceta J., Barrutia M.G. Ultrastructure of splenic white pulp of the turtle, *Mauremys caspica* // *Cell Tissue Res.* 1981. V. 220. P. 845–855. doi: 10.1007/BF00210466
21. Kroese F.G.M., Van Rooijen N. The architecture of the spleen of the red-eared slider, *Chrysemys scripta elegans* (Reptilia, Testudines) // *J. Morphol.* 1982. V. 173. P. 279–284. doi: 10.1002/jmor.1051730304
22. Kanakambika P., Muthukkaruppan V.R. Effect of splenectomy on the immune response in the lizard, *Calotes versicolor* // *Cell. Mol. Life Sci.* 1972. V. 28. P. 1225–1226. doi: 10.1007/bf01946185
23. Hussein M.F., Badir N., El Ridi R., El Deeb S. Effect of splenectomy on the humoral immune response in the lizard, *Scincus scincus* // *Cell. Mol. Life Sci.* 1979. V. 35. P. 869–870. doi: 10.1007/BF01955118
24. Borysenko M., Cooper E.L. Lymphoid tissue in the snapping turtle, *Chelydra serpentina* // *J. Morph.* 1972. V. 138. 487 p. doi: 10.1002/jmor.1051380408
25. Zapata A.G., Varas A., Torroba M. Seasonal variations in the immune system of lower vertebrates // *Immunol. Today.* 1992. V. 13. P. 142–147. doi: 10.1016/0167-5699(92)90112-K
26. El Ridi R., Zada S., Afifi A., El Deeb S., El Rouby S., Farag M., Saad A.H. Cyclic changes in the differentiation of lymphoid cells in reptiles // *Cell Differ.* 1988. V. 24. P. 1–8. doi: 10.1016/0045-6039(88)90081-4
27. Lynch H.E., Goldberg G.L., Chidgey A., Van den Brink M.R.M., Boyd R., Sempowsk G.D. Thymic involution and immune reconstitution // *Trends Immunol.* 2009. V. 30. P. 366–373. doi: 10.1016/j.it.2009.04.003
28. Orrigi F.C. Reptile immunology: in infectious diseases and pathology of reptiles / Ed. E.R. Jacobson. New York: Taylor, Francis, 2007. P. 131–166. doi: 10.1201/9781420004038
29. Gayen S.K., Som S., Sinha N.K., Sen A. Lysozyme in egg whites of tortoises and turtle: Purification and properties of egg white lysozyme of *Trionyx gangeticus cuvier* // *Arch. Biochem. Biophys.* 1977. V. 183. P. 432–442. doi: 10.1016/0003-9861(77)90378-2
30. Ingram G.A., Molyneux D.H. The humoral immune response of the spiny-tailed agamid lizard (*Agama caudospinosum*) to injection with Leishmania agamae promastigotes // *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1983. V. 4. P. 479–491. doi: 10.1016/0165-2427(83)90008-9
31. Araki T., Yamamoto T., Torikata T. Reptile lysozyme: the complete amino acid sequence of soft-shelled turtle lysozyme and its activity // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1998. V. 62. P. 316–324. doi: 10.1271/bbb.62.316
32. Thammasirak S., Ponkham P., Preecharram S., Khanchanuan R., Phonyothee P., Daduang S., Srisomsap C., Araki T., Svasti J. Purification, characterization and comparison of reptile lysozymes // *Comp. Biochem. Physiol.* 2006. V. 143. P. 209–217. doi: 10.1016/j.cbpc.2006.02.004
33. Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of vertebrates // *C. R. Biologies.* 2004. V. 327. P. 539–549. doi: 10.1016/j.crv.2003.12.007
34. Chattopadhyay S., Sinha N.K., Banerjee S., Roy D., Chattopadhyay D.D., Roy S. Small cationic protein from a marine turtle has  $\beta$ -defensin-like fold and antibacterial and antiviral activity // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics.* 2006. V. 64. P. 524–531. doi: 10.1002/prot.20963
35. Stegemann C., Kolobov A., Leonova Y.F., Knappe D., Shamova O., Ovchinnikova T.V., Kokryakov V.N., Hoffmann R. Isolation, purification and de novo sequencing of TBD-1, the first beta-defensin from leukocytes of reptiles // *Proteomics.* 2009. V. 9. P. 1364–1373. doi: 10.1002/pmic.200800569
36. Lakshminarayanan R., Vivekanandan S., Samy R.P., Banerjee Y., Chi-Jin E.O., Teo K.W., Jois S.D.S., Kini R.M., Valiyaveetil S. Structure, self-assembly, and dual role of a  $\beta$ -defensin-like peptide from the Chinese soft-shelled turtle eggshell matrix // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. V. 130. P. 4660–4668. doi: 10.1021/ja075659k
37. Tomasinsig L., Zanetti M. The cathelicidins – structure, function, and evolution // *Curr. Protein Pept.* 2005. V. 6. P. 23–34. doi: 10.2174/1389203053027520
38. Wang Y., Hong J., Liu X., Yang H., Liu R., Wu J., Wang A., Lin D., Lai R. Snake cathelicidin from *Bungarus fasciatus* is a potent peptide antibiotic // *PLoS One.* 2008. V. 3. P. e3217. doi: 10.1371/journal.pone.0003217
39. Preecharram S., Daduang S., Bunyatratchata W., Araki T., Thammasirak S. Antibacterial activity from Siamese crocodile (*Crocodylus siamensis*) serum // *Afr. J. Biotechnol.* 2008. V. 7. P. 3121–3128.
40. Seelen M.A.J. Role of complement in innate and autoimmunity // *J. Nephrol.* 2005. V. 18. P. 642–653.
41. Merchant M., Roche C., Elsey R.M., Prudhomme J. Antibacterial properties of serum from the American

- alligator (*Alligator mississippiensis*) // Comp. Biochem. Physiol. 2003. V. 136. P. 505–513. doi: 10.1016/s1096-4959(03)00256-2
42. Merchant M., Pallansch M., Paulman R.L., Wells J.B., Nalca A., Ptak R. Antiviral activity of serum from the American alligator (*Alligator mississippiensis*) // Antiviral Res. 2005. V. 66. P. 35–38. doi: 10.1016/j.antiviral.2004.12.007
43. Davis A.K., Maney D.L., Maerz J.C. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists // Functional Ecology. 2008. V. 22. P. 760–772. doi: 10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x
44. Davis A.K., Cook K.C., Altizer S. Leukocyte profiles of House Finches with and without mycoplasmal conjunctivitis, a recently emerged bacterial disease // Ecohealth. 2004. V. 1. P. 362–373. doi: 10.1007/s10393-004-0134-2
45. Arican H., Cicek K. Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish herpetofauna // Acta Herpetologica. 2010. V. 5. No. 2. P. 179–198. doi: 10.13128/Acta\_Herpetol-8526
46. Mondal S., Rai U. *In vitro* effect of temperature on phagocytic and cytotoxic activities of splenic phagocytes of the wall lizard, *Hemidactylus flaviviridis* // Comp. Biochem. Physiol. 2001. V. 129. P. 391–398. doi: 10.1016/s1095-6433(00)00356-1
47. Montali R.J. Comparative pathology of inflammation in the higher vertebrates (Reptiles, birds and mammals) // J. Comp. Pathol. 1988. V. 99. P. 1–26. doi: 10.1016/0021-9975(88)90101-6
48. Hawkey C.M., Dennett T.B. Color atlas of comparative veterinary hematology. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1989. 181 p.
49. Jain N.C. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea and Febiger, 1993. P. 1–18.
50. Sypek J.P., Borysenko M., Findlay S.R. Anti-immunoglobulin induced histamine release from naturally abundant basophils in the snapping turtle, *Chelydra serpentina* // Dev. Comp. Immunol. 1984. V. 8. P. 359–366. doi: 10.1016/0145-305x(84)90042-9
51. Galabov A.S., Velichkova E.H. Interferon production in tortoise peritoneal cells // J. Gen. Virol. 1975. V. 28. P. 259–263. doi: 10.1099/0022-1317-28-2-259
52. Mathews J.H., Vorndam A.V. Interferon-mediated persistent infection of Saint Louis Encephalitis virus in a reptilian cell line // J. Gen. Virol. 1982. V. 61. P. 177–186. doi: 10.1099/0022-1317-61-2-177
53. Zhou X., Guo Q., Dai H. Molecular characterization and expression profiles in response to bacterial infection of Chinese soft-shelled turtle interleukin-8 (IL-8), the first reptilian chemokine gene // Dev. Comp. Immunol. 2009. V. 33. P. 838–847. doi: 10.1016/j.dci.2009.02.002
54. El Ridi R., Wahby A.F., Saad A.H. Characterization of snake interleukin 2 // Dev. Comp. Immunol. 1986. V. 10. P. 128.
55. El Ridi R., Wahby A.F., Saad A.H., Soliman M.A.W. Concanavalin A responsiveness and interleukin 2 production in the snake *Spalerosphis diadema* // Immunobiology. 1987. V. 174. P. 177–189. doi: 10.1016/S0171-2985(87)80037-2
56. Kluger M.J., Ringler D.H., Anver M.R. Fever and survival // Science. 1975. V. 188. P. 166–168.
57. Merchant M., Williams S., Trosclair P.L., Elsey R.M., Mills K. Febrile response to infection in the American alligator (*Alligator mississippiensis*) // Comp. Biochem. Physiol. A. 2007. V. 148. P. 921–925. doi: 10.1016/j.cbpa.2007.09.016
58. Amaral J.P.S., Marvin G.A., Hutchison V.H. The influence of bacterial lipopolysaccharide on the thermoregulation of the box turtle *Terrapen carolina* // Physiol. Biochem. Zool. 2002. V. 75. P. 273–282. doi: 10.1086/341816
59. Burnham D.K., Keall S.N., Nelson N.J., Daugherty C.H. T cell function in tuatara (*Sphenodon punctatus*) // Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 2005. V. 28. P. 213–222. doi: 10.1016/j.cimid.2005.01.005
60. Farag M.A., El Ridi R. Mixed leucocyte reaction (MLR) in the snake *Psammophis sibilans* // Immunology. 1984. V. 55. P. 173–181.
61. Munoz F.J., De la Fuente M. The effect of the seasonal cycle on the splenic leukocyte functions in the turtle *Mauremys caspica* // Physiol. Biochem. Zool. 2001. V. 74. P. 660–667. doi: 10.1086/323033
62. Keller J.M., McClellan-Green P.D., Lee A.M., Arendt M.D., Maier P.P., Segars A.L., Whitaker J.D., Keil D.E., Peden-Adams M.M. Mitogen-induced lymphocyte proliferation in loggerhead sea turtles: comparison of methods and effects of gender, plasma testosterone concentration, and body condition on immunity // Vet. Immunol. Immunopathol. 2005. V. 103. P. 269–281. doi: 10.1016/j.vetimm.2004.09.029
63. Saad A.H. Sex-associated differences in the mitogenic responsiveness of snake blood lymphocyte // Dev. Comp. Immunol. 1989. V. 13. P. 225–229. doi: 10.1016/0145-305x(89)90003-7
64. Munoz F.J., Estrada-Parra S., Romero-Rojas A., Work T.M., Gonzalez-Ballesteros E., Estrada-Garcia I. Identification of CD3<sup>+</sup> T lymphocytes in the green turtle *Chelonia mydas* // Vet. Immunol. Immunopathol. 2009. V. 131. P. 211–217. doi: 10.1016/j.vetimm.2009.04.015
65. Berger S., Martin L.B., Wikelski M., Romero L.M., Kalko E.K.V., Vitousek M.N., Rodl T. Corticosterone suppresses immune activity in territorial Galapagos marine iguanas during reproduction // Horm. Behav. 2005. V. 47. P. 419–429. doi: 10.1016/j.yhbeh.2004.11.011
66. Afifi A., Mohamed E.R., El Ridi R. Seasonal conditions determine the manner of rejection in reptiles // J. Exp. Zool. 1993. V. 265. P. 459–468. doi: 10.1002/jez.1402650417
67. Farag M.A., El Ridi R. Functional markers of the major histocompatibility gene complex of snakes // Eur. J. Immunol. 1990. V. 20. P. 2029–2033. doi: 10.1002/eji.1830200922

68. Zimmerman L.M., Vogel L.A., Edwards K.A., Bowden R.M. Phagocytic B cells in a reptile // *Biol. Lett.* 2009. V. 23. No. 6 (2). P. 270–273. doi: 10.1098/rsbl.2009.0692
69. Natarajan K., Muthukkaruppan V.R. Distribution and ontogeny of B cells in the garden lizard, *Calotes versicolor* // *Dev. Comp. Immunol.* 1985. V. 9. P. 301–310. doi: 10.1016/0145-305X(85)90121-1
70. Warr G.W., Magor K.E., Higgins D.A. IgY: clues to the origins of modern antibodies // *Immunol. Today.* 1995. V. 16. P. 392–398. doi: 10.1016/0167-5699(95)80008-5
71. Turchin A., Hsu E. The generation of antibody diversity in the turtle // *J. Immunol.* 1996. V. 156. P. 3797–3805.
72. Grey H.M. Phylogeny of the immune response: studies on some physical chemical and serological characteristics of antibody produce in the turtle // *J. Immunol.* 1963. V. 91. P. 819.
73. Coe J.E. Immune response in the turtle (*Chrysemys picta*) // *Immunology.* 1972. V. 23. P. 45.
74. Benedict A.A., Pollard L.W. Three classes of immunoglobulins found in the sea turtle, *Chelonia mydas* // *Folia. Microb.* 1972. V. 17. P. 75–78. doi: 10.1007/BF02872256
75. Leslie G.A., Clem L.W. Phylogeny of immunoglobulin structure and finction. VI. 17S, 7,5S and 5,7S anti-DNP of the turtle, *Pseudamys scripta* // *J. Immunol.* 1972. V. 108. P. 1656.
76. Wei Z., Wu Q., Ren L., Hu X., Guo Y., Warr G.W., Hammarstrom L., Li N., Zhao Y. Expression of IgM, IgD, and IgY in a reptile, *Anolis carolinensis* // *J. Immunol.* 2009. V. 183. P. 3858–3864. doi: 10.4049/jimmunol.0803251
77. Deza F.G., Espinel C.S., Beneitez J.V. A novel IgA-like immunoglobulin in the reptile *Eublepharis macularius* // *Dev. Comp. Immunol.* 2007. V. 31. P. 596–605. doi: 10.1016/j.dci.2006.09.005
78. Iwata A., Iwase T., Ogura Y., Takahashi T., Matsumoto N., Yoshida T., Kamei N., Kobayashi K., Mestecky J., Moro I. Cloning and expression of the turtle (*Trachemys scripta*) immunoglobulin joining (J)-chain cDNA // *Immunogenetics.* 2002. V. 54. P. 513–519. doi: 10.1007/s00251-002-0492-2
79. Geisberger R., Lamers M., Achatz G. The riddle of the dual expression of IgM and IgD // *Immunology.* 2006. V. 118. P. 429–437. doi: 10.1111/j.1365-2567.2006.02386.x
80. Deza F.G., Espinel C.S. IgD in the reptile leopard gecko // *Mol. Immunol.* 2008. V. 45. P. 3470–3476. doi: 10.1016/j.molimm.2008.02.027
81. Marchalonis J.J., Ealey E.H.M., Diener E. Immune response of the tuatara, *Sphenodon punctatum* // *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 1969. V. 47. P. 367–380. doi: 10.1038/icb.1969.40
82. Pye G.W., Brown D.R., Nogueira M.F., Vliet K.A., Schoeb T.R., Bennett R.A. Experimental inoculation of broad-nosed caimans (*Caiman latirostris*) and Siamese crocodiles (*Crocodyllus siamensis*) with *Mycoplasma alligatoris* // *J. Zoo. Wildl. Med.* 2001. V. 32. P. 196–201. doi: 10.1638/1042-7260(2001)032[0196:EIOBNC]2.0.CO;2
83. Origgi F.C., Klein P.A., Mathes K., Blahak S., Marschang R.E., Tucker S.J., Jacobson E.R. Enzyme-linked immunosorbent assay for detecting herpesvirus exposure in Mediterranean tortoises (spur-thighed tortoise [*Testudo graeca*] and Hermann's tortoise [*Testudo hermanni*]) // *J. Clin. Microbiol.* 2001. V. 39. P. 3156–3163. doi: 10.1128/jcm.39.9.3156-3163.2001
84. Ujvari B., Madsen T. Age, parasites, and condition affect humoral immune response in tropical pythons // *Behav. Ecol.* 2005. V. 17. P. 20–24. doi: 10.1093/beheco/ari091
85. Snoeijs T., Eens M., Van Den Steen E., Pinxten R. Kinetics of primary antibody responses to sheep red blood cells in birds: a literature review and new data from great tits and European starlings // *Anim. Biol.* 2007. V. 57. P. 79–95. doi: 10.1163/157075607780002041
86. Merchant M., Britton A. Characterization of serum complement activity of saltwater (*Crocodyllus porosus*) and freshwater (*Crocodyllus johnstoni*) crocodiles. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 2006. V. 143. P. 488–493. doi: 10.1016/j.cbpa.2006.01.009
87. Raffle T.R., Rohr J.R., Kiesecker J.M., Hudson P.J. Negative effects of changing temperature on amphibian immunity under field conditions // *Func. Ecol.* 2006. V. 20. P. 819–828. doi: 10.1111/j.1365-2435.2006.01159.x
88. Zhelankin R.V., Brylina V.E., Vassiliev G.B., Pavlov G.V. Immune status and its changes in lizards *Pseudopus apodus* after dehelminthization and subsequent immunocorrection // *Scientific Research in Zoological Parks.* 2008. No. 24. P. 53–62 (in Russian).
89. Zhelankin R.V., Pavlov G.V. Immune and hematopoietic system of reptiles. Moskva: Issledovatel'skiy centr kachestva podgotovki specialistov Minobrazovaniya, 2008. 53 p. (in Russian).
90. Zhelankin R.V. Studying of the cellular and humoral factors of immunity and definition of immune status at lizards *Pseudopus apodus* at helminthosis caused to the nematodes *Entomelas* sp. // *The problems of herpetology: Materialy 4 syezda Gerpetologicheskogo obshchestva im. A.M. Nikolskogo.* Kazan, Sankt-Peterburg, 2011. P. 87–92 (in Russian).
91. Keller J.M., McClellan-Green, P.D., Kucklick J.R., Keil D.E., Peden-Adams M.M. Effects of organochlorine contaminants on loggerhead sea turtle immunity: comparison of a correlative field study and in vitro exposure experiments // *Environ. Health Perspect.* 2006. V. 114. P. 70–76. doi: 10.1289/ehp.8143
92. Day R.D., Segars A.L., Arendt M.D., Lee A.M., Peden-Adams M.M. Relationship of blood mercury levels to health parameters in the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) // *Environ. Health Perspect.* 2007. V. 115. P. 1421–1428. doi: 10.1289/ehp.9918

93. Guillette L.J., Gross T.S., Masson G.R., Matter J.M., Percival H.F., Woodward A.R. Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida // *Environ. Health Perspect.* 1994. V. 102. P. 680–688. doi: 10.1289/ehp.94102680

94. Vitt L.J., Caldwell J.P. *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*. Third Edition. Burlington, Massachusetts, U.S.A.: Academic Press, 2009. 630 p.

95. Romanova E.B., Nikolaev V.Yu., Solomaykin E.I., Bakiev A.G., Gorelov R.A. The research of leukocyte formula of blood of *Vipera berus* from Samara region // *Principy jekologii*. 2016. V. 5 P. 55–74 [Internet resource] [http://ecopri.ru/journal/content\\_list.php?id=8768](http://ecopri.ru/journal/content_list.php?id=8768) (Accessed: 29.01.2019) (in Russian). doi: 10.15393/j1.art.2016.5422

96. Romanova E.B., Solomaykin E.I., Bakiev A.G., Gorelov R.A., Klyonina A.A. Immunohematological Indicators of non- and poisonous snakes in the Volga Basin Areas with different antropogenic transformation // *Proceedings of the Samara Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences*. 2017. V. 19 (2). P. 54–61 (in Russian).

97. Romanova E.B., Solomaykin E.I., Bakiev A.G., Gorelov R.A. The leukocyte blood composition of *Elaphe dione* (SERPENTES: COLUBRIDAE) in natural reserve “Orenburgskiy” (Russia) // *Nature Conservation Research*. 2018. No. 3 (Suppl. 1). P. 28–35 [Internet resource] <http://ncr-journal.bear-land.org/article/140> (Accessed: 29.01.2019) (in Russian). doi: 10.24189/ncr.2018.033



## Approaches for establishing threshold concentrations of priority pollutants in urban ecosystem components

© 2020. Y. A. Tunakova<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-8826-8639, S. V. Novikova<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-8207-1010,  
D. V. Ivanov<sup>2</sup> ORCID: 0000-0003-2822-4623, A. R. Shagidullin<sup>2</sup> ORCID: 0000-0003-3837-6110,  
V. S. Valiev<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-8848-5326, A. J. Morais<sup>3</sup> ORCID: 0000-0002-5673-0315

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

<sup>2</sup>Research Institute for Problems of Ecology and Mineral Wealth Use  
of Tatarstan Academy of Sciences,  
28, Daurskaya St., Kazan, Russia, 420087,

<sup>3</sup>University of Lisbon,  
1, Sa Nugeira St., Lisbon, Portugal, 1348-063,

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

Quality management of urban ecosystem components should be based on adequate determination of threshold values for concentrations of priority pollutants, otherwise it is difficult to assess the severity of negative consequences of anthropogenic activities. Currently, there is no officially approved or generally accepted method for setting concentration thresholds for urban ecosystem components at the regional level in Russia. Setting such thresholds requires the use of effective indicators that can reflect man-made multi-component and multi-factor effects. Quantitative characteristics of accumulating and dynamic biosubstrates of sensitive representatives of the population can act as an informative marker of the response of biological components of the urban ecosystem to anthropogenic impact. Territorial correspondence of sampling points of components of the urban ecosystem and biosubstrates of the body will allow to establish relationships between their contents. The priority of the study of metals among the entire variety of pollutants subject to control is their stability in the components of the urban ecosystem, their high ability to biogenic migration, and the danger of accumulation with the manifestation of toxic effects, due to a long period of excretion from the human body. The use of modern neural network technologies and chemical analysis of metals has allowed to define threshold concentrations of metals in depositing components of the urban ecosystem at the upper limits of acceptable concentrations of their content in biological substrates of children and adolescents which do not lead to an increase of regional reference values in blood and hair.

**Keywords:** metals, biosubstrates, depositing media, threshold concentrations, neural network modeling.

УДК 504.064

## Подходы для установления пороговых концентраций приоритетных загрязняющих веществ в компонентах урбоэкосистемы

© 2020. Ю. А. Тунакова<sup>1</sup>, д. х. н., профессор, зав. кафедрой,  
С. В. Новикова<sup>1</sup>, д. т. н., профессор, Д. В. Иванов<sup>2</sup>, к. б. н., зам. директора,  
А. Р. Шагидуллин<sup>2</sup>, к. ф.-м. н., с. н. с., В. С. Валиев<sup>2</sup>, с. н. с.,  
А. Х. Мораиш<sup>3</sup>, профессор, зав. кафедрой,

<sup>1</sup>Казанский национальный исследовательский технический университет  
им. А. Н. Туполева (КАИ),  
420126, Россия, г. Казань, ул. Четаева, д. 18,

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

<sup>3</sup>Лиссабонский университет,  
1349-063, Португалия, г. Лиссабон, ул. Са Нугейра, д. 1,  
e-mail: juliaprof@mail.ru, artur.shagidullin@tatar.ru, ajmorais@iol.pt

Управление качеством компонентов урбоэкосистемы должно основываться на адекватном определении пороговых значений концентраций приоритетных загрязняющих веществ, в противном случае сложно оценить выраженность негативных последствий антропогенной деятельности. В настоящее время в России не существует

официально утверждённой или общепринятой методики установления пороговых значений концентраций для компонентов урбоэкосистем на региональном уровне. Установление таких порогов требует использования эффективных индикаторов, способных отразить техногенное поликомпонентное многофакторное воздействие. Количественные характеристики аккумулирующих и динамичных биосубстратов чувствительных представителей населения могут выступать информативным маркером отклика биологических компонентов урбоэкосистемы на антропогенное воздействие. Территориальное соответствие точек пробоотбора компонентов урбоэкосистемы и биосубстратов организма позволит установить взаимосвязи между их содержаниями. Приоритетность исследования металлов среди всего многообразия подлежащих контролю загрязняющих веществ, обусловлена их устойчивостью в компонентах урбоэкосистемы, высокой способностью к биогенной миграции, опасностью накопления с проявлением токсического действия, вследствие длительного периода выведения из организма человека. Использование современных нейросетевых технологий, химико-аналитических исследований содержания металлов позволило определить пороговые концентрации металлов в депонирующих компонентах урбоэкосистемы по верхней границе приемлемых концентраций их содержания в биосубстратах детей-подростков, не приводящих к превышению их региональных референсных значений в крови и волосах.

**Ключевые слова:** металлы, биосубстраты, депонирующие среды, пороговые концентрации, нейросетевое моделирование.

In the process of the formation of a large urban agglomeration, the degradation of the natural ecosystem and the formation of a new anthropogenic ecosystem – the urban ecosystem – are gradually taking place. Anthropogenic flows of matter formed during the functioning of urban ecosystems are extremely diverse and contain high concentrations of a wide range of chemical elements, including toxic ones. Being included in natural migration cycles, anthropogenic flows lead to the rapid spread of pollutants in the components of the urban ecosystem, where their interaction with humans is inevitable. A special role in this context is played by the migration flows of metals, which are not only the most important pollutants, but also substances that form their own biogeochemical cycles in urban ecosystems [1, 2]. The dominant pathway for the supply of metals to the territory of the urban ecosystem is the aerogenic pathway. Aerogenic influx of metals with emissions from stationary and mobile sources of pollution is the main input part of their balance [2, 5, 8].

The influx of metals into the territory of the urban ecosystem usually occurs over a long period with low intensity, exerting a chronic polymetallic load on organisms, especially sensitive groups of the population [1–2].

It is known that metals with carcinogenic potential have a negative effect on various organs and systems of the human body. A high level of input of Cr and Pb is often found in the territory of urban ecosystems of industrialized countries, and chronic exposure to these metals is still a serious problem [3–4].

Estimates show that the integral rather than isolated intake of metals into the body most often occurs in the territory of urban ecosystems, although the latter has been the subject of the largest number of studies. Essays on assessing the impact of the polyelement spectrum of metals

present in the components of urban ecosystems at a level below hygienic standards are practically absent today [4–7]. The main role of the transport of metals in the body belongs to the blood due to binding metals by blood proteins. The availability and simplicity of sample preparation determined the choice of blood serum as one of the objects for investigation of the metal content [6–11]. Various tissues, nails, hair, the stratum corneum of the skin can be used as indicators of chronic polymetallic exposure. Hair is a particularly representative and easily obtained object of research [3, 12].

The sensitivity of adolescent children to the chronic intake of metals from their environment differs significantly from that of young children and adults for various reasons associated with the physiological characteristics of metabolism [1, 4].

Abroad, approaches based on the creation of models and the development of scenarios for the development of urban ecosystems are actively practiced. Ecological and geochemical studies based on the chemical analysis of samples of various natural environments are traditional in our country [8–10]. The combination of these approaches seems to us promising for determining the threshold values of metal concentrations in the components of urban ecosystems.

In the case of deficiency of systematic observations of the content of metals in the surface layer of the atmosphere, it is informative to determine them in the snow cover and soils as the depositing components of the urban ecosystem. The advantages of studying the depositing components of the urban ecosystem are the relative cheapness, the characterization of the accumulation of polluting components over a long period, the ability to cover large areas by sampling, and the accuracy of the results in terms of sensitivity and reproducibility.

Snow has a high sorption capacity for metals sedimented from the atmosphere in dissolved and suspended forms. The composition of the snow allows us to obtain information on the spatial distribution of metals and the intensity of the impact of emission sources for a certain period – during one snowfall or for the entire period of snow. Observations of the composition of snow in the same territory allow us to identify a general trend in the change in the levels of polymetallic load, to find new foci of pollution that are not detected by less dynamically reacting objects such as soils, and to quantitatively calculate the influx of metals during a period with a stable snow cover [2, 9].

The soil cover, being at the intersection of all migration paths of metals, fixes the total effect of long-term accumulation of atmospheric impurities, and is one of the most informative blocks in the study of the urban ecosystem condition. At the same time, the soil is a source of dust containing a certain pool of metals and forms secondary air pollution in residential areas [2, 8].

Thus, the aim of the study was to determine the threshold concentrations of metals in the depositing media of the urboecosystem – soil and snow cover, at which the content of the same metals does not exceed regional reference values in biosubstrates of adolescent children (blood as dynamic medium and hair as accumulating one).

### Materials and research methods

To study the content of metals in the soil and snow cover (essential Zn, Cu and toxic Pb, Cr), 170 points of depositing media were selected throughout the territory of Kazan city, which are under the influence of stationary and mobile sources of metal input. Metals of the studied series are present in emissions of 154 out of 291 enterprises in the consolidated database, and the location of the sampling points was determined after analyzing the structure of emissions and calculating the fields of metal concentrations with the determination of pollution epicenters using the licensed software “Ecolog-Gorod” 4.5 with an additional module for calculating averaged concentrations developed by Firma Integral Ltd, which is described in detail in [10]. Sampling of snow cover was carried out according to the recommendations [13] and was carried out by the through-breakdown method. As a result of the study the concentrations of metals ( $\mu\text{g/L}$ ) were obtained in soluble (water phase) and suspended (solid phase) forms. At the same

time, the content of metals in the solid residue (mg/kg dust) was calculated.

Under aerogenic pollution, the maximum concentrations of metals are usually recorded in the uppermost soil horizon. Down the profile, their content usually decreases and reaches the background level [2, 8].

At each point, one mixed sample was taken from the surface horizon by the envelope method from a depth of 0–20 cm.

Determination of the content of metals in the obtained aqueous extracts was carried out by atomic absorption spectrometry on the Perkin Elmer AAnalyst 400 device. Statistical processing of the obtained results of the study was carried out using the “STATISTICA v.6.0” package. The significance of the differences in the means was determined by the standard Student's *t*-test with Keuls' correction for small samples, and using the Mann-Whitney *U*-test for samples with pronounced asymmetry. The frequency characteristics of the variational series were evaluated, with an assessment of the normality of the distribution of samples, their 95% confidence intervals, medians and means with standard deviations.

### Results and discussion

As a result of evaluating the data series of variations, a significant variability in the content of metals in the solid and liquid phases of snow was established (coefficient of variation 47.4–123.5%). The distribution of gross and mobile forms of metals in urban soils is also subject to very large variability. The maximum values are reached by the coefficients of variation of mobile forms of zinc (216%), and, especially, copper (732%). The high variability of the values, as well as the pronounced asymmetry of the samples, indicate the presence of dynamic factors that determine this variability. It should also be noted that there are direct correlations between the content of lead in hair and in the solid phase of snow ( $r = 0.28$ ,  $p = 0.036$ ); zinc in the blood and in the water ( $r = 0.44$ ;  $p = 0.005$ ) and solid ( $r = 0.45$ ;  $p = 0.004$ ) phases of snow; chromium in blood and its gross forms in soil ( $r = 0.33$ ,  $p = 0.011$ ). This circumstance allows us to make an assumption about the presence of objective prerequisites for the variability of the concentrations of these metals in the body, depending on the air route of intake, including dust.

The calculation of the threshold concentrations of metals was carried out in such a way that their content in the components of the external

environment in the study area did not lead to increasing regional reference values in the blood and hair of adolescent children. The reference values were determined statistically (as the median of a ranked series of experimental measurements) based on retrospective population studies of the metal content in biosubstrates of adolescent children (9–16 years old) in the cities of the Republic of Tatarstan. The total sample size was 342 people.

To calculate the threshold concentrations of metals, it was necessary to construct a model capable of reflecting the relationship between their content in human biosubstrates and depositing media. Input parameters of the model: metal content in hair ( $x_1$ ) and in blood serum ( $x_2$ ); output parameters: metal content in snow cover ( $y_1$ ) and mobile forms in soils ( $y_2$ ).

It should be noted that the form of the regression dependence is not obvious and is clearly non-linear. At the same time, it is likely that the content of one or another metal in the blood and in human hair is interrelated. However, this relationship has a significant time lag, determined by the coefficients of biological accumulation of certain metals and the rate of hair growth, which makes it possible to identify it only with constantly acting (chronic) factors of influence. Under such conditions, artificial neural networks, which are universal approximators capable of reflecting an arbitrary implicit dependence of any complexity with a given accuracy, are best suited to the modeling task.

For regression tasks, the most suitable paradigms of neural networks are multilayer perceptrons (MLP networks) with linear (linear MLP networks) and nonlinear neurons (neuron activation functions). Thus, at the preliminary stage of modeling, a team of neural network experts is built. Under the conditions of the per-

manent influence of the factor that determines the influx of metals into the environment, the main calculation models should be built taking into account the mutual influence of the inputs during the formation of the output, that is, the models should contain the values of the metal content in both biosubstrates simultaneously.

To model the relationship between the content of metals in the snow and soil cover and the content of metals in the hair and blood of adolescent children in a given territory, MLP type neural networks with two inputs and one output were built. The internal structure of the computational MLP model for each metal was selected individually in the course of experiments from the condition of minimizing the root mean square error on the training set.

The simulation results are presented in the Table. In this case, the learning error characterizes the accuracy of the model on the training data and is used to assess the adequacy of the proposed neural network topology. The other two parameters (the standard deviation and the relative error) characterize the accuracy of the model's operation on data that is not involved in direct training. The most informative is the second of these parameters, since it gives an idea of the deviations of the model data from the real ones on a scale of measured values.

Thus, the models shown in the Table have a sufficient degree of accuracy and, according to the results of the analysis, are recognized as adequate. Consequently, they can be used to determine the threshold concentrations of metals in soils and snow cover based on the condition that the regional reference concentrations in the hair and blood of adolescents are not exceeded.

For further calculations, pairs of input values were compiled, processed by sequentially developed models 1–8 shown in the table. As a

Table

Indicators of relative errors and training errors of neural network models for different depositing media

No. of model	Metal, depositing media	Training error	Standard deviation	Relative error, %	
1	Zn	snow	0.21	26.37	7.82
2		soil	0.19	15.87	37.65
3	Cu	snow	0.13	10.51	5.98
4		soil	0.28	1.68	34.76
5	Pb	snow	0.26	5.61	8.95
6		soil	0.08	1.48	6.18
7	Cr	snow	0.06	1.06	2.30
8		soil	0.12	0.16	3.98

Regional reference concentration in biosubstrates	Model	Threshold concentrations in depositing media
Zn, hair – 135.0 mg/kg Zn, blood – 0.91 µg/mL	1	Zn, snow – 21.16 µg/L
	2	Zn, soil – 2.40 mg/kg
Cu, hair – 11.3 mg/kg Cu, blood – 0.96 µg/mL	3	Cu, snow – 13.59 µg/L
	4	Cu, soil – 2.56 mg/kg
Pb, hair – 2.99 mg/kg Pb, blood – 0.03 µg/mL	5	Pb, snow – 4.99 µg/L
	6	Pb, soil – 6.92 mg/kg
Cr, hair – 0.51 mg/kg Cr, blood – 0.03 µg/mL	7	Cr, snow – 5.10 µg/L
	8	Cr, soil – 0.32 mg/kg

Fig. Threshold metal concentrations in depositing media

result, the threshold concentrations of metals in the depositing media were obtained, which are shown in the diagram (Fig.).

### Conclusion

In conditions of constant supply of metals into the environment, the main calculation models should be built taking into account the values of the metal content in dynamic (blood) and accumulating (hair) biosubstrates simultaneously. To determine the threshold concentrations of metals, artificial neural networks, which are universal approximators, have shown a good ability to reflect an arbitrary implicit dependence of high complexity. A small relative error, taking into account the complexity of modeling (2–38%), allows the developed models to be used to determine the threshold concentrations of metals in the soil and snow covers, based on the condition that their regional reference concentrations in the hair and blood of the child population do not exceed. Determination of threshold concentrations in the depositing components of the urban ecosystem (soil and snow cover) is intended for the development of an emission

control system, ecological substantiation of schemes for the development and placement of production facilities, master plans of cities, etc.

*This work was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research and the Government of the Republic of Tatarstan within the framework of the scientific project No. 18-41-160020.*

### References

1. Avtsyn A.P., Zhavoronkov A.A., Rish M.A., Strochkova L.C. Human microelements: etiology, classification, organopathology. Moskva: Meditsina, 1991. 496 p. (in Russian).
2. Elpatievsky P.V. Geochemistry of migration flows in natural and natural-man-made geosystems. Moskva: Nauka, 1993. 253 p. (in Russian).
3. Zaborowska W., Wiercicki J. Determination of lead, cadmium, copper and zinc in hair of children from Lublin as a test of environmental pollution // Roczn. Panstw. Zakl. Hig. 1996. V. 47. No. 2. P. 217–222.
4. Revich B.A., Avaliani S.L., Tikhonov G.I. Ecological epidemiology. Moskva: Akademiya, 2004. 378 p. (in Russian).

5. Hanson N., Stark J.D. Comparison of population level and individual level endpoints to evaluate ecological risk of chemicals // *Environ. Sci. Technol.* 2012. V. 15. No. 46 (10). P. 5590–5598. doi: 10.1021/es3008968

6. Blaurock-Busch E., Amin O.R., Dessoki H.H., Rabah T. Toxic metals and essential elements in hair and severity of symptoms among children with autism // *Maedica (Buchar)*. 2012. No. 7. P. 38–48. doi: 10.1016/S0924-9338(12)74444-9

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

8. Saet Yu.A., Revich B.A. Ecological-geochemical approaches to the development of criteria for normative assessment of the state of the urban environment // *Bulletin of the Russian Academy of Sciences. Geographical Series*. 1988. No. 4. P. 37–46 (in Russian).

9. Korlyakov I.D., Kosheleva N.E., Kacimov N.S. Impact of building parameters on accumulation of heavy

metals and metalloids in urban soils // *Urbanization: Challenge and Opportunity for Soil Functions and Ecosystem Services*. 2019. January. P. 58–65. doi: 10.1007/978-3-319-89602-18

10. Tunakova Y., Novikova S., Shagidullin A., Valiev V., Morais A. Methodology for assessing the level of territorial environmental risk for the planned management of environmental safety of the urban environment // *Ecology and Industry of Russia*. 2019. No. 23 (10). P. 44–49 (in Russian). doi: 10.18412/1816-0395-2019-10-44-49

11. Capuni-Paracka S. Blood lead and blood pressure in young children // *Epidemiology*. 1996. V. 7. No. 6. P. 633–637.

12. Yudina T.V., Yegorov M.V. Determination of trace elements in human hair on atomic absorption spectrophotometer // *Laboratory science*. 1989. No. 6. P. 74–75 (in Russian).

13. Methodological recommendations for geochemical assessment of urban pollution with chemical elements. Moskva: IMGRE, 1982. 112 p. (in Russian).

## A dynamical model of the coral-algae competition in a coral reef ecosystem

© 2020. I. Bica <sup>ORCID: 0000-0003-0791-3016</sup>, M. Solomonovich <sup>ORCID: 0000-0002-3210-2904</sup>  
MacEwan University,  
Building 7, 10700 – 104, Ave NW, Edmonton, Alberta, Canada, T5J 4S2,  
e-mail: bicai@macewan.ca, solomonovichm@macewan.ca

A coral reef system is a biodiverse ecosystem in which coral is in mutual competitive partnership with algae. The survival of coral in this competition with algae is vital for the well-being of any coral reef ecosystem. In ideal conditions, the coral mass concentration and algae mass concentration are in a stable equilibrium. However, in practice, it is not always the case due to numerous factors of natural and anthropogenic origin. It is not easy to take into account all these factors when studying the question of survival of the reef ecosystem. We propose a dynamical system that describes the competition between coral and algae and contains terms that describe two major features inherent in this competition. The first one is the accelerated growth of algae when the amount of the turf algae exceeds a certain threshold, and it transforms into macroalgae, which grows much faster and has a detrimental effect on the corals. The second feature is associated with the grazing of the herbivory and other marine life on corals and algae. We apply both analytical and numerical techniques to study the system to find out what kind of equilibria such a system may exhibit. The results of our analysis show that although the boost in the growth of algae may devastate the corals, the latter may still survive if the algae are also subject to sufficiently intense grazing.

**Keywords:** coral reef ecosystems, coral-algae interaction, equilibrium, dynamical systems, nullclines, competitive ecosystem.

УДК 574.55:004.942

## Динамическая модель конкуренции кораллов и водорослей в экосистеме коралловых рифов

© 2020. И. Бика, доктор философии, доцент,  
М. Соломонович, доктор философии, доцент,  
Университет Макьюэна,  
здание 7, 10700 – 104, Авеню Северо-Запад,  
Эдмонтон, Альберта, Канада, T5J 4S2,  
e-mail: bicai@macewan.ca, solomonovichm@macewan.ca

Система коралловых рифов – это многокомпонентная экосистема, в которой кораллы находятся во взаимном конкурентном партнёрстве с водорослями. Выживание кораллов в конкуренции с водорослями жизненно важно для благополучия любой экосистемы коралловых рифов. В идеальных условиях биомасса кораллов и биомасса водорослей находятся в устойчивом равновесии. Однако на практике это не всегда так из-за множества факторов природного и антропогенного характера. Учесть все эти факторы при изучении вопроса о выживании рифовой экосистемы непросто. Мы предлагаем динамическую модель экосистемы, которая описывает конкуренцию между кораллами и водорослями и включает факторы, описывающие две основные особенности, присущие этой конкуренции. Первая – это ускоренный рост бентосных водорослей, когда их количество превышает определённый порог, и начинается интенсивное размножение макроводорослей, которые растут намного быстрее и губительно действуют на кораллы. Вторая особенность связана с питанием растительноядных и других обитателей коралловых рифов. Мы применяем как аналитические, так и численные методы для изучения системы, чтобы выявить характеристики равновесного состояния такой экосистемы. Результаты анализа показывают, что, хотя ускорение роста водорослей может разрушить кораллы, последние могут выжить, если водоросли также будут подвергаться достаточно интенсивному поглощению растительноядными видами морских животных, входящих в экосистему коралловых рифов.

**Ключевые слова:** экосистемы коралловых рифов, взаимодействие кораллов и водорослей, равновесие, динамические системы, нулевые линии, конкурентная экосистема.

The world-wide endeavor to protect and support coral reefs as an essential part of the ocean's ecosystem is becoming more and more predominant and challenging tasks every year while humankind has been facing new challenges such as climate change and increased pollution [1–6].

Corals provide homes for many sorts of creatures under the sea. Many species, both plant and animal origin are associated with coral reef ecosystems. This biodiversity, with all kinds of interactions between the species, results in the extreme complexity of coral reef ecosystems [7–11].

The dynamics of growth and deterioration of the corals are also affected by the climate disturbances and various anthropogenic factors [1, 2, 4, 6, 12] such as pollution, recreational fishing [4, 12–14, 16], and even seemingly innocent ones such as snorkeling [17].

In the present work, we want to bring awareness of the importance of modeling the dynamics of the coral reefs from a mathematical perspective. Based on our evaluations, we identify the factors that play a decisive role in coral reef survival. At the same time, we address the parameters that influence the dynamics and how to manage them to support coral reef survival. Since the number of the variables of such a system is enormous, the model must suggest which ones are the most decisive, and concentrate on those, while adding the others as higher-order effects to the basic model.

Currently, despite some diversity of opinions [18], the majority of researchers consider coral-algae competition for light and oxygen as the primary factor influencing the coral reef survival.

The primary producer in the trophic structure of a coral reef is algae. The algae produce their energy, and they consist of the following types: zooxanthellae, coralline, and calcareous algae, and turf algae (known as well as “algal turfs”). The algal turfs are dense benthic algae, composed of filamentous algae and phytoplankton. Algae provide nutrients and oxygen, and they are essential in the growth and maintenance of coral reef ecosystems. Among algal functional groups, the turf algae are integral to the healthy function of a coral reef ecosystem. Turf algae [19], have a high growth rate, and due to their physical location within a reef system, they are less susceptible to water turbulence and grazing. The overgrowth of algal turfs will force the coral to react in defense, and depending on the nature of the coral, fast or slow-growing, the

turf algae will be either a competitor or a predator within the coral reef ecosystem [20]. The balance between algae and coral is essential for both to sustain a healthy ecosystem; too little algae will not offer the coral enough food and oxygen, while too many algae will suffocate the coral. The suffocation of the coral will result in the decay of the living coral mass, and eventually, the coral dies out.

For example, decaying living coral mass can manifest through coral bleaching, coral dying from the base, or coral polyps expelling their population of zooxanthella. Once the coral dies out, the proliferation of algae will turn into itself, and eventually, it will reach a saturation point.

The present work focuses on the interaction between coral and algae as competing species, and it addresses the model proposed in [21] by developing some ideas presented in our recent paper [22]. We consider the presence of herbivory as well feeding on algae and other marine life feeding on corals as well as algae. Depending on the model parameters, the dynamical model proposed may generate various outcomes: the coral and the algae may become “partners” that sustain a well-balanced reef ecosystem, or they may turn against each other, i. e., one of the species contributes to the extinction of the other.

### Coral-algae model

The model proposed below is a modification of the classical Lotka-Volterra model of two competing species. The changes reflect the intrinsic features of the coral-algae competition in the ecosphere of a coral reef.

The first modification includes the presence of the so-called shift leading to non-linearity in the competition, i. e., when the density of the biomass of algae exceeds a certain threshold, the composition of the algal community shifts from turf algae to macro-algae [21, 23]. The latter grows faster than the turf algae; also, it is less amenable to the herbivory grazing, and it creates a higher shading effect. This shift gives algae an advantage in the competition with corals.

The second modification includes contributions from the herbivorous fish and other plant and coral-eating marine life. These are modeled by linear functions, which, of course, is a simplification we assume in this basic version of the model.

Thus, we propose the following autonomous system of differential equations:



$$\dot{x} = r_1 x \left(1 - \frac{x}{K_1}\right) - \frac{c_{12} r_1 x y}{K_1} - \beta_1 x \quad (1)$$

$$\dot{y} = r_2 x \left(1 - \frac{y}{K_2}\right) - \frac{c_{21} r_2 x y}{K_2} + \alpha y H(y - \eta) - \beta_2 y \quad (2)$$

$x$  and  $y$  represent the proportions of the population densities of coral and algae, respectively.  $r_1$  and  $r_2$  represent the intrinsic growth rates of coral and algae, respectively.  $K_1$  and  $K_2$  represent the carrying capacities of coral and algae, respectively.  $c_{12}$  is the effect of algae onto coral, and  $c_{21}$  is the effect of coral onto algae. The term associated with the Heaviside function [24]:

$$H(y - \eta) = \begin{cases} 0, & y < \eta \\ 1, & y \geq \eta \end{cases} \quad (3)$$

will play an “activation” role in the model; when the density of the algae biomass exceeds a certain threshold value  $\eta$ , the shift occurs: macroalgae starts dominating the composition of the algal community, which increases the rate of the algal growth.  $\eta \in (0,1)$  is an a priori set up monitoring threshold for the algae,  $y$ . If  $y < \eta$  and  $\beta_1 = \beta_2 = 0$ , the model is simply a competitive Lotka-Volterra model [25, 26]. Otherwise, the model is a modified competitive Lotka-Volterra model, where the behavior of the dynamical system depends on the values of the parameters. The parameter  $\alpha \in (0,1)$  is a “boosting” parameter for coral; when  $y \geq \eta$ , the term  $\alpha y$  will contribute to the faster proliferation of algae. The small and positive parameters  $\beta_1$  and  $\beta_2$  reflect the effect of the herbivorous fish [27], and coral-eating marine life [28], on coral and algae, respectively. In the present study, we consider the effect of the herbivorous fish as a linear function. In reality, these functions are more sophisticated, and the parameters  $\beta_1$  and  $\beta_2$  may depend upon many factors, including even the coral reef’s topography, which affects how herbivorous fish, parrotfishes and surgeonfishes, graze [29]. Thus, the dynamical system (1–2) takes into account specific features of the coral-algae competition, namely the more intrusive nature of macroalgae as compared to the turf algae, and the effect the herbivorous fish and coral-eating animals have on the coral and algae populations.

We start by considering the dynamical system (1–2) in the area  $y < \eta$ , where, as we show below, it has an interior equilibrium point with:

$$\begin{aligned} x &= \frac{K_2 \beta_2 c_{12} r_1 - K_2 c_{12} r_1 r_2 - K_1 \beta_1 r_2 + K_1 r_1 r_2}{r_1 r_2 (1 - c_{12} c_{21})} \\ y &= \frac{K_1 \beta_1 c_{21} r_2 - K_1 c_{21} r_1 r_2 - K_2 \beta_2 r_1 + K_2 r_1 r_2}{r_1 r_2 (1 - c_{12} c_{21})} \end{aligned} \quad (4)$$

where:

$$\begin{aligned} K_2 \beta_2 c_{12} r_1 - K_2 c_{12} r_1 r_2 - K_1 \beta_1 r_2 + K_1 r_1 r_2 &> 0 \\ K_1 \beta_1 c_{21} r_2 - K_1 c_{21} r_1 r_2 - K_2 \beta_2 r_1 + K_2 r_1 r_2 &> 0 \end{aligned} \quad (5)$$

Let us note:

Since  $c_{12} \in (0,1)$  and  $c_{21} \in (0,1)$ , then obviously  $1 - c_{12} c_{21} > 0$ .

The dynamical system (1–2), under the regime  $y < \eta$ , has another three non-internal equilibrium points

$$\begin{aligned} x = 0, y = 0 \\ x = 0, y = K_2 (r_2 - \beta_2) / r_2 x \\ x = K_1 (r_1 - \beta_1) / r_1, y = 0 \end{aligned} \quad (6)$$

Since the effect produced by grazing is small compared to the major phenomena associated with the intrinsic growth of coral and algae,  $\beta_1$  and  $\beta_2$  are assumed to be much smaller than  $r_1$  and  $r_2$ , respectively. As a result of such an assumption, all the equilibria (6) have positive  $x$  and  $y$ -coordinates.

In the next step in our analysis, we will “activate” the Heaviside step-function by choosing positive nonzero values of the boosting parameter  $\alpha$ . As a result, as soon as  $y$  exceeds  $\eta$ , the rate of growth of the concentration of algae mass will receive a boost, and the latter will have a substantial effect on the location of the equilibria.

### Nullelines and analysis

The directional vector field for the dynamical system (1–2) is:

$$\vec{V} = V_x \vec{i} + V_y \vec{j}, \quad (7)$$

where:

$$\begin{aligned} V_x &= \frac{r_1 c_{12} x}{K_1} \left( \frac{K_1 - x}{c_{12}} - \frac{y}{c_{12}} - \frac{\beta_1 K_1}{r_1 c_{12}} \right) \\ V_y &= \frac{r_2 c_{21} x}{K_2} \left( \frac{K_2 - y}{c_{21}} - \frac{x}{c_{21}} + \frac{\alpha K_2}{r_2 c_{21}} H(y - \eta) - \frac{\beta_2 K_2}{r_2 c_{21}} \right) \end{aligned} \quad (8)$$

In the regime  $y < \eta$  the equations (8) become:

$$\begin{aligned} V_x &= \frac{r_1 c_{12} x}{K_1} \left( \frac{K_1 - x}{c_{12}} - \frac{y}{c_{12}} - \frac{\beta_1 K_1}{r_1 c_{12}} \right) \\ V_y &= \frac{r_2 c_{21} x}{K_2} \left( \frac{K_2 - y}{c_{21}} - \frac{x}{c_{21}} - \frac{\beta_2 K_2}{r_2 c_{21}} \right) \end{aligned} \quad (9)$$

From (9) we get the  $x$ -nullcline and the  $y$ -nullcline, respectively:

$$\begin{aligned} y &= -\frac{1}{c_{12}} x + \frac{K_1}{r_1 c_{12}} (r_1 - \beta_1) \\ x &= -\frac{1}{c_{21}} y + \frac{K_2}{r_2 c_{21}} (r_2 - \beta_2) \end{aligned} \quad (10)$$

Based on the nullclines (10), the interior equilibrium point (4) is stable if the  $x$ -intercept of the  $x$ -nullcline is less than the  $x$ -intercept of the  $y$ -nullcline, i. e.,

$$\frac{K_1(r_1 - \beta_1)}{r_1} < \frac{K_2(r_2 - \beta_2)}{r_2 c_{21}}. \quad (11)$$

Because (4) is an interior equilibrium point, the condition (11) implies that the following condition will be satisfied as well:

$$\frac{K_2(r_2 - \beta_2)}{r_2} < \frac{K_1(r_1 - \beta_1)}{r_1 c_{12}}. \quad (12)$$

The condition (12) tells us that  $y$ -intercept of the  $y$ -nullcline is less than the  $y$ -intercept of the  $x$ -nullcline.

Figure 1 shows the nullclines (10) of the dynamical system (1–2). In both Figures 1a & 1b, the nullclines intersect in the interior of the first quadrant, and the interior equilibrium points are stable either in case of no boosting ( $\alpha = 0$ ) or when the boosting term is sufficiently small ( $\alpha = 0.08$ ). In Figure 1a there is no algae boosting effect:  $\alpha = 0$ , and in Figure 1b the algae boosting effect has been added by assigning  $\alpha = 0.08$ . We notice that, as a result of increasing  $\alpha$ , the interior equilibrium points shifts in the upper left direction of the nullclines-plane. Further increase in the value of  $\alpha$  results in the motion of the nullclines intersection beyond the first quadrant, which means the disappearance of the interior equilibrium. We illustrated this situation in Figure 1c, which corresponds to  $\alpha = 0.2$ . Thus, a sufficiently high value of the boosting term results in the extinction of coral.

The numerical values for the parameters  $r_1, r_2, K_1, K_2, c_{12}$  and  $c_{21}$  are taken from the tables provided in [21]. In this article, for our numerical simulations we used our own program written in the MAPLE programming software. In all the figures, we will use the same values for the aforementioned parameters. The parameters  $\alpha, \beta_1$ , and  $\beta_2$  will play the decisive role in the preservation or extinction of coral.

Figure 2 shows the directional field plot (Fig. 2a) and the phase trajectories for 500 solutions, with randomly selected initial conditions, of the dynamical system (1–2) in presence of grazing. Based on observations, we assumed grazing on coral ( $\beta_2 = 10\beta_1$ ). As we can see from Figure 2, such a system has a stable interior equilibrium; thus, grazing in the above proportion does help coral to survive and sustain a well-balanced reef ecosystem.

Figure 3 shows the time plots of the behavior of the dynamical system (1–2) for the same set of parameters. In Figure 3a, we assume no grazing, whereas, in Figure 3b, we assume grazing occurs, and there is much more grazing on algae than on corals. In either case, the system has an interior equilibrium, and in the grazing case, the biomass of corals stabilizes at a higher level. Thus, we can conclude that grazing in the proportion suggested does help corals to survive.

Figure 4 shows the time plot in the presence of the boosting term, i. e., for  $\alpha > 0$ . We notice that, even when  $\alpha$  is very small, the boosting effect,  $\alpha$ , affects the coral quite dramatically; when  $\alpha$  exceeds some (bifurcation) value between  $\alpha=0.04$  and  $\alpha = 0.08$ , the coral dies out. In case of  $\alpha = 0.04$  (Fig. 4b), the system still possesses an interior equilibrium, whereas for  $\alpha=0.08$  (Fig. 4c),

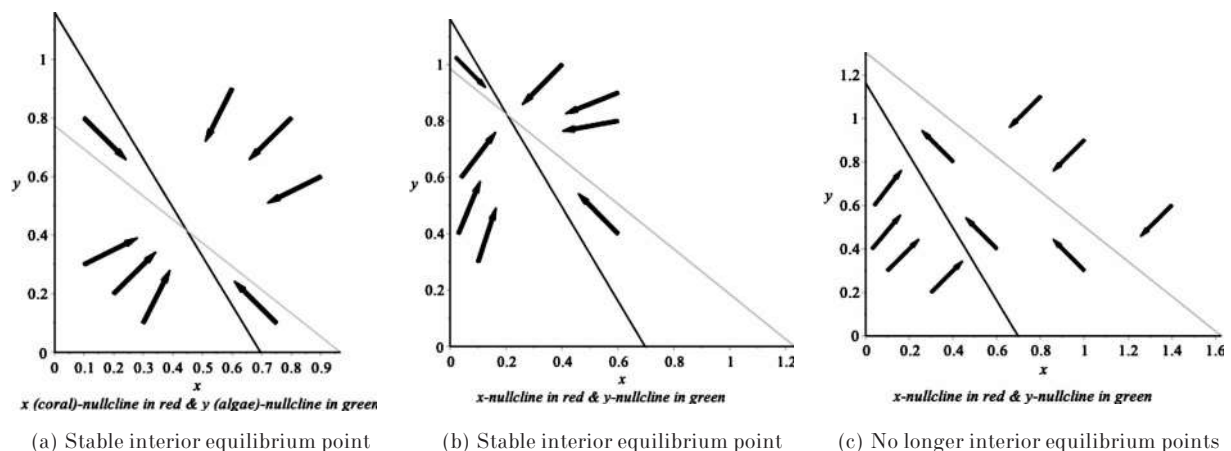


Fig. 1. Null clines showing stable interior equilibrium points (a) & (b), and no interior equilibrium point (c), for the dynamical system (1–2), for  $r_1 = 0.2, r_2 = 0.3029279759, K_1 = 0.7, K_2 = 0.8, c_{12} = 0.6, c_{21} = 0.8, \beta_1 = 0.001, \beta_2 = 0.01$

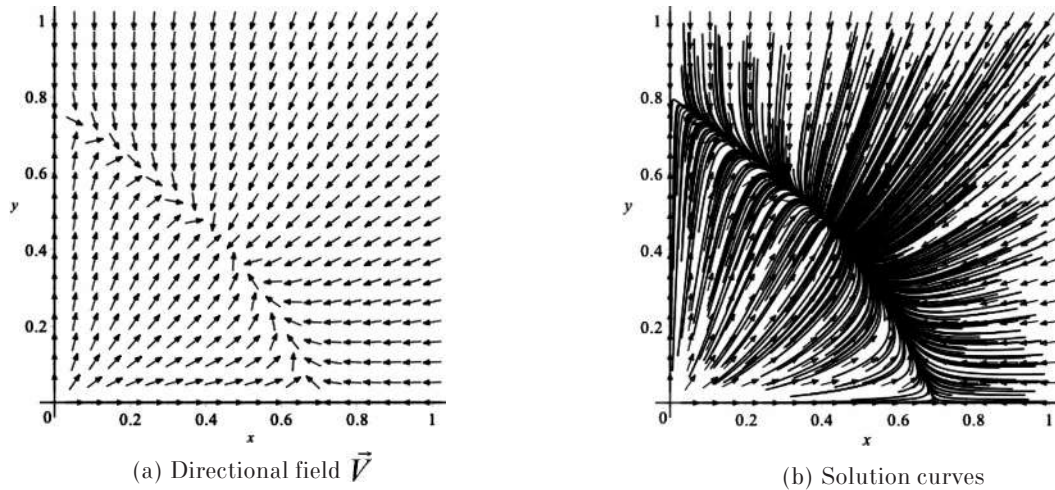


Fig. 2. Directional field plot (a), and 500 solution curves of the dynamical system (1–2) for random initial values for  $x$  and  $y$  (b), for  $r_1 = 0.2$ ,  $r_2 = 0.302928$ ,  $K_1 = 0.7$ ,  $K_2 = 0.8$ ,  $c_{12} = 0.6$ ,  $c_{21} = 0.8$ ,  $\alpha = 0$ ,  $\beta_1 = 0.001$ ,  $\beta_2 = 0.01$

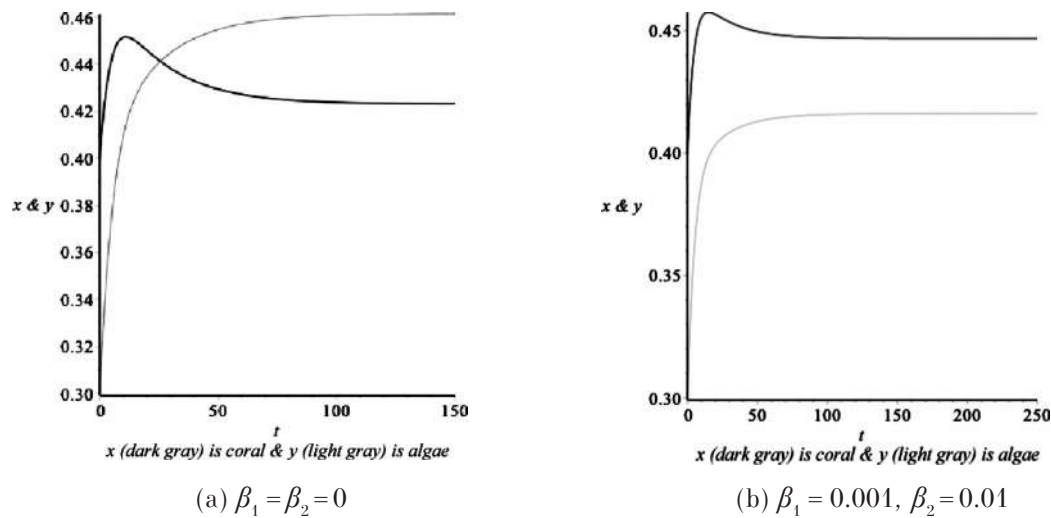


Fig. 3. Coral-algae interaction for initial values  $x(0) = 0.4$  and  $y(0) = 0.3$ , for  $r_1 = 0.2$ ,  $r_2 = 0.302928$ ,  $K_1 = 0.7$ ,  $K_2 = 0.8$ ,  $c_{12} = 0.6$ ,  $c_{21} = 0.8$ ,  $\alpha = 0$

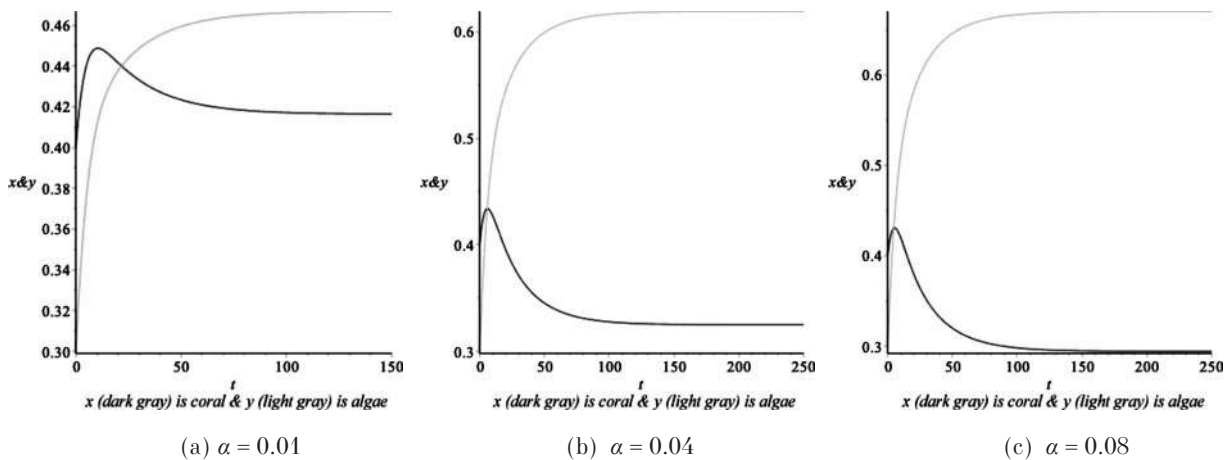


Fig. 4. Coral-algae interaction for initial values  $x(0) = 0.4$  and  $y(0) = 0.3$ , for  $r_1 = 0.2$ ,  $r_2 = 0.302928$ ,  $K_1 = 0.7$ ,  $K_2 = 0.8$ ,  $c_{12} = 0.6$ ,  $c_{21} = 0.8$ ,  $\eta = 0.15$ ,  $\beta_1 = 0.001$ ,  $\beta_2 = 0.01$

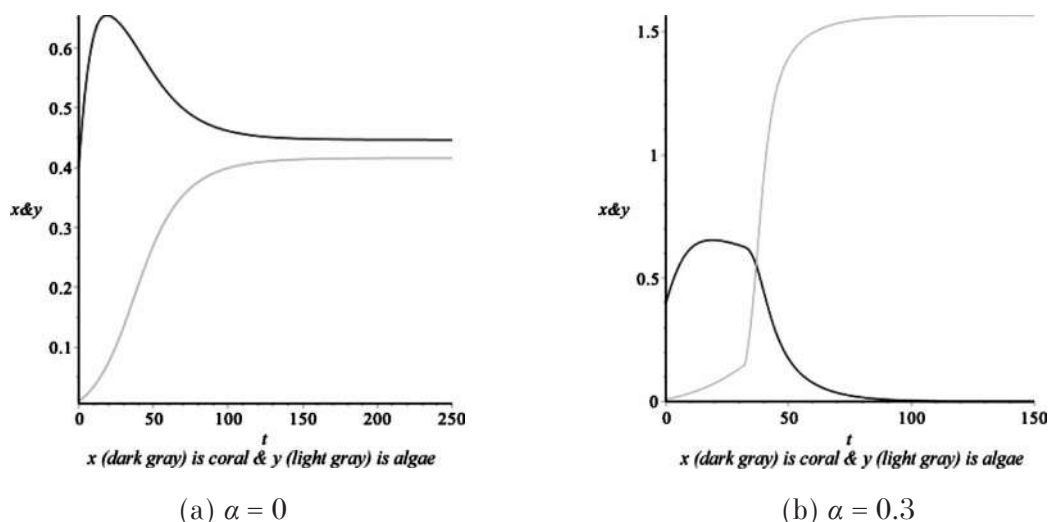


Fig. 5. Coral-algae interaction for initial values  $x(0) = 0.4$  and  $y(0) = 0.01$ , for  $r_1 = 0.2$ ,  $r_2 = 0.302928$ ,  $K_1 = 0.7$ ,  $K_2 = 0.8$ ,  $c_{12} = 0.6$ ,  $c_{21} = 0.8$ ,  $\eta = 0.15$ ,  $\beta_1 = 0.001$ ,  $\beta_2 = 0.01$

even if the is still an interior equilibrium point, 1b, the coral is diminished to nearly its extinction.

If  $\alpha = 0.2$ , Figure 1c, there is no longer an interior equilibrium point and the coral is extinct.

Figure 5 is another illustration of the boosting effect: when  $\alpha = 0$  (Fig. 5a) both coral and algae survive, whereas for  $\alpha = 0.3$  (Fig. 5b), even in the presence of grazing, coral gets extinct.

### Conclusion

We have considered, both analytically and numerically, the dynamics of the coral-algae competition. We have based our analysis on the dynamical system (1–2), which takes into account specific features of the coral reef ecosystem. These features are:

The “boosting effect” of the algal accelerated growth associated with the shift from the turf algae into the macroalgae state.

The effect of grazing of the algae and the corals by the herbivorous fish and other forms of marine life associated with coral reefs.

The results obtained have shown that the ecosystem may end up in a stable equilibrium, where both corals and algae survive at some levels, thus supporting the existence of the reef, or it may come to the situation where the coral gets extinct. This result eventually leads to the extinction of the coral reef.

We showed that the boosting effect of algae if it is sufficiently intense, it may result in the extinction of the corals. At the same time, the inclusion of the grazing effect, with the realistic

assumption that algae are subjected to grazing more intensely than corals, may help corals to survive in this competition. The results of the study may have some practical applications: an endangered coral reef can be saved by encouraging the presence in its neighborhood large numbers of such herbivory as parrotfish, which feeds on algae and dead corals, thus helping corals to compete and cleaning the reef, which results in the healthy reef ecosystem.

### References

1. Abelson A. Are we sacrificing the future of coral reefs on the altar of the “climate change” narrative? // ICES Journal of Marine Science. 2019. V. 77 (1). P. 40–45. doi: 10.1093/icesjms/fsz226
2. Chollett I., Mumby P.J. Reefs of last resort: Locating and assessing thermal refugia in the wider Caribbean // Biological Conservation. 2013. V. 167. P. 179–186. doi: 10.1016/j.biocon.2013.08.010
3. Knowlton N. The future of coral reefs // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001 V. 98 (10). P. 5419–5425. doi: 10.1073/pnas.091092998
4. Richmond R.H., Tisthammer K.H., Spies N.P. The effects of anthropogenic stressors on reproduction and recruitment of corals and reef organisms // Front. Mar. Sci. 2018. V. 5. P. 226. doi: 10.3389/fmars.2018.00226
5. Roff G., Mumby P. J. Global disparity in the resilience of coral reefs // Trends in Ecology and Evolution. 2012. V. 27 (7). P. 404–413. doi: 10.1016/j.tree.2012.04.007
6. Torda G., Donelson J.M., Aranda M., Barshis D.J., Bay L., Berumen M.L., Bourne D.G., Cantin N., Foret S., Matz M. Rapid adaptive responses to climate change in

- corals // *Nat. Clim. Chang.* 2017. V. 7. P. 627–636. doi: 10.1038/nclimate3374
7. Bouchet P. The magnitude of marine biodiversity // *The exploration of marine biodiversity* / Ed. C.M. Duarte. Fundación BBVA: Bilbao, 2006. P. 31–64.
8. Cote I.M., Knowlton N. Coral reef ecosystems: a decade of discovery // *Marine community ecology and conservation* / Eds. M.D. Bertness, J.F. Bruno, B.R. Silliman, J.J. Stachowicz. MA: Sinauer Associates Inc., 2014. P. 299–314.
9. Fisher R., O’Leary R.A., Low-Choy S., Mengersen K., Knowlton N., Brainard R.E., Caley J.M. Species richness on coral reefs and the pursuit of convergent global estimates // *Current Biology*. 2015. V. 25. P. 500–505. doi: 10.1016/j.cub.2014.12.022
10. Knowlton N., Brainard R.E., Fisher R., Moews M., Plaisance L., Caley M.J. Coral reef biodiversity // *Life in the World’s Oceans* / Ed. A. D. McIntyre. Blackwell Publishing Ltd, 2010. P. 65–77.
11. Pandolfi J.M., Bradbury R.H., Sala E., Hughes T.P., Bjorndal K.A., Cooke R.G., McArdle D., McClenachan L., Newman M.J.H., Paredes G., Warner R.R., Jackson J.B.C. Global trajectories of the long-term decline of coral reef ecosystems // *Science*. 2003. V. 301. P. 955–958. doi: 10.1126/science.1085706
12. Brown C.J., Saunders M.I., Possingham H.P., Richardson A.J. Managing for interactions between local and global stressors of ecosystems // *PLoS ONE*. 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0065765
13. Beddington J.R., Agnew D.J., Clark C.W. Current problems in the management of marine fisheries // *Science*. 2007. V. 316 (5832). P. 1713–1716. doi: 10.1126/science.1137362
14. Hutchings L.A. Collapse and recovery of marine fisheries // *Nature*. 2000. V. 406 (6798). P. 882–885. doi: 10.1038/35022565
15. Pauly D., Christensen V., Walters C. Ecosim, Ecosim, and Ecospace as tools for evaluating ecosystem impact of fisheries // *ICES Journal of Marine Science*. 2000. V. 57. P. 697–706. doi: 10.1006/jmsc.2000.0726
16. Stroebel W.J., Wacker H. The economic so harvesting Predator-Prey systems // *Journal of Economics*. 1995. V. 61 (1). P. 65–81.
17. Renfro B., Chadwick N.E. Benthic community structure on coral reefs exposed to intensive recreational snorkeling // *PLoS ONE*. 2017. V. 12 (9). e0184175. doi: 10.1371/journal.pone.0184175
18. McCook L., Jompa J., Diaz-Pulido G. Competition between corals and algae on coral reefs: a review of evidence and mechanisms // *Coral Reefs*. 2001. V. 19. P. 400–417. doi: 10.1007/s003380000129
19. Connell S.D., Foster M.S., Airoidi L. What are algal turfs? Towards a better description of turfs // *Marine Ecology Progress Series*. 2014. V. 495. P. 299–307. doi: 10.3354/meps10513
20. Swierts T., Vermeij M.J. Competitive interactions between corals and turf algae depend on coral colony form // *PeerJ*. 2016. V. 4. e1984. doi: 10.7717/peerj.1984
21. Kramer D.B. Adaptive harvesting in a multiple-species coral-reef food web // *Ecology and Society*. 2008. V. 13 (1). P. 17.
22. Solomonovich M., Bica I., Gao L., Hailu A. Analysis of Kramer’s coral-reef food web model // *Theoretical and Applied Ecology*. 2018. V. 2. P. 16–25. doi: 10.25750/1995-4301-2018-2-016-025
23. Done T.J. Phase shifts in coral reef communities and their ecological significance // *Hydrobiologia*. 1992. V. 247. P. 121–132. doi: 10.1007/BF00008211
24. Szekeres P.A. *Course in Modern Mathematical Physics*. Cambridge: Cambridge University Press, 2004. 600 p.
25. Allen L.J.S. *An introduction to mathematical biology*. New Jersey: Prentice Hall, 2007. 348 p.
26. Lotka A.J. *Elements of mathematical biology*. New York: Dover Publications, Inc, 1956. 465 p.
27. Cramer K.L., O’Dea A., Clark T.R., Jian-xin Z., Norris R.D. Prehistorical and historical declines in Caribbean coral reef accretion rates driven by loss of parrotfish // *Nature Communications*. 2017. V. 8. 14160. doi:10.1038/ncomms14160
28. Done T.J. Effects of two *Acanthaster* outbreaks on coral community structure—the meaning of devastation // *Proc. 5th Int. Coral Reef Symp.* 1985. V. 5. P. 315–320.
29. Brandl S.J., Hoey A.S., Bellwood D.R. Microtopography mediates interactions between corals, algae, and herbivorous fishes on coral reefs // *Coral Reefs*. 2014. V. 33. P. 424–430. doi: 10.1007/s00338-013-1110-5

## Дистанционный мониторинг зарастания высшей водной растительностью акватории эвтрофированного водохранилища

© 2020. Т. И. Кутявина<sup>1</sup>, к. б. н., с. н. с.,  
В. В. Рутман<sup>1</sup>, инженер,

Т. Я. Ашихмина<sup>1,2</sup>, д. т. н., профессор, г. н. с., зав. лабораторией,

<sup>1</sup>Вятский государственный университет,

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

<sup>2</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,

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

e-mail: kutyavinati@gmail.com

В работе представлены сведения о распространении зарослей прибрежно-водных и высших водных растений по акватории Омутнинского водохранилища, подверженного процессам эвтрофирования. При маршрутном обследовании водоёма на разных участках выделено 33 доминирующих вида водных и прибрежно-водных растений. Крупные заросли высших растений зафиксированы на мелководных участках в верховье и на центральном участке водохранилища вдоль береговой линии. Проведено дешифрирование космоснимков со спутников Landsat-5 и Sentinel-2, рассчитан нормализованный вегетационный индекс (NDVI). По результатам расчёта NDVI вычислены площади зарастания акватории Омутнинского водохранилища надводной растительностью. Отмечено уменьшение площадей зарастания высшими водными растениями верховья водоёма в период с 2011 по 2019 гг., что вероятно, связано с влиянием температурного фактора.

**Ключевые слова:** внутренние воды, эвтрофирование, высшие водные растения, нормализованный вегетационный индекс, дистанционное зондирование Земли.

## Remote monitoring of overgrowth of the eutrophied reservoir water area by higher aquatic vegetation

© 2020. T. I. Kutyavina<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-7957-0636<sup>†</sup>

V. V. Rutman<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-9025-3487<sup>†</sup>

T. Ya. Ashikhmina<sup>1,2</sup> ORCID: 0000-0003-4919-0047<sup>†</sup>

<sup>1</sup>Vyatka State University,

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

<sup>2</sup>Institute of Biology of Komi Scientific Centre

of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,

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

e-mail: kutyavinati@gmail.com

The paper presents information on the distribution of thickets of coastal aquatic and higher aquatic plants in the water area of the Omutninsky reservoir, subject to eutrophication processes. During the route survey of the reservoir, 33 dominant species of aquatic and coastal aquatic plants were identified. Large thickets of *Equisetum fluviatile* L., *Scirpus lacustris* L., *Persicaria amphibia* (L.) S.F. Gray, *Potamogeton lucens* L., *P. perfoliatus* L. were recorded in shallow areas in the upper reaches and in the central part of the reservoir along the coastline. Interpretation of satellite images from Landsat-5 and Sentinel-2 satellites was carried out, the normalized vegetation index (NDVI) was calculated for the investigated water area. According to the results of the NDVI calculation, the areas of overgrowth of the water area of the Omutninsky reservoir with emergent vegetation were calculated. The data were processed using the QGIS Desktop 3.14.1 with GRASS 7.8.3 program. A tendency was revealed for a decrease in the areas of overgrowth with higher aquatic vegetation in the water area of the Omutninsky reservoir for the period 2011 to 2019, which is most likely associated with the influence of the temperature factor.

**Keywords:** inland waters, eutrophication, higher aquatic plants, normalized vegetation index, remote sensing of the Earth.

Высшая водная растительность (ВВР) имеет большое значение в регуляции биологических процессов в экосистеме и в самоочищении водоёма [1]. Сообщества макрофитов в значительной степени препятствуют «цветению» воды [2], служат местом нереста и нагула многих фитофильных рыб. Высшие водные растения имеют большое значение в процессах накопления и миграции химических элементов в водных экосистемах [3, 4]. Степень зарастания водоёма может свидетельствовать о трофическом статусе водного объекта, а динамика изменения проективного покрытия – о скорости сукцессии водоёма [5]. Оценку зарастания ВВР водоёмов традиционно проводят с помощью полевых методов исследования [6–8], однако в последние годы увеличилось число работ по изучению особенностей зарастания водоёмов ВВР с помощью дистанционных методов [9–13].

Цель работы – выявить тенденции процесса зарастания высшей водной растительностью акватории Омутнинского водохранилища за период 2011–2019 гг. методами пространственного анализа космических снимков и на основании данных полевых наблюдений.

### Объекты и методы исследования

Исследования проводились на акватории Омутнинского водохранилища Кировской области. По положению в географической зоне данное водохранилище является лесным, по приуроченности к макрорельефу – равнинным, по площади водного зеркала (9,5 км<sup>2</sup>) – небольшим, по объёму (32,5 млн м<sup>3</sup>) – малым. Согласно классификации качества вод по содержанию растворённого кислорода, биохимического потребления кислорода, перманганатной окисляемости, содержанию фосфатов, неорганических форм азота (ГОСТ 17.1.2.04-77), Омутнинское водохранилище является β-мезосапробным, что по трофической шкале классификации водоёмов соответствует эвтрофному классу [14].

Экспедиционные исследования проводились на акватории Омутнинского водохранилища в летний сезон в 2011, 2014, 2018 и 2019 гг. Во время маршрутного обследования осуществлялось визуальное наблюдение акватории и береговой линии водоёма с фиксированием зарослей высших водных и прибрежно-водных растений. По результатам маршрутного наблюдения в программном продукте MapInfo Professional (версия 8.5) составляли карты-схемы распределения за-

рослей высших водных и прибрежно-водных растений по акватории водоёма.

Участки с зарослями высших растений на водной поверхности также определяли по данным дистанционного зондирования Земли (ДЗЗ). В качестве источника для дешифрирования данных ДЗЗ были задействованы снимки 2011, 2018 и 2019 гг. со спутников Landsat-5 (с разрешением 30 м) и Sentinel-2A (использовали каналы с разрешением 10 м), находящиеся в открытом доступе. Для дешифрирования выбирали малооблачные снимки, сделанные в период с мая по сентябрь, когда большинство водных растений находятся в стадии вегетации. В ходе работы проводили расчёт нормализованного вегетационного индекса (NDVI) [15]. Основным объектом при классификации снимков ДЗЗ были воздушно-водные растения, у которых часть побегов находится в воде, а часть располагается над водной поверхностью. Полностью погруженные в воду растения в процессе дешифрирования не выделялись. Площадь зарастания акватории ВВР определяли визуально на основе результатов вычисления NDVI. Этот индекс был рассчитан на основе каналов В4 и В8 спутника Sentinel-2 по формуле:

$$NDVI = \frac{NIR - RED}{NIR + RED}$$

На акватории были выделены участки, на которых значение индекса превышает значение водной поверхности и аналогично показателю растительности на суше. На основе полученных областей был создан векторный слой, состоящий из полигональных объектов. Площади полигонов были рассчитаны автоматически встроенной в геоинформационную систему QGIS функцией расчёта площади, потом просуммированы. Для обработки данных использовали программу QGIS Desktop 3.14.1 with GRASS 7.8.3.

### Результаты и обсуждение

По результатам экспедиционных исследований, проведённых сотрудниками научно-исследовательской лаборатории биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и Вятского государственного гуманитарного университета в июне–августе 2011 г., на разных участках акватории Омутнинского водохранилища было выделено 33 доминирующих вида водных и прибрежно-водных растений. Группы высших растений приведены в соответствии с классификацией А.Г. Лапирова [16].

Таблица / Table

Площадь зарастания прибрежно-водными и высшими водными растениями верховья Омутнинского водохранилища по снимкам со спутников Landsat-5\* и Sentinel-2A  
The area of coastal aquatic and higher aquatic plants in the upper reaches of the Omutninsky reservoir according to images from the Landsat-5\* and Sentinel-2A satellites

Год исследования Research year	2011	2018	2019
Площадь зарастания надводной растительностью, км <sup>2</sup> Surface overgrown with emergent vegetation, km <sup>2</sup>	0,320*	0,151	0,087
Доля от всей акватории, % Share of the total water area, %	3,37*	1,59	0,92

Из истинно-водных растений (гидрофитов) были отмечены погружённые плавающие в толще воды: *Ceratophyllum demersum* L., *Utricularia vulgaris* L.; погружённые укореняющиеся или прикрепляющиеся: *Elodea canadensis* Michx., *Myriophyllum verticillatum* L., *Potamogeton gramineus* L., *P. perfoliatus* L., *P. lucens* L., *P. compressus* L., *P. obtusifolius* Mert. et Koch, *P. pectinatus* L., *Sparganium* (водная форма); укореняющиеся с плавающими на воде листьями: *Nuphar lutea* (L.) Smith, *Nymphaea candida* J. Presl., *Persicaria amphibia* (L.) S.F. Gray, *Potamogeton natans* L.; и плавающие на поверхности воды: *Hydrocharis morsus-ranae* L., *Lemna trisulca* L., *L. minor* L., *Spirodela polyrhiza* (L.) Schleid.

Из прибрежно-водных растений (гелофитов) отмечены *Typha latifolia* L., *Sparganium emersum* Rehm. (*S. simplex* Huds.), *S. erectum* L. (*S. ramosum* Huds.), *Alisma plantago-aquatica* L., *Sagittaria sagittifolia* L., *Butomus umbellatus* L. Среди растений-гидрофитов (переувлажнённых местообитаний), частично вызывающих зарастание, обнаружены: *Juncus compressus* Jacq., *J. filiformis* L., *Equisetum fluviatile* L., *Carex rhynchophysa* C.A. Mey., *C. rostrata* Stores., *C. disperma* Dew., *C. elongata* L., *C. acuta* L.

Распространение водных растений в Омутнинском водохранилище наблюдается с глубины от 0 до 5–6 м., что является типичным для русловых водохранилищ. Видовой состав ВВР в изучаемом водоёме в 2011 г. соответствовал видовому составу, типичному для мезотрофных и слабоэвтрофных водоёмов. Визуальное изучение акватории водоёма показало, что наибольшее видовое разнообразие ВВР было характерно для мест впадения рек Песчанка и Омутная (рис. 1, 2, см. цв. вкладку). Эти участки отличаются небольшими глубинами (до 1–3 м). Водное зеркало на них чистое, прозрачное, свободное от взвешенных в толще воды водорослей.

Наибольшие по площади заросли отмечены для следующих видов: *Equisetum fluviatile* L.

(рис. 3, см. цв. вкладку), *Scirpus lacustris* L., *Persicaria amphibia* (L.) S.F. Gray (рис. 4, см. цв. вкладку), *Potamogeton lucens* L., *P. perfoliatus* L. Особи практически всех встреченных видов водных и прибрежно-водных растений находились в хорошем жизненном состоянии.

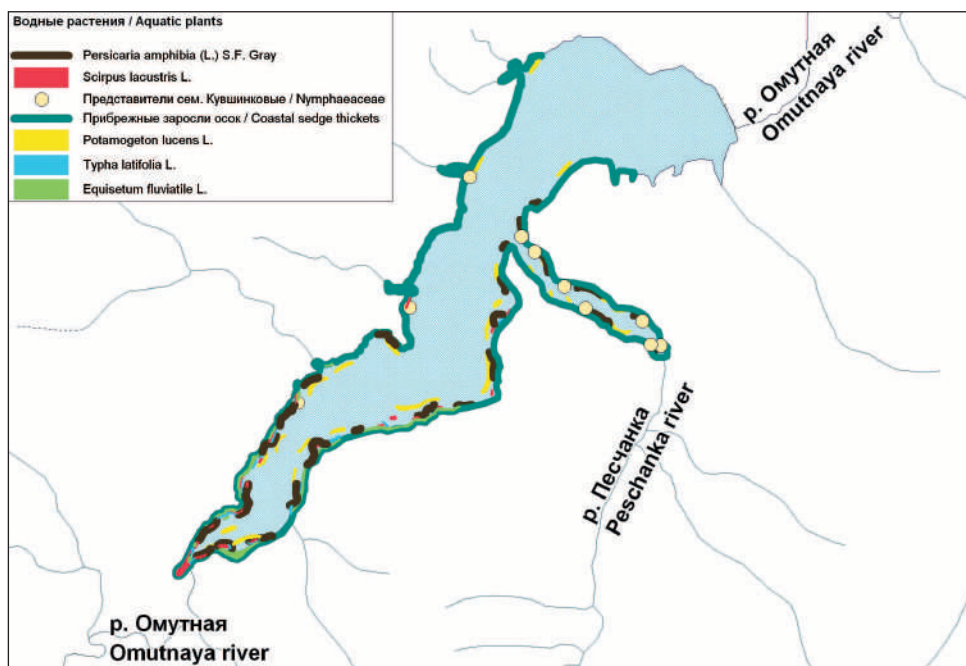
Массовое развитие *Lemna trisulca* L., *L. minor* L., *Spirodela polyrhiza* (L.) Schleid. отмечено на акватории вблизи профилактория, расположенного на берегу в центральной части водохранилища. Известно, что локальное интенсивное развитие рясковых указывает на места поступления биогенных веществ в водоёмы [17]. До 2012 г. на указанном участке осуществлялся выпуск сточных вод профилактория в Омутнинское водохранилище, в 2011 г. в воде было зафиксировано высокое содержание аммонийного азота (в 2 раза выше, чем на остальной акватории) [18].

Согласно расчётам NDVI, площадь зарастания акватории надводной растительностью в верховье водоёма в 2011 г. составляла 0,320 км<sup>2</sup> (табл.). В зафиксированных на космоснимках зарослях преобладали растения *Scirpus lacustris* L., *Persicaria amphibia* (L.) S.F. Gray и *Equisetum fluviatile* L. (рис. 3, 4). Во время маршрутного обследования водохранилища в его верховье также зафиксированы большие по площади заросли погружённых растений (в основном *Potamogeton perfoliatus* L.).

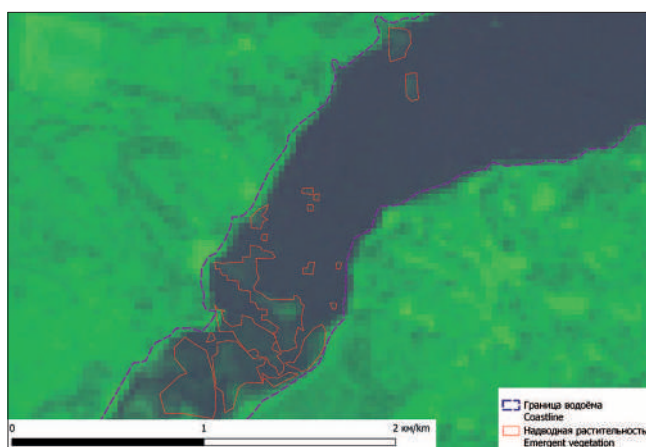
В ходе экспедиционных исследований в 2014 г. нами отмечено сокращение количества доминирующих видов в Омутнинском водохранилище с 33 до 27. В 2014 г. после прекращения выпуска сточных вод от профилактория в водоём, на центральном участке водохранилища практически отсутствовали *Elodea canadensis* Michx., *Nuphar lutea* (L.) Smith, *Lemna trisulca* L., *L. minor* L., *Spirodela polyrhiza* (L.) Schleid. Уменьшились размеры зарослей ВВР в средней части водохранилища, в районе впадения р. Песчанки, а заросли в верховье пруда, на-



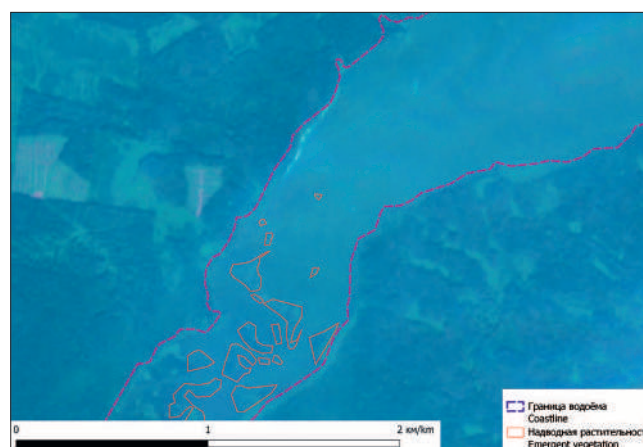
**Т. И. Кутявина, В. В. Рутман, Т. Я. Ашихмина**  
**«Дистанционный мониторинг зарастания**  
**высшей водной растительностью**  
**акватории эвтрофированного водохранилища». С. 36.**



**Рис. 1.** Карта-схема распределения зарослей высших водных растений по акватории Омутнинского водохранилища в 2011 г.  
**Fig. 1.** Schematic map of the distribution of thickets of higher aquatic plants in the water area of the Omutninsky reservoir in 2011



2011



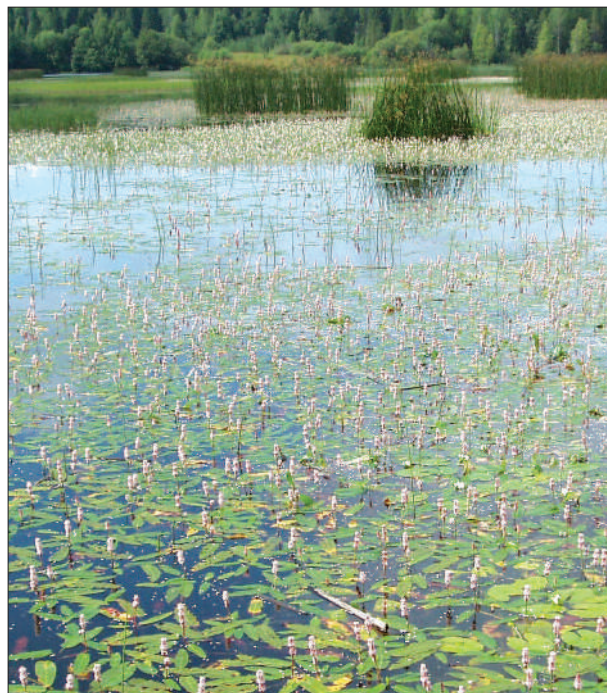
2018

**Рис. 2.** Заросли высших водных растений в верхье Омутнинского водохранилища в 2011 и 2018 гг.  
**Fig. 2.** Thickets of higher aquatic plants in the upper reaches of the Omutninsky reservoir in 2011 and 2018

**Т. И. Кутявина, В. В. Рутман, Т. Я. Ашихмина**  
**«Дистанционный мониторинг зарастания**  
**высшей водной растительностью**  
**акватории эвтрофированного водохранилища». С. 36.**



**Рис. 3.** Прибрежные заросли хвоща речного в Омутнинском водохранилище (2011 г.)  
**Fig. 3.** Coastal thickets of *Equisetum fluviatile* L. in the Omutninsky reservoir (2011)



**Рис. 4.** Горцево-камышовая ассоциация в Омутнинском водохранилище (2011 г.)  
**Fig. 4.** Association of *Persicaria amphibia* (L.) S.F. Gray and *Scirpus lacustris* L. in the Omutninsky reservoir (2011)



**Рис. 5.** Ассоциация *Persicaria amphibia* (L.) S.F. Gray в Омутнинском водохранилище, 2019 г.  
**Fig. 5.** Association of *Persicaria amphibia* (L.) S.F. Gray in the Omutninsky reservoir (2019)

оборот, стали обширнее. По всей акватории реже стали встречаться представители семейства Кувшинковые (Нимфейные). В связи с отсутствием пригодных для дешифрирования снимков в июле 2014 г., расчёт NDVI в этот год исследования не проводили. По визуальным наблюдениям, общая площадь зарастания акватории водохранилища по сравнению с 2011 г. изменилась незначительно.

Следующее маршрутное обследование Омутнинского водохранилища было выполнено в 2018 г. По сравнению с 2014 г., отмечено уменьшение площадей зарослей *Equisetum fluviatile* L. вблизи берегов в центральной части и в верховье водоёма. Согласно расчёту NDVI, площадь зарастания ВВР в верховье Омутнинского водохранилища в 2018 г. снизилась почти в 2 раза, по сравнению с 2011 г. (табл.).

В 2019 г. при маршрутном обследовании водоёма выявлена чёткая тенденция уменьшения площадей зарастания ВВР, в частности, значительно уменьшились размеры ассоциаций *Persicaria amphibia* (L.) S.F. Gray в центральной части (рис. 5) и в верховье водохранилища. В 2018–2019 гг. проводились мероприятия по углублению и очистке дна мелководий на центральном и приплотинном участках Омутнинского водохранилища, что могло оказать влияние на развитие ВВР.

Результаты расчёта NDVI подтверждают полевые наблюдения (табл.). По сравнению с предыдущими годами исследования растения выглядели более угнетённо. Известно, что на развитие ВВР оказывает влияние температурный режим среды [19]. Для сравнения, в 2011 г. средняя температура воздуха за летний сезон в г. Омутнинске составляла 17,1 °С, в 2018 г. – 16,7 °С, а в 2019 г. – 15,7 °С. Коэффициент корреляции между размером площадей зарастания в Омутнинском водохранилище и средней температурой воздуха за летний сезон составил 0,88.

### Заключение

Высшие водные и прибрежно-водные растения в Омутнинском водохранилище распространяются на мелководных участках преимущественно вдоль береговой линии. Крупные заросли высших растений отмечены преимущественно в верховье водоёма, где для них складываются наиболее благоприятные условия. Доминирующее положение среди водных растений занимают *Equisetum fluviatile* L.,

*Scirpus lacustris* L., *Persicaria amphibia* (L.) S.F. Gray, *Potamogeton lucens* L., *P. perfoliatus* L. По видовому составу высших растений Омутнинское водохранилище является слабозтрофным водоёмом. За период наблюдений с 2011 по 2019 гг. методами дистанционного мониторинга в сочетании с полевыми исследованиями выявлена тенденция уменьшения площадей зарастания водоёма, а также отмечено уменьшение видового состава ВВР. В частности, практически перестали встречаться *Elodea canadensis* Michx., *Nuphar lutea* (L.) Smith, *Lemna trisulca* L., *L. minor* L., *Spirodela polyrhiza* (L.) Schleid, что косвенно может свидетельствовать об улучшении экологического состояния Омутнинского водохранилища, уменьшении поступления биогенных элементов с водосбора в водоём после мероприятий по очистке водохранилища. Площади зарастания верховья водохранилища ВВР за период с 2011 по 2019 гг. сократились с 0,320 до 0,087 км<sup>2</sup>.

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

### References

1. Kazmiruk V.D., Kazmiruk T.N. Phytotechnology: current trends of wastewater treatment and water quality protection // Theoretical and Applied Ecology. 2016. No. 3. P. 76–81 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2016-3-076-081
2. Usenko O.M., Sakevich A.I. Allelopathic influence of higher aquatic plants on the functional activity of plankton algae // Hydrobiological Journal. 2005. V. 41. No. 3. P. 54–66. doi: 10.1615/HydrobJ.v41.i3.60
3. Chukina N.V., Borisova G.G. Structural and functional parameters of higher aquatic plants from habitats differing in levels of anthropogenic impact // Inland Water Biol. 2010. No. 3. P. 44–50. doi: 10.1134/S1995082910010062
4. Ivanova E.A., Anischenko O.V., Gribovskaya I.V., Zinenko G.K., Nazarenko N.S., Nemchinov V.G., Zuev I.V., Avramov A.P. Metal content in higher aquatic plants in a small siberian water reservoir // Contemp. Probl. Ecol. 2012. No. 5. P. 356–364. doi: 10.1134/S1995425512040063
5. Filonenko I.V., Komarova A.S. Long-term dynamics of the area overgrown with coastal aquatic vegetation of Lake Vozhe // Printsipy ekologii. 2015. No. 4. P. 63–72 (in Russian). doi: 10.15393/j1.art.2015.4622
6. Belavskaya A.P. Higher aquatic vegetation // Methodology for studying biogeocenoses of inland water bodies. Moskva: Nauka, 1975. P. 17–132 (in Russian).

7. Alekseeva E.V., Bazarova B.B. Dynamics of overgrowth of Lake Balzino (Eastern Transbaikalia) // *Vestnik Buryatskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2008. No. 4. P. 97–99 (in Russian).
8. Lawniczak-Malińska A., Ptak M., Celewicz S., Choński A. Impact of lake morphology and shallowing on the rate of overgrowth in hard-water eutrophic lakes // *Water*. 2018. No. 10. Article No. 1827. doi: 10.3390/w10121827
9. Zalata A.E., Silkin K.Yu. Remote monitoring of the transformation of the Voronezh reservoir under the influence of a complex of natural and anthropogenic factors // *Materialy Nauchnoy sessii Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Sektsiya ekologicheskoy geologii*. 2015. V. 6. P. 17–22 (in Russian). doi: 10.13140/RG.2.2.16635.11049
10. Rizhinashvili A. Small and shallow previously unstudied lakes: land-use, overgrowth and eutrophication // *Management of Environmental Quality*. 2017. V. 28. No. 1. P. 120–136. doi: 10.1108/MEQ-09-2015-0170
11. Kochetkova A.I., Bryzgalina E.S., Kalyuzhnaya I.Yu., Sirotina S.L., Samoteeva V.V., Rakshenko E.P. Overgrowth dynamics of the Tsimlyansk reservoir // *Printsipy ekologii*. 2018. No. 1. P. 60–72 (in Russian). doi: 10.15393/j1.art.2018.7202
12. Mikhailova K.B., Mikhalap S.G. Long-term dynamics of the area of overgrowing with helophytic vegetation of lake Pskovskoe // *Transformatsiya ekosistem*. 2019. No. 2 (1). P. 86–93 (in Russian). doi: 10.23859/estr-180711
13. Jaskuła J., Sojka M. Assessing spectral indices for detecting vegetative overgrowth of reservoirs // *Pol. J. Environ. Stud.* 2019. V. 28. No. 6. P. 4199–4211. doi: 10.15244/pjoes/98994
14. Kut'yavina T.I., Ashikhmina T.Ya., Kondakova L.V. Application of ground-based research methods for the diagnostics of pollution and eutrophication of water reservoirs of the Kirov region // *Theoretical and Applied Ecology*. 2019. No 2. P. 44–52 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-2-044-052
15. Rouse Jr.J., Haas R.H., Schell J.A., Deering D.W. Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS // *Proceedings of the Third Earth Resources Technology Satellite-1 Symposium. Greenbelt: NASA Technical Reports Server*, 1974. P. 309–317.
16. Lapirova A.G. Ecological groups of plants in water bodies // *Hydrobotany: methodology, methods: Materialy Shkoly po gidrobotanike. Rybinsk: OAO "Rybinskiy Dom pechati"*, 2003. P. 5–22 (in Russian).
17. Barkan O.Yu., Zeizer N.M. The use of macrophytes in bioecological studies of water bodies // *Vestnik Chelyabinskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2013. No. 7 (298). *Biology*. V. 2. P. 177–178 (in Russian).
18. Kut'yavina T.I., Domnina E.A., Ashikhmina T.Ya. Assessment of the water quality of the Omutninsky reservoir using physicochemical and bioindication methods // *Problemy regionalnoy ekologii*. 2014. No. 1. P. 131–137 (in Russian).
19. Bornette G., Puijalon S. Response of aquatic plants to abiotic factors: a review // *Aquat. Sci.* 2011. V. 73. P. 1–14. doi: 10.1007/s00027-010-0162-7

## Thematic interpretation of high-resolution satellite images of vegetation based on field research data

© 2020. E. A. Domnina<sup>1,2</sup> ORCID: 0000-0002-5063-8606, T. A. Adamovich<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-8684-927X, A. S. Timonov<sup>1,2</sup> ORCID: 0000-0001-8560-3051, T. Ya. Ashikhmina<sup>1,2</sup> ORCID: 0000-0003-4919-0047  
<sup>1</sup>Vyatka State University, 36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,  
<sup>2</sup>Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Komi Republic, Russia, 167982, e-mail: ttjnadamvich@rambler.ru

The article presents the results of studies on decoding vegetation using high and ultra-high resolution satellite images and ground-based observation data using direct decryption signs. Space images from the WorldView-2 apparatus with a spatial resolution of 0.5–1.0 m were selected for the dates of late spring, summer, early autumn during the period of a stable state of the deciduous vegetation cover. The work describes the communities of pine, spruce, mixed forests, as well as overgrown with trees areas of meadows in the territory of the Orichevsky district of the Kirov region. An explanation of the necessity of using images in a certain period of the year is given. Images taken in early spring (late april – early may) and in mid-autumn (late september – early october) are the most acceptable for interpretation in order to map forest tree communities.

In the work, we used such deciphering signs as tone, color, structure, texture, background. The image of forest stands has a pronounced photographic drawing, which allows them to be distinguished in photographs from areas not covered with forest. When decoding, first of all, a grainy pattern is visible. Differences in the shapes and sizes of tree crowns, as well as in the outlines of their shadows in high- and ultra-high resolution images, make it possible to determine the composition of plantations. An important feature of the image of woody vegetation in a satellite image is its tonality. Mostly spruce, fir and pine forests in panchromatic black-and-white images are characterized by a darker tone than deciduous ones. The data of interpretation of space images can be used as the basis for creating a map of vegetation of the studied area.

**Keywords:** interpretation, space images, direct interpretation signs, vegetation.

УДК 528.72:004.93

## Дешифрирование растительности по космическим снимкам высокого разрешения с использованием данных полевых исследований

© 2020. Е. А. Домнина<sup>1,2</sup>, с. н. с., доцент, Т. А. Адамович<sup>1</sup>, к. г. н., доцент, А. С. Тимонов<sup>1,2</sup>, н. с., инженер, Т. Я. Ашихмина<sup>1,2</sup>, д. т. н., профессор, г. н. с., зав. лабораторией,  
<sup>1</sup>Вятский государственный университет, 610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,  
<sup>2</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, 167982, Россия, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28, e-mail: ttjnadamvich@rambler.ru

В статье приведены результаты исследований по дешифрированию растительности по космическим снимкам высокого и сверхвысокого разрешения и данных наземных наблюдений с использованием прямых дешифровочных признаков. Космические снимки с аппарата WorldView-2 с пространственным разрешением 0,5–1,0 м были выбраны на даты конца весны, лета, начала осени в период олиственности деревьев. В работе описаны сообщества сосновых, еловых, смешанных лесов, а также зарастающие деревьями участки лугов территории Оричевского района Кировской

области. Обоснована необходимость использования снимков в определённый период года. Наиболее приемлемыми для дешифрирования с целью картирования лесных древесных сообществ являются снимки, сделанные ранней весной (конец апреля – начало мая) и в середине осени (конец сентября – начало октября).

В работе использовали такие дешифровочные признаки, как тон, цвет, структура, текстура, фон. Изображение древостоев имеет ярко выраженный фоторисунок, позволяющий выделять их на снимках от непокрытых лесом площадей. При дешифрировании прежде всего виден зернистый рисунок. Различия в формах и размерах кроны деревьев, а также в очертаниях их теней на снимках высокого и сверхвысокого разрешения позволяют определять состав насаждений. Важным признаком изображения древесной растительности на космоснимке является его тональность. Обычно леса из ели, пихты и сосны на панхроматических чёрно-белых снимках характеризуются более тёмным тоном, чем лиственные леса. Данные дешифрирования космоснимков могут быть положены в основу создания карты растительности изучаемой территории.

**Ключевые слова:** дешифрирование, космические снимки, прямые дешифровочные признаки, растительность.

Earth remote sensing (ERS) methods are based on obtaining information about the earth's surface by registering electromagnetic radiation coming from it, reflected or its own, in various parts of the spectral range. Analysis of the spectral characteristics of objects, structural and textural features of images allows you to obtain information for their subsequent decoding and interpretation [1]. The inherent properties of terrestrial ecosystems are their hierarchical structuredness and heterogeneity. These properties are clearly manifested in satellite images of various spatial resolutions: from small-scale (Modis) and medium-scale (Landsat, Aster, Spot) to large-scale (Quick Bird).

The leading role in the formation of the image of a satellite image is played by the vegetation cover, which forms a mixture of spectral responses of different brightness on digital images, which, within the framework of automatic processing of remote sensing data, does not allow solving the problem by standard methods of delimiting the analyzed area by classes of homogeneous fields represented by pixels with the same spectra. The study of the vegetation cover requires up-to-date and objective information that can be obtained by processing space imagery data [2]. Vegetation is the most informative element of the ecosystem and is best displayed on multispectral satellite images, reflecting various characteristics of the state of the territory.

To use satellite images as a source of information about the vegetation growing in the study area, it is necessary to use the features of specific objects, by which they can be identified on aerospace images [3]. The predominant plant species or their groups and groups of plantation composition are deciphered mainly by color, microstructure and confinement to certain types of forest growing conditions. Completeness and age groups are determined (using high-resolution images) based on the microstructure of the plantation canopy and their statistical charac-

teristics [4]. The use of narrow spectral intervals makes it possible to decipher individual trees. According to satellite images with a resolution of 10 m and better, after determining the prevailing and constituent species, the type of forest or a group of forest types and the class of bonitet, the group or age class of the prevailing species is deciphered. In high-resolution satellite images (1–2 m), the height of the plantation can be determined by measuring the length of the shadows of the trees (especially when shooting in the morning and evening hours). According to the measured diameters of crown projections (areas of crown projections), the average diameter of trees in stands at a height of 1.3 m, as well as the height and closeness of the plantation canopy, can be determined [4]. Satellite images allow the use of morphological signs when interpreting the composition of plantings, growing conditions, measuring and determining the taxation characteristics of plantations with greater accuracy [4–6].

The aim of the work was to develop approaches to the selection and interpretation of high-resolution satellite images for drawing up a detailed map of vegetation.

### Research objects and methods

Field studies within the framework of this work were carried out in the period 2004 to 2017 in the territory of the Orichevsky district of the Kirov region. Communities of pine, spruce, mixed forests, as well as overgrown areas of meadows were described. Geobotanical descriptions of plant communities were carried out in layers. For interpretation, the indicators of the tree layer are important, therefore, the main attention was paid to the following characteristics: height, age and state of the main forest-forming species. The work shows an example of deciphering two areas, which represent several communities.

For the recognition of plant objects on the images, direct (general, basic) decoding features were used. Direct deciphering signs are the properties of an object that are directly displayed on images, inherent in the objects themselves. The properties of direct signs [4, 7–10] include geometric (shape, configuration, size, volume, pattern of objects) or structural (linear and volumetric), general (photogrammetric) – phototone, color, relative position. According to other data [4, 11], three groups of features belong to direct deciphering features: geometric (shape, shadow, size); luminance (phototone, color, spectral image); structural (texture, structure, pattern).

Deciphering of various tree species is carried out on spectrozonal images, which do not convey the actual colors of nature, but strongly emphasize the difference in the color of objects with a color contrast [12–18]. An additional feature of the image of woody vegetation in the satellite image is its tonality. Most of the forests of spruce, fir and pine in panchromatic black and white images are characterized by a darker tone than deciduous or larch trees.

Deciphering vegetation can be divided into contour and taxation. Contour interpretation consists in the selection of various categories of areas and taxation areas among the arrays which are subsequently characterized by means of field measurements. When deciphering stands, it is necessary to consider carefully not only the central parts of the image, but also the marginal ones, where differences in the structure of the crowns are better visible [16].

The work used ultra-high resolution space images from the WorldView-2 spacecraft with a spatial resolution of 0.5–1.0 m. The images were obtained on the following dates: June 2, 2007; May 8, 2011; September 12, 2014; September 10, 2018.

Satellite images were selected for dates (late spring – summer – early autumn), providing analysis of the time series during the period of a steady state of the deciduous vegetation cover. This time interval is interesting for research with a fairly smooth change in spectral characteristics.

## Results and discussion

The image of forest stands has a pronounced photographic drawing, which allows them to be distinguished in photographs from areas not covered with forest. When deciphering, first of all, a grainy pattern is visible, created by the

alternation of rounded specks – projections of tree crowns and gaps between them of different outlines, partially or fully occupied by dark shadows cast by trees. In stereoscopic viewing of images, the height of the stands is perceived quite clearly [12]. The density of the forest, the size and structure of tree crowns in the area have a major influence on the size and shape of the “grains” of the forest images in the image. These differences in the shapes and sizes of tree crowns, as well as in the outlines of their shadows in high- and ultra-high-resolution images, make it possible to determine the composition of plantations (Fig. 1, see color inset).

Monochrome images of pine forests have a general gray tone. Light gray rounded crown projections are almost the same in size, usually located in area. The surface of the canopy of a pine forest during stereoscopic viewing is visible without the “dips” typical of spruce and fir forests. In color images, pine forests are characterized by a dark green color (Fig. 2, see color insert).

Their structure is characterized as coarse-grained, the texture is arcuate-scalloped. The shape of the crown projections is oval; there is no sharp border and tone intensity of the crown projections and darkened areas between them. The shadows are elliptical in shape. In young trees with small crowns, due to the high degree of closeness, their projections merge with each other.

Images of spruce forests (Fig. 1, 2, see color insert) on the satellite image are characterized by a dark tone with light gray, with gray rounded “grains” of crowns and almost round gaps between them. Spruce is shown in blue-green color in spectrozonal aerial photographs.

Changes in the diameter of crowns in one massif within a wide range (by a factor of 4–5) and a significant difference in heights of trees within a plantation of one type, which is significantly higher than in stands of other species, are noted.

An important feature is elongated cone-shaped and needle-shaped shadows (Fig. 3, 4, see color insert). Falling shadows cast by trees are clearly visible. They convey the shape of objects in a form close to the usual. By measuring the length of the shadow, you can quickly and accurately determine the height of an object.

Aspen forests in the satellite image dated May 8 (Fig. 4, see color insert) have a light gray tone, lighter than all other considered stands. The lighter tone of the aspen allows it to be distinguished from other stands. In the photographs, the shadows of aspens are shaped like those of pines; when viewed stereoscopically, the crowns seem to be torn off the ground. Aspens have a

curtain or group arrangement of crowns. Aspen grows together with coniferous and deciduous trees, but it also forms pure aspen forests.

In color images, deciduous forests (aspen) are characterized by a light green color. Their structure is characterized as coarse-grained, homogeneous, dense, the texture is spotty-granular, the grains are smeared (Fig. 4, see color insert). On the pictures they are arranged in the form of a closed canopy with dark gaps. The projections of tree crowns are light, indistinct. The shape of the crowns is rather round, the crowns are arranged in groups, overlapping with each other.

The image of solid thickets of shrubs is characterized by a fine-grained photo-pattern structure, a gray or dark gray tone, small falling shadows and a usually rounded shape of the contours. The thickets of shrubs differ from young shoots in a more even tone, due to the homogeneity of the composition. For reliable recognition and differentiation of shrubs and undergrowth, it is necessary to take into account the peculiarities of the growth and placement of certain species in the specific conditions of the survey area. As a rule, shrubs are confined to the floodplains of rivers, the bottoms of ravines, the edges of steppe oak forests, etc., while the shoots are found in overgrown clearings in forest areas.

The analysis of the images taken at different times of the year, at different phenophases, has a different color and structural pattern. So, in the photo dated May 8 (Fig. 4, see the color insert), areas with a green and gray phototone are clearly distinguished, which reflect, respectively, coniferous and mostly deciduous trees that have not yet blossomed at this time. The pictures taken in September (Fig. 2, 3, see color insert) clearly show areas of different shades of green. Arrays of conifers are denoted in dark green, and lighter shades of green to yellow are inherent in communities that are dominated by birches, in which an autumn change in foliage color occurs. Sometimes one can see separate pink and purple spots (Fig. 3, see the color insert) of the beginning of the color change of aspen leaves. In the photographs taken after mid-May and until mid-September, woody plants are practically not deciphered by color. They can hardly be distinguished solely by the microtexture of the pattern.

The analysis of satellite images of other forest areas of the Kirov region shows that in different years the images taken at the same time (spring or autumn) have different information content, since phenophases rarely coincide in different years [8].

Thus, for interpretation, the images obtained in different seasons of the year were selected and analyzed taking into account data from field studies. Based on the images, the boundaries of plant communities were established and their contours were outlined.

Figure 5 shows a fragment of a schematic map based on decryption data. The constructed map reflects the diversity of the vegetation cover of the territory and can serve as an initial geobotanical basis for studying the dynamics of vegetation.

## Conclusion

For greater reliability, interpretation of plant communities should be carried out using data from field studies conducted over several years in the same territory.

The most suitable images for interpretation in order to map forest tree communities are images taken in early spring, when the snow has mostly melted, but the foliage on the trees has not yet blossomed (late April – early May) and in mid-autumn, when the leaves acquire characteristic tree species shades of color (late September – early October). Satellite images taken in summer are not very informative for the purpose of mapping forest plant communities.

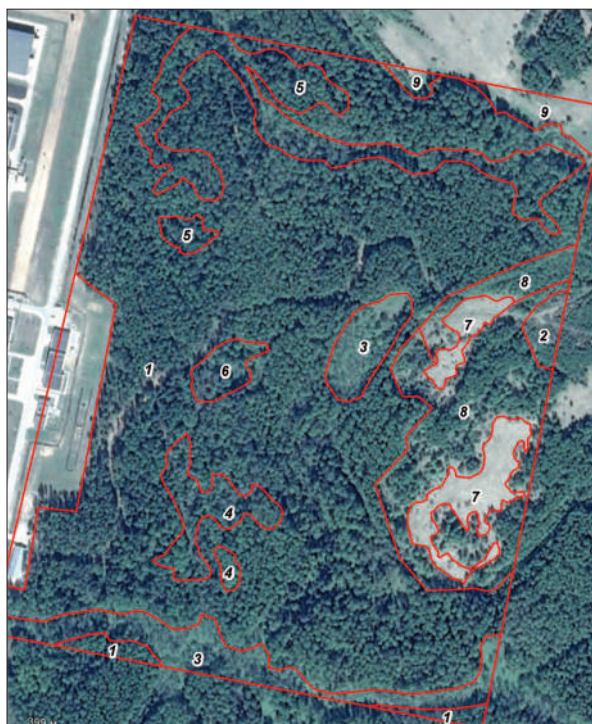
The data of interpretation of satellite images can be used as the basis for creating a map of vegetation of the studied area.

*This work was carried out as part of the state assignment of the Institute of Biology of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences on the topic "Assessment and forecast of delayed technogenic impact on natural and transformed ecosystems of the southern taiga subzone" No. № 0414-2018-0003.*

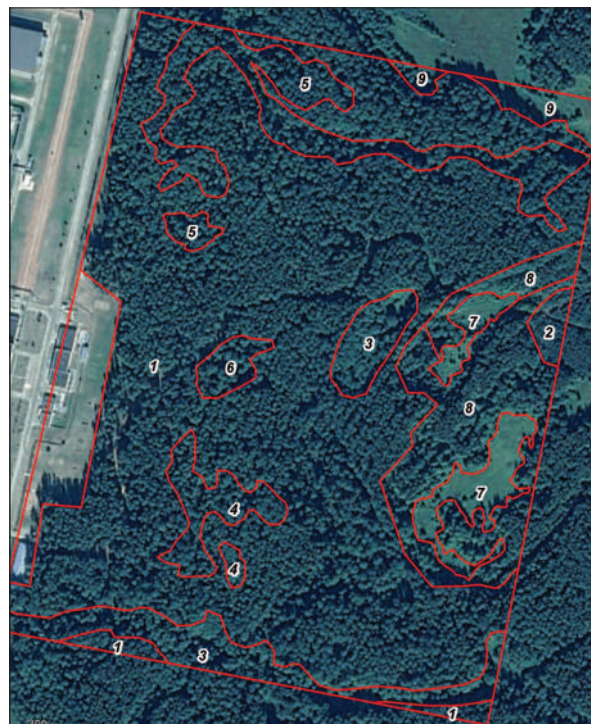
## References

1. Kozoderov V.V., Dmitriev E.V. Remote sensing of forest cover: an innovative approach // *Lesnoy vestnik*. 2012. No. 1. P. 19–33 (in Russian).
2. Levadny Yu.V., Telesh V.A. Technique for decoding terrain objects on radar images // *Informaciya i kosmos*. 2017. No. 1. P. 160–161 (in Russian).
3. Golovina L.A., Dubovik D.S. Topographic interpretation of images: study guide. allowance. Novosibirsk: SGGA, 2011. 60 p. (in Russian).
4. Labutina I.A. Deciphering aerospace images: Textbook. manual for university students. Moskva: Aspect Press, 2004. P. 60–79 (in Russian).





**Fig. 1.** Fragment of the image from the WorldView-2 spacecraft dated May 18, 2014. Resolution 1 m



**Fig. 2.** Fragment of the image from the WorldView-2 spacecraft dated September 2, 2017. Resolution 1 m

*Note for Figures 1 and 2: 1 – spruce-pine forest and pine forest, 2 – small pine forest, 3 – willow forest, 4 – deciduous forest (aspen, birch, willow), 5 – deciduous forest (birch, aspen, willow), 6 – deciduous forest (birch, aspen), 7 – arable land overgrown with small pine forests, 8 – former arable land, overgrown with small pine forests, willow forests, etc., 9 – overgrown meadow*



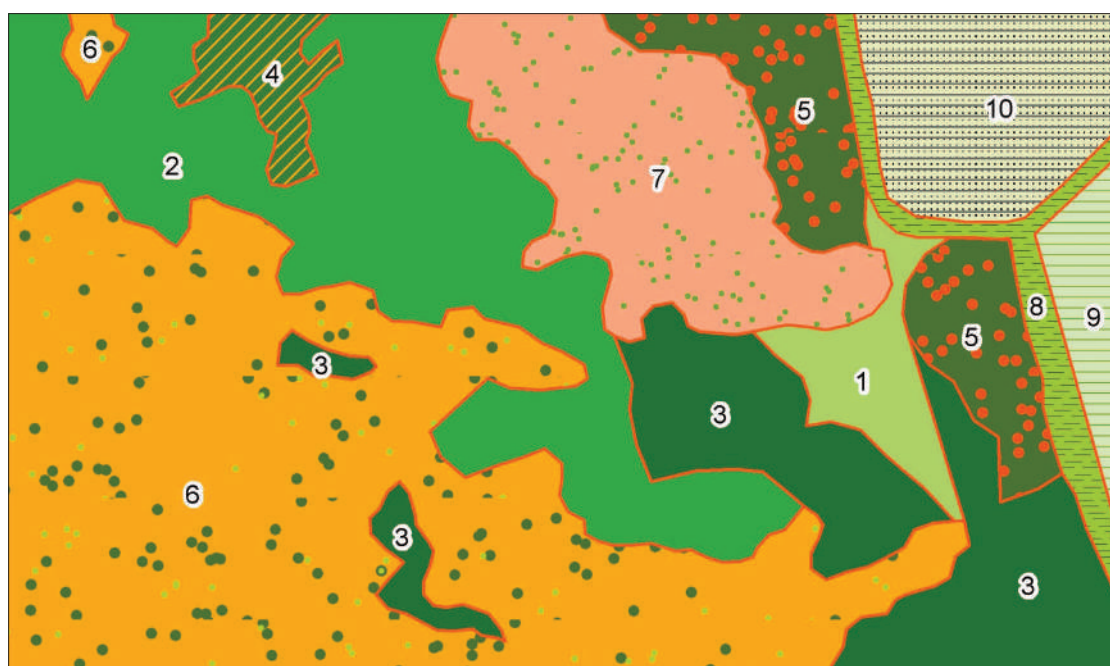
**Fig. 3.** Fragment of the image from the WorldView-2 spacecraft dated September 10, 2018. Resolution 0.5 m

*Note to Figures: 1 – young pine forest, 2 – spruce-pine forest with old-growth aspens, 3 – old-growth spruce forest (cone-shaped and needle-shaped shadows), 4 – aspen-spruce forest, 5 – aspen-spruce old-growth forest (cone-shaped and needle-shaped shadows), 6 – aspen forest with rare spruce and single pines, 7 – aspen forest with rare old spruce, 8 – willow forest, 9 – arable land, 10 – arable land overgrown with pine forest*



**Fig. 4.** Fragment of the image from the WorldView-2 spacecraft dated May 8, 2011. Resolution 1 m

*Note to Figures 4, 5: 1 – young pine forest, 2 – spruce-pine forest with old-growth aspens, 3 – old-growth spruce forest (cone-shaped and needle-shaped shadows), 4 – aspen-spruce forest, 5 – aspen-spruce old-growth forest (cone-shaped and needle-shaped shadows), 6 – aspen forest with rare spruce and single pines, 7 – aspen forest with rare old spruce, 8 – willow forest, 9 – arable land, 10 – arable land overgrown with pine forest*



**Fig. 5.** Schematic map of vegetation of one of the sites in the Orichesky district of the Kirov region

5. Korelskiy D.S. Evaluation of soil and plant communities experiencing technogenic stress using cosmo-monitoring // *Zapiski Gornogo instituta*. 2013. V. 203. P. 170–173 (in Russian).
6. Greenberg J.A., Dobrowski S.Z., Vanderbilt V.C. Limitations on maximum tree density using hyperspatial remote sensing and environmental gradient analysis // *Remote Sensing of Environment*. 2009. V. 113. No. 1. P. 94–101. doi: 10.1016/j.rse.2008.08.014
7. Marchukov V.S. Automated methods for assessing the dynamics of the spatial distribution of vegetation cover and soils based on remote monitoring data // *Issledovanie Zemli iz kosmosa*. 2010. No. 2. P. 63–74 (in Russian).
8. Adamovich T.A., Domnina E.A., Timonov A.S., Rutman V.V., Ashikhmina T.Ya. Methodological methods for identifying plant communities based on data from remote sensing of the Earth and field research // *Theoretical and Applied Ecology*. 2019. No. 2. P. 39–43 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-2-039-043
9. Leimgruber P., Christen C.A., Laborderie A. The impact of Landsat Satellite monitoring on conservation biology environmental monitoring and assessment // *Remote Sensing of Environment*. 2005. V. 106. P. 81–101. doi: 10.1007/s10661-005-0763-0
10. Hojas-Gascón L., Belward A., Eva H., Ceccherini G., Hagolle O., Garcia J., Cerutti P. Potential improvement for forest cover and forest degradation mapping with the forthcoming Sentinel-2 program // *Int. Archives of the Photogram., Rem. Sens & Spatial Inf. Sciences*. 2015. P. 417–423. doi: 10.5194/isprsarchives-XL-7-W3-417-2015
11. Borzov S.M., Potaturkin O.I. Classification of vegetation types based on hyperspectral data of remote sensing of the earth // *Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Informacionnye tekhnologii*. 2014. V. 12. No. 4. P. 13–22 (in Russian).
12. Afonin A.N., Sokolova Yu.V., Bardakov N.N., Sakharov I.O. Deciphering the vegetation of the northwestern Ladoga area from high-resolution satellite images using ordination based on a complex of morphological and physiological parameters // *Sovremennye problemy distantsionnogo zondirovaniya Zemli iz kosmosa*. 2018. V. 15. No. 1. P. 147–156 (in Russian). doi: 10.21046/2070-7401-2018-15-1-147-156
13. Rees W.G., Tutubalina O.V., Tømmervik H., Zimin M., Mikheeva A., Golubeva E. Mapping of the Eurasian circumboreal forest-tundra transition zone by remote sensing // *Proceedings of the Fifth International Workshop: Conservation of Arctic Flora and Fauna (CAFF) Flora Group. Circumboreal Vegetation Mapping (CBVM) Workshop, Helsinki, Finland, November 3–6th, 2008. CAFF International Secretariat, CAFF Flora Expert Group (CFG), CAFF Technical Report No. 21 / Eds. S. Talbot, T. Charron, T. Barry. Helsinki, 2010. P. 144–150.*
14. Kravtsova V., Tutubalina O., Hofgaard A. Aerospace mapping of the status and position of northern forest limit // *Geography, Environment, Sustainability*. 2012. No. 5 (3). P. 28–47. doi: 10.24057/2071-9388-2012-5-3-28-47
15. Kurbanov E.A., Vorob'ev O.N., Lezhnin S.A. Thematic mapping of vegetation cover from satellite imagery: validation and assessment of accuracy: monograph. Yoshkar-Ola: Povolzhskiy gosudarstvenniy tekhnologicheskii universitet, 2015. 132 p. (in Russian).
16. Davranchea A., Lefebvre G., Poulin B. Wetland monitoring using classification trees and SPOT-5 seasonal time series // *Remote Sensing of Environment*. 2010. V. 114. No. 3. P. 552–562. doi: 10.1016/j.rse.2009.10.009
17. Ranson K.J., Sun G., Kharuk V.I., Kovacs K. Assessing tundra–taiga boundary with multi-sensor satellite data // *Remote Sensing of Environment*. 2004. V. 93. No. 3. P. 283–295. doi: 10.1016/j.rse.2004.06.019
18. Zhang Y., Xu M., Adams J., Wang X. Can Landsat imagery detect tree line dynamics? // *Int. J. Rem. Sens.* 2009. V. 30. No. 5–6. P. 1327–1340. doi: 10.1080/01431160802509009

## Отработка методики выделения и подготовки культуры базидиомицетов для микоризации почвы

© 2020. Н. В. Богачева<sup>1</sup>, д. м. н., профессор, Н. В. Позолотина<sup>2</sup>, к. б. н., доцент,  
Н. П. Савиных<sup>2</sup>, д. б. н., профессор, И. А. Коновалова<sup>2</sup>, н. с.,  
<sup>1</sup>Кировский ГМУ Минздрава России,  
610998, Россия, г. Киров, ул. К. Маркса, д. 112,  
<sup>2</sup>Вятский государственный университет,  
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,  
e-mail: bogacheva70@mail.ru

Выращивание сеянцев хвойных деревьев в искусственных условиях является перспективным направлением для решения проблемы восполнения лесных массивов. Одним из лучших агротехнических приёмов для адаптации растений к искусственным условиям считается микоризация почвы. Формирование микоризы, представляющей симбиоз мицелия гриба и корней высшего растения, приводит к улучшению физиолого-биохимического состояния растений, что способствует их приживаемости и росту.

Цель работы – отработка методики выделения и подготовки культуры базидиомицетов для микоризации почвы.

В процессе работы провели выделение и культурально-морфологическую оценку мицелия из базидиомицетов *Tricholoma equestre*, *Lactarius rufus*, *Suillus bovinus*. Отработали режимы гомогенизации выделенного мицелия грибов, которым планировалось обрабатывать почву при выращивании сеянцев хвойных деревьев в искусственных условиях. Оптимальным оказался режим 8000 об./мин в течение 2 мин, который приводил к достоверному увеличению содержания в суспензии жизнеспособного грибного мицелия.

Экспериментальным путём определили оптимальное количество фрагментов мицелия в единице объёма исследуемых грибов в пивном сусле для внесения в почву – от 10<sup>1</sup> до 10<sup>4</sup> жизнеспособных пропагул на 1 г почвы.

**Ключевые слова:** выделение мицелия, микоризация почвы, сеянцы хвойных деревьев.

## Checkout of methods for isolation and preparation of basidiomycete cultures for mycorrhization of soil

© 2020. N. V. Bogacheva<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-7021-6232, N. V. Pozolotina<sup>2</sup> ORCID: 0000-0003-1064-6537,  
N. P. Savinykh<sup>2</sup> ORCID: 0000-0003-4996-8269, I. A. Konovalova<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-4534-9842,  
<sup>1</sup>Kirov SMU MOH Russia,  
112, Karla Marksa St., Kirov, Russia, 610998,  
<sup>2</sup>Vyatka State University,  
36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,  
e-mail: bogacheva70@mail.ru

Cultivation of coniferous seedlings in artificial conditions is a promising direction for solving the problem of reforestation. One of the best agrotechnical methods for adapting plants to artificial conditions is mycorrhization of the soil. The formation of mycorrhiza, which is a symbiosis of the mycelium of the fungus and the roots of a higher plant, leads to an improvement in the physiological and biochemical state of plants, which contributes to their survival and growth.

Objective of the work is working out methods of selection and preparation of culture of basidiomycetes for mycorrhization of soil.

In the process of work, isolation and cultural-morphological assessment of mycelium from *Tricholoma equestre*, *Lactarius rufus*, *Suillus bovinus* basidiomycetes was performed.

The homogenization regimes of the isolated fungal mycelium were worked out, which planned to cultivate the soil when growing seedlings of conifers in artificial conditions. The optimal mode was 8000 rpm for 2 min, which led to a significant increase in the content of viable mushroom mycelium in the suspension.

The optimal range of content of mycelia suspensions of the studied fungi in beer wort for application to the soil was determined experimentally as 10<sup>1</sup> to 10<sup>4</sup> of viable propagules per 1 g of soil.

**Keywords:** isolation of the mycelium, mycorrhization of soil, seedlings of coniferous trees.

По мере роста численности населения и развития промышленности происходит увеличение объёма вырубок хвойных лесов, представляющих наибольшую хозяйственную ценность, а также зарастание лесных массивов мягколиственными породами [1]. Так, в результате интенсивной лесозаготовки в Кировской области за последние 10 лет площади спелых и перестойных хвойных насаждений уменьшились на 16,4%, а их запас – на 5,8%. В мягколиственных же хозсекциях площадь спелых и перестойных древостоев увеличилась на 15,2%, а их запас – на 23,9% [2]. Всё это свидетельствует о необходимости восполнения хвойных пород деревьев в лесах региона.

В данном контексте весьма перспективным подходом представляется искусственное выращивание растений с проведением микоризации почвы для лучшей адаптации посадочного материала [3–8].

Микориза – симбиоз мицелия гриба и корней высшего растения, при котором гифы мицелия оплетают корень и могут проникать в него [9]. Известны данные о связях с древесными породами таких микоризных грибов, как *Amanita muscaria*, *Boletus edulis*, *Laccaria laccata* и др. [10].

В подземной сфере у древесных растений формируется симбиотическая адаптация, которая морфологически проявляется в заселении корней деревьев грибами и формировании особых поглощающих структур (эктомикориза) [11]. Микоризные грибы получают от растений углеводы, а растения за счёт мицелия увеличивают поглощающую поверхность корневых систем, что облегчает им поддержание водно-минерального питания [12]. Формирование эктомикориз приводит к улучшению физиолого-биохимического состояния и росту растений, увеличению всасывающей поверхности корней, формированию у растений иммунитета к заражению потенциальными почвенными паразитами [13–16].

Поэтому микоризацию почвы для семян хвойных деревьев можно использовать как один из агротехнических приёмов для улучшения адаптации, развития и роста семян в искусственных условиях питомника [17].

Всё вышесказанное объясняет актуальность и цель работы – отработать методику выделения мицелиальных культур базидиомицетов из плодовых тел грибов и этапы подготовки культуры базидиомицетов для микоризации почвы.

## Объекты и методы исследования

В работе использовали мицелий базидиомицетов трёх видов грибов, собранных в Медведском бору в Нолинском районе Кировской области осенью 2018 г. Эти грибы по морфологическим признакам были идентифицированы как *Tricholoma equestre* (зеленушка), *Lactarius rufus* (горькушка) и *Suillus bovinus* (козляк) [18, 19].

Плодовые тела промыли сначала в проточной, а затем в стерильной воде, обработали 95% этиловым спиртом с последующим фламбированием. Плодовое тело каждого гриба надрезали прокалённым скальпелем в нижней части ножки вдоль волокон, после чего расщепляли в направлении разреза вместе со шляпкой. Из места перехода ножки в шляпку (наиболее толстое и стерильное место), вырезали кусочек волокон гриба длиной несколько миллиметров и помещали на плотную питательную среду. Культивирование материала проводили на сусло-агаре в течение 3–5 суток при температуре  $25 \pm 1$  °C.

Культивирование мицелия опытных и контрольного образцов проводили на чашках Петри с сусло-агаром, содержащим пивное сусло в концентрации 8° по Баллингу при  $25 \pm 1$  °C в течение 3–5 суток. В качестве контроля использовали готовый препарат мицелия белого гриба *Boletus pinophilus* («Грибное лукошко», Россия).

Анализ культур осуществляли путём визуальной оценки морфологии колоний.

Измельчение кусочков мицелия осуществляли на гомогенизаторе («Silent Crusher M», Украина).

Микроскопию цельного и измельчённого после гомогенизации мицелия проводили в камере Горяева, используя микроскоп «Микмед-5» (Россия) под иммерсией при увеличении  $\times 1500$ . При этом для каждого образца мицелия готовили три препарата и просматривали под микроскопом 5 полей зрения.

Учёт содержания фрагментов мицелия проводили до и после гомогенизации в камере Горяева по формуле (1):

$$M = \frac{a \cdot 10^3}{h \cdot S} \cdot n, \quad (1)$$

где  $M$  – содержание фрагментов мицелия в  $1 \text{ см}^3$  (далее по тексту – пропагул/ $\text{см}^3$ );  $a$  – среднее число фрагментов мицелия в малом квадрате камеры Горяева;  $10^3$  – коэффициент перевода  $\text{мм}^3$  в  $\text{см}^3$ ;  $h$  – глубина камеры, мм ( $0,1 \pm 0,004$  мм);  $S$  – площадь

малого квадрата сетки, мм<sup>2</sup> (0,025±0,004 мм<sup>2</sup>); *n* – разведение исследуемой суспензии.

Для оценки количества жизнеспособных и нежизнеспособных гиф использовали краситель трипановый синий («AppliChem», Германия).

Кроме этого, с целью оценки жизнеспособности проводили посев гиф на почвенный субстрат («Грунт питательный для хвойных растений», «Буйский химический завод», Россия), тем самым, приближая эксперимент к естественным условиям среды обитания мицелия. Перед посевом проводили стерилизацию грунта в сухожаровом шкафу (ШСС-80п, Россия). Режим стерилизации – 60 мин при 180 °С.

**Результаты и обсуждение**

На первом этапе исследования получили мицелиальные культуры базидиомицетов, являющиеся перспективными микоризообразователями хвойных деревьев.

Анализ выросших культур осуществляли путём визуальной оценки морфологии колоний по следующим признакам: характеру роста (наличию разрастания мицелия вокруг посевного материала, краю колоний); по преобладанию воздушного мицелия над субстратным мицелием, его цвету, особенности спороношения; цвету субстратного мицелия. Препараты мицелия для микроскопии готовили путём нанесения капли воды на заранее приготовленное предметное стекло, после чего в неё помещали кусочек мицелия и накрывали препарат покровным стеклом. При микроскопии оценивали нали-

чие прядек как показателя принадлежности к базидиомицетам.

Результаты оценки культурально-морфологических признаков мицелия изученных видов грибов представлены в таблице 1 (см. цв. вкладку).

На втором этапе провели отработку режимов подготовки выделенного мицелия эктомикоризообразующих грибов, которым планировалось обрабатывать почву при выращивании сеянцев хвойных деревьев в искусственных условиях.

Для этого мицелий каждого гриба, выросший на питательной среде в чашке Петри, смывали 10 мл раствора натрия хлорида с рН 7,2–7,4. Полученные суспензии гомогенизировали, используя различные режимы: 5000, 8000 и 11000 об./мин в течение 2 мин.

Процесс гомогенизации обеспечивает измельчение длинных нитей мицелия и помогает добиться увеличения количества жизнеспособных пропагул, каждая из которых может дать начало новому мицелию.

Для разделения жизнеспособных и нежизнеспособных фрагментов мицелия их окрашивали 0,5% раствором трипанового синего, смешивая суспензию мицелия с раствором красителя 1:1. В результате мёртвые фрагменты окрашивались в синий цвет, а жизнеспособные оставались бесцветными. В рамках данного исследования подсчитывали только неокрашенные фрагменты.

Результаты количественной оценки содержания жизнеспособных пропагул до и после гомогенизации мицелия при различных режимах представлены в таблице 2.

**Таблица 2 / Table 2**

Содержание жизнеспособных фрагментов мицелия в единице объёма, учтённое в камере Горяева до и после гомогенизации при различных режимах ( $\bar{X} \pm I_{95}, n = 3$ )  
 The content of viable mycelium fragments saccounted in the Goryaev chamber before and after homogenization under different regimes ( $\bar{X} \pm I_{95}, n = 3$ )

Мицелий гриба The mycelium of the fungus	Содержание жизнеспособных пропагул (lg пр./см <sup>3</sup> ) Content of viable propagules (lg pr./cm <sup>3</sup> )*			
	до гомогенизации before homogenization	после гомогенизации при режиме ... об. / мин в течение 2 мин / after homogenization at ... rpm. for 2 min		
		5000	8000	11000
<i>Tricholoma equestre</i>	6,6±0,01	6,6±0,01	6,9±0,01	6,3±0,01
<i>Lactarius rufus</i>	6,6±0,01	6,6±0,01	6,9±0,01	6,4±0,01
<i>Suillus bovinus</i>	7,9±0,01	7,9±0,03	8,0±0,02	8,0±0,02

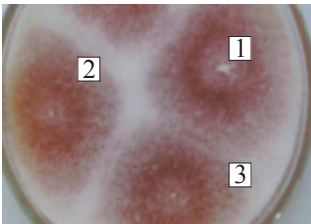

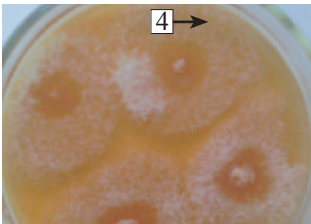


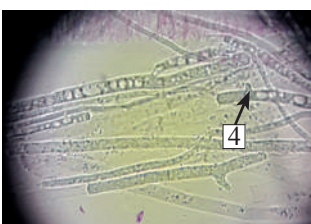
Примечания: lg пр./см<sup>3</sup> определяли, используя десятичный логарифм от рассчитанного содержания фрагментов (число фрагментов мицелия в 1 см<sup>3</sup> – пропагул/см<sup>3</sup>); *n* – количество подсчётов пропагул мицелия в камере Горяева, при этом каждый раз камера Горяева заполнялась вновь этой же суспензией гриба.

Notes: lg pr./cm<sup>3</sup> was determined using a decimal logarithm from the calculated content of mycelium (the number of mycelium fragments in 1 cm<sup>3</sup> – propagules/cm<sup>3</sup>); *n* – number of estimates of the hyphae in the Goryaev chamber, each time the Goryaev chamber was filled again by the same mushroom suspension.

**Н. В. Богачева, Н. В. Позолотина, Н. П. Савиных, И. А. Коновалова**  
**«Отработка методики выделения и подготовки**  
**культуры базидиомцетов для микоризации почвы». С. 46.**

**Таблица 1 / Table 1**

Культурально-морфологические свойства выделенных культур  
 Cultural and morphological properties of the selected cultures

Вид базидиомцета Basidiomycete species	Морфология мицелиальных культур Morphology of mycelial cultures	Культуральные признаки мицелия The culture characteristics of mycelium	Наличие прыжков The presence of buckles
<i>Tricholoma equestre</i>	 	<p>Разрастание мицелия вокруг посевного материала наиболее выражено по периферии колонии, край колонии ровный, преобладает воздушный мицелий белого цвета, субстратный мицелий белый.</p> <p>The overgrowth of the mycelium around the seeding material is most pronounced along the periphery of the colony, the edge of the colony is smooth, the air mycelium of white color prevails, the substrate mycelium is white.</p>	Да Yes
<i>Lactarius rufus</i>	 	<p>Разрастание мицелия вокруг посевного материала присутствует, край колонии ровный, воздушный и субстратный мицелий белого цвета.</p> <p>The overgrowth of the mycelium around the seeding material is present, the edge of the colony is smooth, air and substrate mycelium white.</p>	Да Yes
<i>Suillus bovinus</i>	 	<p>Разрастание мицелия вокруг посевного материала присутствует, край колонии неровный, воздушный мицелий белого цвета, субстратный мицелий жёлтого цвета, цвет обратной стороны колонии желтовато-белый.</p> <p>The overgrowth of the mycelium around the seeding material is present, the edge of the colony is uneven, the air mycelium is white, the substrate mycelium is yellow, the color of the reverse side of the colony is yellowish-white.</p>	Да Yes

Примечание: 1 – посевной материал, 2 – разрастание мицелия вокруг посевного материала, 3 – край колонии, 4 – прыжки.  
 Note: 1 – seeding material, 2 – the overgrowth of the mycelium around the seeding material, 3 – the edge of the colony, 4 – buckle.

Таблица 3 / Table 3

Содержание жизнеспособных фрагментов мицелия, учтённое путём высева на чашки Петри с почвой до и после гомогенизации ( $\bar{X} \pm I_{95}, n = 3$ )  
 Content of viable mycelium fragments accounted by seeding on Petri dishes with soil before and after homogenization ( $\bar{X} \pm I_{95}, n = 3$ )

Мицелий гриба The mycelium of the fungus	Содержание жизнеспособных фрагментов мицелия (lg пр./см <sup>3</sup> ) Content of viable mycelium fragments (lg pr./cm <sup>3</sup> )	
	до гомогенизации before homogenization	после гомогенизации при режиме 8000 об./мин в течение 2 мин after homogenization at 8000 rpm for 2 min
<i>Tricholoma equestre</i>	4,45±0,21	5,81±0,22
<i>Lactarius rufus</i>	3,63±0,32	4,49±0,20
<i>Suillus bovinus</i>	7,91±0,30	7,82±0,41

Анализируя данные таблицы 2, можно сделать вывод, что гомогенизация при режиме 8000 об./мин в течение 2 мин приводит к достоверному увеличению содержания жизнеспособных фрагментов мицелия у штаммов грибов *T. equestre* и *L. rufus*. Режим гомогенизации 5000 об./мин в течение 2 мин не обеспечивает достоверного увеличения. Режим 11000 об./мин в течение 2 мин, по-видимому, оказывает повреждающее действие, что приводит к уменьшению содержания жизнеспособных спор в единице объёма. Число жизнеспособных фрагментов мицелия гриба *S. bovinus* достоверно не отличалась до и после гомогенизации при различных режимах. Возможно, это связано с тем, что данный вид образует большое количество спор, которые произвольно распределяются в суспензии без дополнительной обработки.

Кроме этого, для оценки жизнеспособности фрагментов мицелия исследуемых грибов *T. equestre*, *L. rufus*, *S. bovinus* проводили высев в объёме 7,5 мл на почвенный субстрат, помещённый в чашки Петри по 25 г. Для этого выросший мицелий каждого гриба смывали с чашки Петри 10 мл пивного сусла в концентрации 8° по Баллингу и подвергали гомогенизации при выбранном на предыдущем этапе работы режиме – 8000 об./мин в течение 2 мин. В качестве контроля использовали суспензии без гомогенизации. Посевы инкубировали при 25±1 °С в течение 3–5 суток. Содержание жизнеспособного фрагментов мицелия оценивали визуально путём подсчёта отдельных островков мицелия, выросших на почве.

Результат оценки содержания жизнеспособных грибных спор после высева на чашки Петри с почвой представлен в таблице 3.

Анализируя результаты таблицы 3, можно сделать вывод о том, что гомогенизация при

режиме 8000 об./мин в течение 2 мин обеспечивает достоверное увеличение ( $p \leq 0,05$ ) жизнеспособных фрагментов мицелия грибов *T. equestre*, *L. rufus* при выращивании на почве и не влияет на количество жизнеспособных спор *S. bovinus*.

При искусственном внесении мицелия микоризных грибов с целью улучшения развития и роста сеянцев очень важным является содержание внесённого биопрепарата-микоризообразователя, так как большое его количество может оказывать ингибирующее влияние на рост и приживаемость растений, а слишком низкое снижает вероятность образования эктомикоризы.

На следующем этапе работы опытным путём определяли наиболее оптимальные количества исследуемых грибов, вносимых в почву. Для этого из полученных до и после гомогенизации суспензий готовили ряд десятикратных разведений на пивном сусле. Исходное содержание жизнеспособного мицелия *T. equestre* составляло  $(8,1 \pm 0,4) \cdot 10^7$ ; *L. rufus* –  $(8,3 \pm 0,2) \cdot 10^7$ ; *S. bovinus* –  $(1,3 \pm 0,2) \cdot 10^{10}$  спор/см<sup>3</sup>. Таким образом, было приготовлено 9 разведений – от  $10^{-1}$  до  $10^{-9}$ . Из разведений  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$  и  $10^{-9}$  проводили высев 7,5 мл сусла с мицелием на 25 г почвы, добываясь её равномерного увлажнения.

Результаты данного исследования представлены в таблице 4.

Анализируя данные таблицы 4, можно сделать вывод, что наиболее оптимальные значения содержания жизнеспособных фрагментов мицелия для внесения в почву и оценки влияния эктомикоризообразования на развитие сеянцев могут быть следующими: для *T. equestre*  $(8,1 \pm 0,4) \cdot 10^4 - (8,1 \pm 0,4) \cdot 10^2$ ; для *L. rufus* –  $(8,3 \pm 0,2) \cdot 10^4 - (8,3 \pm 0,2) \cdot 10^2$ ; для *S. bovinus* –  $(1,3 \pm 0,2) \cdot 10^1 - (1,3 \pm 0,2)$  спор/см<sup>3</sup>.



Таблица 4 / Table 4

Особенности роста мицелия базидиомицетов, внесённого в почву в различных количествах  
Features of growth of basidiomycetes mycelium introduced into the soil in different quantities

Разведение Dilution	Исходное содержание фрагментов мицелия в суспензии, вносимой в почву, пр./см <sup>3</sup> суспензии Initial content fragments of mycelium in the suspension introduced into the soil, pr./cm <sup>3</sup> suspension	Конечное содержание фрагментов мицелия в почве после их внесения, пр./г почвы The final content fragments of mycelium in the soil after application, pr./g of soil	Особенности роста Growth features
<i>Tricholoma equestre</i>			
10 <sup>-1</sup>	(8,1±0,4)·10 <sup>6</sup>	(2,4±0,4)·10 <sup>6</sup>	сплошной газон solid lawn
10 <sup>-3</sup>	(8,1±0,4)·10 <sup>4</sup>	(2,4±0,4)·10 <sup>4</sup>	
10 <sup>-5</sup>	(8,1±0,4)·10 <sup>2</sup>	(2,4±0,4)·10 <sup>2</sup>	18 колоний 18 colonies
10 <sup>-7</sup>	(8,1±0,4)	(2,4±0,4)	отсутствие роста no growth
<i>Lactarius rufus</i>			
10 <sup>-1</sup>	(8,3±0,2)·10 <sup>6</sup>	(2,5±0,3)·10 <sup>6</sup>	сплошной газон solid lawn
10 <sup>-3</sup>	(8,3±0,2)·10 <sup>4</sup>	(2,5±0,3)·10 <sup>4</sup>	
10 <sup>-5</sup>	(8,3±0,2)·10 <sup>2</sup>	(2,5±0,3)·10 <sup>2</sup>	15 колоний 15 colonies
10 <sup>-7</sup>	(8,3±0,2)	(2,5±0,3)	отсутствие роста no growth
<i>Suillus bovinus</i>			
10 <sup>-1</sup>	(1,3±0,2)·10 <sup>9</sup>	(3,9±0,2)·10 <sup>8</sup>	сплошной газон solid lawn
10 <sup>-3</sup>	(1,3±0,2)·10 <sup>7</sup>	(3,9±0,2)·10 <sup>6</sup>	
10 <sup>-5</sup>	(1,3±0,2)·10 <sup>5</sup>	(3,9±0,2)·10 <sup>4</sup>	
10 <sup>-7</sup>	(1,3±0,2)·10 <sup>3</sup>	(3,9±0,2)·10 <sup>2</sup>	
10 <sup>-9</sup>	(1,3±0,2)·10 <sup>1</sup>	(1,3,0±0,2)	30 колоний 30 colonies

### Заключение

Таким образом, в результате работы выделены мицелиальные культуры трёх видов базидиомицетов – *T. equestre*, *L. rufus*, *S. bovinus*, отмеченных как микоризообразователи хвойных деревьев. Показана роль гомогенизации, как одного из вариантов подготовки мицелия: целесообразная для *T. equestre* и *L. rufus* и не необходимая для *S. bovinus*. Экспериментально установлен режим подготовки мицелия перспективных базидиомицетов микоризообразователей (8000 об./мин в течение 2 мин), обеспечивающий достоверное увеличение числа жизнеспособных гиф грибов *T. equestre*, *L. rufus*, что обеспечивает эффективную микоризацию почвы при минимальном введении в неё суспензии мицелия. Это является важным моментом для промышленного производства биопрепаратов на основе мицелия микоризных грибов, обеспечивающих лучшее развитие и приживаемость сеянцев хвойных деревьев. Определено оптимальное содержание жизнеспособных гиф в

суспензии, приготовленной на пивном сусле, для внесения в почву. Для выяснения роли микоризации в развитии сеянцев хвойных деревьев рекомендовано использовать суспензии мицелия *T. equestre*, *L. rufus* и *S. bovinus* с содержанием  $(8,1±0,4) \cdot 10^4 - (8,1±0,4) \cdot 10^2$ ;  $(8,3±0,2) \cdot 10^4 - (8,3±0,2) \cdot 10^2$  и  $(1,3±0,2) \cdot 10^1 - (1,3±0,2)$  пропагул/см<sup>3</sup> соответственно.

### References

1. Ardashova E.M., Kiselev A.A., Popova O.I., Chuprova E.V., Shchukin E.A. State report on the state of the environment of the Republic of Komi in 2016. Syktyvkar: Ministerstvo promyshlennosti, prirodnih resursov, energetiki i transporta Respubliki Komi, GBU RK "TFI RK", 2017. 179 p. (in Russian).
2. Romanov E.M., Nureeva T.V., Belousov A.A. The role of artificial plantations of scots pine (*Pinus silvestris* L.) in improving the quality of the forest fund of the Kirov region // Vestnik Moskovskogo gosudarstvennogo universiteta lesa – Lesnoy vestnik. 2014. V. 18. No. 4. P. 29–37 (in Russian).
3. Geronina E.A. Prospects of use of synthetic mycorrhization in the cultivation of seedlings with closed

- root system // Trudy Sankt-Peterburgskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta lesnogo hozyaystva. 2014. No. 4. P. 49–58 (in Russian).
4. Visnovsky S.B., Cummings N., Guerin-Laguet A., Wang Y., Yamada A., Kobayashi H., Kawai M., Pitman A.R. Detection of the edible ectomycorrhizal fungus *Lyophyllum shimeji* colonising seedlings of cultivated conifer species in New Zealand // Mycorrhiza. 2014. V. 24. No. 6. P. 453–463. doi: 10.1007/s00572-013-0552-5
5. Suárez J.O., Villada D., Oria de Rueda J.A., Alves-Santos F.M., Diez J.J. Effects of *Lactarius deliciosus* and *Rhizopogon roseolus* ectomycorrhizal fungi on seeds and seedlings of Scots and stone pines inoculated with *Fusarium oxysporum* and *Fusarium verticillioides* // The Forestry Chronicle. 2018. V. 94. P. 126–134.
6. Wu B., Nara K., Hogetsu T. Competition between ectomycorrhizal fungi colonizing *Pinus densiflora* // Mycorrhiza. 1999. V. 9. No. 3. P. 151–159. doi: 10.1007/s005720050300
7. Vaario L.M., Pennanen T., Sarjala T., Savonen E.-M., Heinonsalo J. Ectomycorrhization of *Tricholoma matsutake* and two major conifers in Finland – an assessment of in vitro mycorrhiza formation // Mycorrhiza. 2010. V. 20. No. 7. P. 511–518. doi: 10.1007/s00572-010-0304-8
8. McAfee B.J., Fortin J.A. Ectomycorrhizal colonization on black spruce and jack pine seedlings outplanted in reforestation sites // Plant and Soil. 1989. V. 116. No. 1. P. 9–17. doi: 10.1007/BF02327251
9. Gilyarov M.S. Biological encyclopedic dictionary. Moskva: Sovetskaya entsiklopediya, 1989. 864 p. (in Russian).
10. Darmov I.V., Savinykh N.P., Perestoronina O.N. Assessment of the prospects of creating a biological product to mycorrhization of *Pinus sylvestris* seedlings in relation to ecological and geographical conditions of Kirov region // Conservation of forest ecosystems: problems and ways of their solution: Materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferencii. 2017. P. 50–56 (in Russian).
11. Adamova R.M. A study of the degree of development of mycorrhizae species dendroflora in connection with the introduction // Yug Rossii: ekologiya, razvitie. 2009. No. 1. P. 24–28 (in Russian).
12. Shubin V.I. Ectomycorrhizal fungi: their place and significance in the structural and functional organization of forest biogeocenoses // Boreal forests: state, dynamics, ecosystem services. Petrozavodsk: KarNTS RAN, 2017. P. 327–329 (in Russian).
13. Veselkin D.V. Variability of the size of the root system and the intensity of mycorrhization in shoots of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in adaptation to habitat // Sel'skohozyaystvennaya biologiya. 2014. V. 49. No. 1. P. 63–71 (in Russian).
14. Rosinger C., Sandén H., Matthews B., Mayer M. Patterns in ectomycorrhizal diversity, community composition, and exploration types in european beech, pine, and spruce forests // Forests. 2018. V. 9. No. 8. P. 445. doi: 10.3390/f9080445
15. Smith S.E., Anderson I.C., Smith F.A. Mycorrhizal associations and phosphorus acquisition: from cells to ecosystems // Annual Plant Reviews online. 2018. V. 48. P. 409–439. doi: 10.1002/9781119312994.apr0529
16. Suz L.M., Kallow S., Reed K., Bidartondo M.I., Barsoum N. Pine mycorrhizal communities in pure and mixed pine-oak forests: abiotic environment trumps neighboring oak host effects // Forest Ecology and Management. 2017. V. 406. P. 370–380. doi: 10.1016/j.foreco.2017.09.030
17. Burtsev D.S. Foreign experience of artificial mycorrhization of seedlings of forest tree species with a closed root system // Trudy Sankt-Peterburgskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta lesnogo hozyaystva. 2014. No. 1. P. 47–61 (in Russian).
18. Afonkin S.Yu. Large illustrated encyclopedia. Mushrooms Russia. Sankt-Peterburg: SZKEO, 2016. 224 p. (in Russian).
19. Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi Ainsworth G.C., Bisby G. R. Dictionary of the Fungi (9th edition) / Eds. P.M. Kirk, P.F. Cannon, J.C. David, J.A. Stalpers. CABI publishing, Wallingford, 2001. 655 p.
20. Iksanova A.G., Bondar O.V., Balakin K.V. Methods for the study of cytotoxicity during screening of drugs: teaching aid for practical exercises in the course “Methods of screening physiologically active substances”. Kazan: Kazan University, 2016. 40 p.
21. Nemkov P.S., Grekhova I.V. Industrial ecology. Influence of a humic preparation on coniferous seedlings // Theoretical and Applied Ecology. 2015. No. 1. P. 96–99 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2015-1-098-101

## Влияние поверхностно-активных веществ на формирование биоплёнки штаммом *Acinetobacter calcoaceticus* ВКПМ В-10353

© 2020. А. В. Гильдебрант<sup>1</sup>, м. н. с.,  
 Л. И. Домрачева<sup>2,3</sup>, д. б. н., профессор, в. н. с., В. А. Выростков<sup>1</sup>, магистр,  
 И. С. Сазыкин<sup>1</sup>, к. б. н., в. н. с., Е. М. Кудеевская<sup>1</sup>, м. н. с.,  
 М. А. Сазыкина<sup>1</sup>, д. б. н., в. н. с., профессор,  
<sup>1</sup>Южный федеральный университет,  
 344090, Россия, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, д. 194/2,  
<sup>2</sup>Вятская государственная сельскохозяйственная академия,  
 610017, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 133,  
<sup>3</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,  
 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,  
 e-mail: gildebrant@sfedu.ru, dli-alga@mail.ru, vyrostkov@sfedu.ru,  
 issa@sfedu.ru, kudeevskaya@sfedu.ru, samara@sfedu.ru

Широкое бытовое и промышленное применение поверхностно-активных веществ (ПАВ) приводит к их значительному содержанию в сточных водах и, как следствие, к загрязнению окружающей среды. В данном исследовании рассмотрено влияние индивидуальных ПАВ (додецилсульфат натрия, лаурилсаркозинат натрия) и синтетических моющих средств (СМС) на их основе на процесс формирования биоплёнки штаммом *Acinetobacter calcoaceticus* ВКПМ В-10353 в концентрациях 0,001–0,5%. Для определения интенсивности образования биоплёнки использован метод окрашивания кристаллическим фиолетовым. Для оценки количества жизнеспособных бактерий в составе биоплёнки использован метод окрашивания флуоресцеин диацетатом. Показано, что различные ПАВ и СМС по-разному влияют на биоплёнкообразование. В зависимости от концентрации, ПАВ способны как подавлять, так и стимулировать образование бактериальных биоплёнок. Полученные данные показывают, что синергетические и интерференционные взаимодействия всех компонентов СМС, вероятно, могут играть большую роль, и по действию индивидуальных ПАВ, входящих в его состав, невозможно судить об антибактериальной и антибиоплёночной активности СМС в целом.

**Ключевые слова:** додецилсульфат натрия, лаурилсаркозинат натрия, синтетическое моющее средство, интенсивность биоплёнкообразования, детергент, бактериальное обрастание.

## The influence of surface-active substances on biofilm formation by the *Acinetobacter calcoaceticus* VKPM B-10353 strain

© 2020. A. V. Gildebrant<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-9308-2022,  
 L. I. Domracheva<sup>2,3</sup> ORCID: 0000-0002-7104-3337, V. A. Vyrostkov<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-8536-3297,  
 I. S. Sazykin<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-0864-1473, E. M. Kudeevskaya<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-1928-394X,  
 M. A. Sazykina<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-6974-3361,  
<sup>1</sup>Southern Federal University,  
 194/2, Stachki Prospekt, Rostov-on-Don, Russia, 344090,  
<sup>2</sup>Vyatka State Agricultural Academy,  
 133, Oktyabrskiy Prospekt, Kirov, Russia, 610017,  
<sup>3</sup>Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS,  
 28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,  
 e-mail: gildebrant@sfedu.ru, dli-alga@mail.ru, vyrostkov@sfedu.ru,  
 issa@sfedu.ru, kudeevskaya@sfedu.ru, samara@sfedu.ru

The vast majority of microorganisms exist in nature in the form of biofilms attached to a surface or located at an interface. Bacterial cells in a biofilm are much better protected from the effects of adverse environmental factors, including exposure to various chemical compounds. The widespread domestic and industrial use of surface-active substances (detergents) leads to their significant concentration in wastewater and, as a consequence, environmental pollution. It is

necessary to study such effects on microorganisms for a clearer understanding of anthropogenic effects on natural and anthropogenically modified microbiomes.

The article considers the influence of both individual surface-active substances (detergents) – sodium dodecyl sulfate, sodium lauroyl sarcosinate, and synthetic washing agents based on them in the concentration range from 0.001% to 0.5% on the process of biofilm formation by *Acinetobacter calcoaceticus* VKPM B-10353 strain. The crystal violet staining method was used to determine the intensity of biofilm formation. Fluorescein diacetate assay was used to assess the number of viable bacteria in the biofilm.

It has been shown that various detergents and washing agents have different effects on biofilm formation. The maximum inhibitory effect has been demonstrated for sodium dodecyl sulfate. At 0.05–0.5% concentrations of sodium dodecyl sulfate complete inhibition of biofilms development by *A. calcoaceticus* VKPM B-10353 strain was revealed. At concentrations of 0.005% and 0.01%, a stimulating effect was recorded, while no effect on the number of living cells was detected. Stimulation of biofilm formation was detected in the concentration range of 0.01–0.5% for shampoo based on sodium dodecyl sulfate. The maximum effect was recorded at the concentration of 0.05% – the intensity of biofilm formation was 785%, there was no significant effect on the number of living cells in the biofilm. A stimulating effect (243%) on biofilm formation was shown for sodium lauroyl sarcosinate at the concentration of 0.05%. At this concentration, as well as at the concentration of 0.5% an increase in the number of living cells was observed. The suppressing effect was recorded at the concentrations of 0.001%, 0.005% and 0.1% – the intensity of biofilm formation was 21.7–60.8%. The number of living cells when exposed to lauroyl sarcosinate decreased at the concentration of 0.1%. For children's soap based on sodium lauroyl sarcosinate inhibition of biofilm formation was recorded at all the studied concentrations, the intensity of biofilm formation varied in the range 13.8–82.3%, while the number of living cells also decreased. Thus, it was shown that depending on the concentration, detergents are able to both suppress and stimulate formation of bacterial biofilms. A stimulating effect on biofilm formation, which can lead to fouling of sewer pipes and sewage treatment plants, was recorded for low concentrations of detergents and synthetic detergents. It was determined that the change in biomass of a bacterial biofilm does not always correlate with the change in the number of living cells. It is important to note that antibacterial/antibiofilm activity of detergents should not be judged by the action of individual detergents included in their composition, since synergetic and interference interactions of all components of the agent can play a large role.

**Keywords:** sodium dodecyl sulfate, sodium lauroyl sarcosinate, synthetic detergent, intensity of biofilm formation, bacterial fouling.

Поверхностно-активные вещества (ПАВ) – химические соединения, которые, концентрируясь на поверхности раздела термодинамических фаз, уже при очень малых концентрациях (десятые доли процента) приводят к резкому изменению поверхностного натяжения. Молекулы ПАВ имеют в своём составе гидрофильный полярный компонент (функциональные группы -ОН, -СООН, -SOOHN, -O-, -NO<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>) и неполярный гидрофобный элемент (гидрофобная углеводородная цепь, углеводородный радикал) [1]. Синтетические моющие средства (СМС) содержат в своей основе 20–40% ПАВ; добавки, повышающие моющую способность средства; а также ароматизаторы, консерванты, красители и др. [1]. Почти весь объём мировой продукции СМС попадает в сточные воды, что приводит к загрязнению поверхностных водоёмов, грунтовых вод и почв [2].

Широко изучено влияние ПАВ на микроорганизмы (МО). Так, например, ПАВ способны стимулировать рост численности МО, влиять на метаболические процессы в их клетках, подавляя дыхательную активность. Также ПАВ способны вызывать перестройки в липидных мембранах и разрушать клеточную стенку [3].

В настоящее время считают, что большая часть МО в окружающей среде существует

в форме биоплёнок (БП), а не в планктонной форме. Биоплёнка представляет собой сообщество МО, прикреплённых к поверхности или находящихся на границе раздела фаз и погружённых в экзополимерный матрикс [4]. Бактерии в составе БП лучше защищены от воздействия разных негативных факторов [5]. В различных концентрациях ПАВ способны как к подавлению развития БП [6], так и к увеличению её механической стабильности [7].

Целью данной работы являлось оценить влияние чистых ПАВ: додецилсульфата натрия («SERVA», Германия), лаурилсаркозината натрия («VWR Life Science AMRESCO», США); СМС: шампуня Чистотел «Мягкий» для щенков и котят (ЗАО «НПФ «Экопром», Россия); детского крем-мыла Ecolab «0 месяцев +» (ООО «ЭкоЛаборатория», Россия) на интенсивность образования БП штаммом *Acinetobacter calcoaceticus* VKPM B-10353. Выбор СМС обусловлен ПАВ, входящими в их состав. Так, в состав шампуня Чистотел «Мягкий» для щенков и котят входит додецилсульфат натрия, а в состав детского крем-мыла Ecolab «0 месяцев +» – лаурилсаркозинат натрия. Додецилсульфат натрия и лаурилсаркозинат натрия являются широко используемыми анионными ПАВ, входящими в состав множества моющих и косметических средств [8].

### Материалы и методы исследования

Объектом исследования служила моно-видовая БП штамма *Acinetobacter calcoaceticus* ВКПМ В-10353.

Формирование БП осуществлялось в лунках полистиролового планшета («NUOVA ARTASA», Италия). Суспензию суточной культуры *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353 разводили средой LB [9] до титра  $1 \cdot 10^8$  клеток/мл. В лунки планшета вносили 180 мкл полученной бактериальной суспензии и добавляли 20 мкл исследуемых веществ в различной концентрации. Часть лунок использовали в качестве положительного контроля, в них добавляли 20 мкл дистиллированной воды. В качестве отрицательного контроля использовали стерильный бульон. Планшет накрывали крышкой, заворачивали плёнкой Parafilm («Vemis Company», США) и инкубировали 24 ч при 30 °С. После инкубации для количественного определения интенсивности образования БП использовался метод окрашивания кристаллическим фиолетовым [10]. После удаления содержимого и промывки всех лунок, адгезированные бактерии фиксировали и окрашивали. Избыток красителя отмывали водопроводной водой. Краситель, связанный с адгезированными клетками, элюировали этанолом. Результаты учитывали спектрофотометрически с использованием планшетного ридера FLUOstar Omega («BMG LABTECH», Германия) при длине волны 570 нм. Количество сорбированного БП кристаллического фиолетового прямо пропорционально величине оптической плотности. Интенсивность образования БП рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{интенсивность образования БП (\%)} = \frac{T - B}{C - B} \cdot 100,$$

где С – значение оптической плотности положительного контроля, В – значение оптической плотности отрицательного контроля, Т – значение оптической плотности опыта [11]. Значения этого показателя ниже 100% свидетельствуют о подавляющем, а значения, превышающие 100% – о стимулирующем действии исследованных веществ на интенсивность образования БП.

Для определения количества жизнеспособных клеток использовался метод окрашивания флуоресцеин диацетатом (ФДА) [12]. Краситель («Sigma-Aldrich», США) растворяли в ацетоне в концентрации 10 мг/мл и ис-

ходный раствор хранили при -20 °С. Рабочий раствор 1:100 (ФДА/PBS) готовили перед каждым экспериментом. После удаления содержимого лунок с помощью многоканального дозатора и промывки лунок 250 мкл раствора натрий-фосфатного буфера (PBS («VWR Life Science AMRESCO», США)), в каждую лунку добавляли 200 мкл рабочего раствора ФДА. Планшеты инкубировали в темноте при 30 °С в течение 4 ч. После инкубации измеряли интенсивность флуоресценции ( $\lambda_{ex} = 485$  нм и  $\lambda_{em} = 520$  нм) с использованием планшетного ридера FLUOstar Omega («BMG LABTECH», Германия). Интенсивность флуоресценции (%) рассчитывали по аналогичной формуле, как и при определении интенсивности образования БП (%).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью стандартных методов математической статистики. Величины доверительных интервалов рассчитывали для  $p \leq 0,05$ . Для оценки статистической значимости различий использовали *t*-критерий Стьюдента [13]. Расчёты производили с помощью программы Microsoft Office Excel.

### Результаты исследования

Данные, полученные при изучении влияния ПАВ и СМС на формирование БП штаммом *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353, представлены в таблице 1.

Додецилсульфат натрия оказал стимулирующее действие на интенсивность образования БП штаммом *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353 в концентрациях 0,005% и 0,01%. В диапазоне концентраций от 0,05% до 0,5% выявлено подавление образования БП и снижение количества живых клеток.

Вероятно, при воздействии низких концентраций додецилсульфата натрия (0,005% и 0,01%) увеличение биомассы БП является проявлением защитных функций. Так как количество живых клеток при этом остаётся на уровне положительного контроля, можно предположить, что увеличение общей биомассы связано с увеличением биомассы экзополимерного матрикса БП. Отсутствие же формирования БП в концентрациях от 0,05% до 0,5%, вероятно, связано с высокой противомикробной активностью додецилсульфата натрия. Согласно литературным данным, минимальная ингибирующая концентрация додецилсульфата натрия для штаммов *Escherichia coli* NCTC 10418, *Bacillus subtilis* NCTC

Таблица 1 / Table 1

Влияние исследованных поверхностно-активных веществ и синтетических моющих средств на формирование биоплёнки штаммом *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353  
Influence of the investigated surface-active substances and synthetic detergents on biofilm formation by the *Acinetobacter calcoaceticus* VKPM В-10353 strain

Вещество Compound	Концентрация Concentration	Интенсивность образования биоплёнки (%) Intensity of biofilm formation (%)	Интенсивность флуоресценции (%) Fluorescence intensity (%)
Додецилсульфат натрия Sodium dodecyl sulfate	0,001%	105,33	135,91
	0,005%	387,57*	69,71
	0,01%	347,34*	117,86
	0,05%	0,00*	0,00*
	0,1%	0,00*	10,81*
	0,5%	0,00*	5,00*
Шампунь Чистотел «Мягкий» Shampoo Chistotel “Myagkiy”	0,001%	134,83	56,66*
	0,005%	139,33	54,07
	0,01%	311,24*	50,54
	0,05%	785,39*	60,75
	0,1%	268,54*	99,85
	0,5%	316,85*	101,10
Лаурилсаркозинат натрия Sodium lauroyl sarcosinate	0,001%	60,84*	95,74
	0,005%	52,80*	105,28
	0,01%	79,37	103,48
	0,05%	243,01*	177,37*
	0,1%	21,68*	0,00*
	0,5%	120,63	207,28*
Крем-мыло Ecolab Cream-soap Ecolab	0,001%	81,90*	60,44*
	0,005%	82,33*	52,25*
	0,01%	81,47*	34,93*
	0,05%	67,24*	0,00*
	0,1%	21,12*	8,60*
	0,5%	13,79*	23,85*

Примечание: \* – различия статистически значимы при  $p \leq 0,05$ .

Note: \* – the differences are significant at  $p \leq 0.05$ .

10400 и *Staphylococcus aureus* ATCC 9144 составляла 0,2%, для штамма *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 – 1% [14]. Известна также антибиоплёночная активность додецилсульфата натрия по отношению к БП штамма *Staphylococcus aureus* [15].

Шампунь Чистотел «Мягкий» для щенков и котят – синтетическое моющее средство на основе додецилсульфата натрия. Данное СМС стимулировало образование БП штаммом *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353 в диапазоне концентраций 0,01–0,5%. При этом лишь в концентрации 0,001% отмечено статистически значимое снижение численности живых клеток – интенсивность флуоресценции ниже значений положительного контроля на 43,34%. Можно предположить, что, как и в случае с чистым додецилсульфатом натрия,

увеличение биомассы БП происходит также за счёт увеличения синтеза компонентов экзополимерного матрикса. Помимо этого, такой колоссальный прирост биомассы может быть обусловлен тем, что в составе БП находится большое число мёртвых бактериальных клеток. Мёртвые клетки играют важную роль в формировании структурной организации БП и механизмов защиты [16].

Такой эффект может достигаться за счёт синергетического действия всех компонентов, входящих в состав данного СМС. Так, помимо додецилсульфата натрия, в состав шампуня входят динатрий кокоамфоацетат, диэтаноламид кокосового масла, экстракт ромашки, обладающий антимикробным потенциалом [17] и лимонная кислота, способная проявлять антибактериальную активность [18].

Уменьшение количества живых клеток в минимальной из исследованных концентраций (0,001%) можно сравнить с действием некоторых антибиотиков, способных подавлять формирование БП при низких концентрациях, стимулировать при повышении концентрации и снова подавлять при дальнейшем увеличении концентрации [19].

Лаурилсаркозинат натрия оказал стимулирующее действие на формирование БП в концентрации 0,05% (интенсивность образования БП составила 243,01%). В этой концентрации, а также в концентрации 0,5% наблюдалось увеличение количества живых клеток и интенсивности флуоресценции на 77,37% и 107,28% выше значений положительного контроля, соответственно.

Ингибирующий эффект показан в концентрациях 0,001%; 0,005% и 0,1%. Максимальное ингибирующее воздействие зарегистрировано в концентрации 0,1%, при которой интенсивность образования БП составила 21,68%. Количество живых клеток также снижалось при воздействии лаурилсаркозината в концентрации 0,1% – интенсивность флуоресценции не имеет статистически значимых различий со значениями отрицательного контроля. В литературе сообщается об антимикробной активности саркозинатов против *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* [20].

Детское крем-мыло Ecolab «0 месяцев +» – синтетическое моющее средство на основе лаурилсаркозината натрия. Данное СМС оказало подавляющее действие на интенсивность образования БП во всех исследованных концентрациях, причём максимальный ингибирующий эффект показан в концентрации 0,5% – интенсивность образования БП составила 13,79%. Данное крем-мыло также снизило количество живых клеток в БП во всех исследованных концентрациях.

Разница в действии лаурилсаркозината натрия и СМС на его основе, вероятно, обусловлена присутствием в крем-мыле дополнительных компонентов. В состав данного средства входит кокамидопропилбетаин, масло сладкого миндаля, экстракт цветков календулы, экстракт мальвы, обладающие антибактериальной активностью [21]. Все эти вещества в совокупности могут обуславливать бактерицидный эффект детского крем-мыла.

### Заключение

Таким образом, исследованные ПАВ и СМС показали различное действие на развитие БП,

которое, в том числе, зависело и от вносимых концентраций данных веществ. Практически все из исследованных ПАВ и СМС (кроме шампуня Чистотел «Мягкий») способны подавлять развитие БП минимум в одной из исследованных концентраций, что является преимуществом при применении их по назначению. Однако более низкие исследованные концентрации обладают стимулирующим эффектом (кроме детского крем-мыла Ecolab «0 месяцев +»), что может приводить к биообрастанию канализационных труб и очистных сооружений.

Додецилсульфат натрия является эффективным антибиоплёночным агентом – в концентрациях 0,05–0,5% он полностью подавляет развитие БП штаммом *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353.

Однако не следует судить об антибактериальной/антибиоплёночной активности по действию лишь одного ПАВ, входящего в состав СМС, так как большую роль могут играть синергетические и интерференционные взаимодействия всех компонентов средства.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № 0852-2020-0029 и гранта Президента РФ (грант № НШ-2511.2020.11).*

*Funding: Research was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in the framework of State assignment No. 0852-2020-0029 in the field of scientific activity, and President of Russian Federation (grant No. NSh-2511.2020.11).*

### References

1. Lange K.R. Surfactants: a practical Handbook. Munich: Hanser Publishers, 1999. 237 p.
2. Kogawa A.C., Cernic B.G., do Couto L.G.D., Salgado H.R.N. Synthetic detergents: 100 years of history // Saudi Pharmaceutical Journal. 2017. V. 25. No. 6. P. 934–938. doi: 10.1016/j.jsps.2017.02.006
3. Domracheva L.I., Simakova V.S. Reactions of prokaryotic microorganisms to the action of synthetic surfactants (review) // Theoretical and Applied Ecology. 2018. No. 1. P. 5–17 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2018-1-005-017
4. Flemming H.C., Wuertz S. Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms // Nature Reviews Microbiology. 2019. V. 17. No. 4. P. 247–260. doi: 10.1038/s41579-019-0158-9
5. Yin W., Yin W., Wang Y., Liu L., He J. Biofilms: the microbial “protective clothing” in extreme environments //

- International Journal of Molecular Sciences. 2019. V. 20. No. 14. P. 3423. doi: 10.3390/ijms20143423
6. Nillian E., Melinda S., Vincent M., Bilung L. Efficiency of detergents against microbial biofilm growth in Kuching, Sarawak // *Clinical Microbiology: Open Access*. 2016. V. 5. P. 1–4. doi: 10.4172/2327-5073.1000263
7. Simoes M., Simoes L.C., Pereira M.O., Vieira M.J. Sodium dodecyl sulfate allows the persistence and recovery of biofilms of *Pseudomonas fluorescens* formed under different hydrodynamic conditions // *Biofouling*. 2008. V. 24. No. 1. P. 35–44. doi: 10.1080/08927010701730311
8. Surfactants in Cosmetics / Eds. M.M. Rieger, L.D. Rhein. NY: Marcel Dekker Inc, 2017. 658 p.
9. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1982. 479 p.
10. Gildebrant A.V., Kushnareva D.N., Kaplina A.V., Mozgovaya A.I., Sazykin I.S., Sazykina M.A. The Effect of Pollutants on the Intensity of Biofilm Formation by the Strain *Vibrio aquamarinus* VKPM B-11245 // *Izvestiya of Saratov University. New Series. Series: Chemistry. Biology. Ecology*. 2019. V. 19. No. 1. P. 103–111 (in Russian). doi: 10.18500/1816-9775-2019-19-1-103-111
11. Salari S., Seddighi N.S., Almani P.G.N. Evaluation of biofilm formation ability in different *Candida* strains and anti-biofilm effects of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs compared with Fluconazole: an in vitro study // *Journal de Mycologie Medicale*. 2018. V. 28. No. 1. P. 23–28. doi: 10.1016/j.mycmed.2018.02.007
12. Peeters E., Nelis H.J., Coenye T. Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates // *Journal of Microbiological Methods*. 2008. V. 72. No. 2. P. 157–165. doi: 10.1016/j.mimet.2007.11.010
13. Lakin G.F. Biometry. Moskva: Vysshaya Shkola, 1990. 351 p. (in Russian).
14. Díaz De Rienzo M.A., Stevenson P., Marchant R., Banat I.M. Antibacterial properties of biosurfactants against selected Gram-positive and-negative bacteria // *FEMS Microbiology Letters*. 2016. V. 363. No. 2. P. fnv224. doi: 10.1093/femsle/fnv224
15. Shen Y., Li P., Chen X., Zou Y., Li H., Yuan G., Hu H. Activity of sodium lauryl sulfate, rhamnolipids, and N-acetylcysteine against biofilms of five common pathogens // *Microbial Drug Resistance*. 2020. V. 26. No. 3. P. 290–299. doi: 10.1089/mdr.2018.0385
16. Asally M., Kittisopikul M., Rué P., Du Y., Hu Z., Çağatay T., Robinson A.B., Lu H., Garcia-Ojalvo J., Süel G.M. Localized cell death focuses mechanical forces during 3D patterning in a biofilm // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012. V. 109. No. 46. P. 18891–18896. doi: 10.1073/pnas.1212429109
17. Abdalla R.M., Abdelgadir A.E. Antibacterial activity and phytochemical constituents of *Cinnamomum verum* and *Matricaria chamomilla* from Sudan // *Bio Bulletin*. 2016. V. 2. No. 2. P. 8–12.
18. In Y.W., Kim J.J., Kim H.J., Oh S.W. Antimicrobial activities of acetic acid, citric acid and lactic acid against *Shigella* species // *Journal of Food Safety*. 2013. V. 33. No. 1. P. 79–85. doi: 10.1111/jfs.12025
19. Kaplan J.B. Antibiotic-induced biofilm formation // *The International Journal of Artificial Organs*. 2011. V. 34. No. 9. P. 737–751. doi: 10.5301/ijao.5000027.
20. Yapar S., Ateş M., Özdemir G. Preparation and characterization of sodium lauroyl sarcosinate adsorbed on cetylpyridinium-montmorillonite as a possible antibacterial agent // *Applied Clay Science*. 2017. V. 150. P. 16–22. doi: 10.1016/j.clay.2017.08.025
21. Alizadeh F., Khodavandi A., Faraji F.S. *Malva sylvestris* inhibits *Candida albicans* biofilm formation // *Journal of Herbmед Pharmacology*. 2017. V. 6. No. 2. P. 62–68.



## Metal and metalloid contents in lichens from specially protected conservation areas

© 2020. A. F. Meysurova ORCID: 0000-0002-3885-375X, A. A. Notov ORCID: 0000-0001-7220-2611,  
Tver State University,  
33, Zhelyabova St., Tver, Russia, 170100,  
e-mail: alexandrauraz@mail.ru

The aim of this work is to evaluate the heavy metal and metalloids contents in indicator lichens inside two nature reserves situated within the Tver region that has a complex infrastructure and large number of industrial zones. Inductively-coupled plasma atomic emission spectral analysis is used to test for the gross and average ratio of 17 metals and metalloids (Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Ge, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Sn, Ti, V, Zn) in *Hypogymnia physodes* lichen samples. The average content of the most elements identified in samples from Zavidovo National Park (ZNP) is higher than in the samples from Central Forest State Nature Biosphere Reserve (CFSNBR). There are such metals as titanium, copper, arsenic, cobalt, molybdenum, and tin among them. Differences are the result of different levels and regimens of air moisture saturation, localization of working production plants, degree of anthropogenic transformation of the territory. Spatial distribution of areas with much higher metal concentrations on reserve territory is resulted apparently from variation in air humidity to large extent. In ZNP addiction between qualitative and quantitative metal impact is defined more clearly by level and character of artificial territory transformation. Moreover, in ZNP wide marshy and forest areas in valley on the Lob' river were identified, which have conservation importance as they are characterized by lack or very low concentrations of many metals. So it would be useful to take advantage while zoning and correction of regimes.

**Keywords:** biomonitoring, heavy metals, epiphytic lichens, baseline monitoring, pollution, conservation area.

УДК 582.29:543.42 (470.331)

## Содержание металлов и металлоидов в лишайниках на особо охраняемых природных территориях федерального значения

© 2020. А. Ф. Мейсурова, д. б. н., доцент, зав. кафедрой,  
А. А. Нотов, д. б. н., профессор,  
Тверской государственной университет,  
170100, Россия, г. Тверь, ул. Желябова, д. 33,  
e-mail: alexandrauraz@mail.ru

Цель данной работы – оценка содержания металлов и металлоидов в индикаторных лишайниках в пределах двух природных резерватов, расположенных на территории Тверской области, которая имеет сложную инфраструктуру и большое число промышленных зон. С помощью атомно-эмиссионного спектрального анализа с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП-анализ) в образцах *Hypogymnia physodes*, собранных в Центрально-Лесном государственном природном биосферном заповеднике (ЦЛГПБЗ) и национальном парке (НП) «Завидово» было определено валовое и среднее содержание 17 металлов и металлоидов (Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Ge, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Sn, Ti, V, Zn). Среднее содержание большинства выявленных элементов в пробах из НП «Завидово» выше, чем в пробах из ЦЛГПБЗ. Среди них такие металлы, как титан, медь, мышьяк, кобальт, молибден и олово. Разница в значениях концентраций обусловлена прежде всего различиями в ландшафтной структуре и уровне антропогенного воздействия. Пространственное распределение зон с более высокими концентрациями металлов на территории заповедника обусловлено, по-видимому, в большей степени различиями в режимах влагообеспеченности воздуха. В НП «Завидово» более чётко выявляется зависимость качественного и количественного содержания металлов от уровня и характера антропогенной трансформации территории. Кроме того, в НП «Завидово» выявлены обширные болотные и лесные массивы в долине р. Лоби, которые имеют буферное и природоохранное значение, поскольку характеризующиеся отсутствием или очень низкими концентрациями многих металлов. Целесообразно их использовать при зонировании и корректировке режимов.

В целом, показатели содержания металлов не превышают нормативные и выявленные ранее в регионе значения, что позволило установить интервалы фонового содержания металлов и металлоидов в талломах лишайников для Тверской области и приграничных территорий.

**Ключевые слова:** биомониторинг, тяжёлые металлы, эпифитные лишайники, фоновый мониторинг, загрязнение, особо охраняемые природные территории.

Metals and metalloids are widespread pollutants [1]. However, not for all elements of this group the normative values of the content in living objects were revealed. It is relevant to assess the content of metals and metalloids in epiphytic lichens, which are good indicators of the state of the atmosphere [1–4]. To determine the background values, mostly interesting are the territories of protected areas at the federal level, in which some toxicants may appear because of fires or cross-border transport. Tver region is a convenient model region. It has a complex economic infrastructure, but compared with other regions of Central Russia, forests here are better preserved.

The goal of the present work is to evaluate the metal content in indicator lichens from the Central Forest State Nature Biosphere Reserve (CFSNBR) and Zavidovo National Park (ZNP) using inductively-coupled plasma atomic emission spectral (ICP-AES) analysis. The aims of the study included: 1) defining collection sites (CS) in the conservation areas (CAs); 2) evaluating metal concentration using the ICP-AES method; 3) referencing data obtained to cartography and geo-information systems; 4) identifying baseline ranges for metals in the Tver region.

### Materials and methods

Research was conducted in years 2015–2016. The lichen *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., which is broadly distributed and moderately tolerant to pollution, was used as the specimen. Many researchers have noted that this lichen species is an active metal accumulator. Specimens were collected in CFSNBR and ZNP (see Table 1). Both territories are quite large [1]. Old-growth forest communities with characteristic structures, compositions, and a complex of rare and vulnerable biodiversity components were preserved in the CFSNBR [1]. The reserve is situated in the western part of the Tver region and occupies three districts. ZNP is situated in the Tver and Moscow regions, within the Upper Volga lowlands. CFSNBR is very far from large sources of pollution. Territories that are adjacent to ZNP contain large industrial plants.

There were 17 collection sites (CS) on the territories of both the investigated conservation areas (CA): 10 in CFSNBR and 7 in ZNP (see Table 1). Ten lichen specimens were collected from each CS for a total of 170 specimens.

The collected lichen specimens were analyzed by ICP-AES in the laboratory. Metal contents were determined using an iCAP

6300 Duo spectrometer (Thermo Scientific, USA). Results were processed statistically according to statistics methods. The resulting metal concentrations were compared with various regulatory values, because Maximum Allowed Concentrations (MAC) values for toxic elements in lichens are not available. The world-average baseline element contents for *H. physodes* are given only for a few metals. Their absolute values typically vary widely [5–6]. Results for lichens are sometimes compared with the Approximate Allowed Concentrations (AAC) and MAC for metals in the soil [1, 7, 8]. We compared our results with the existing MAC and AAC values in the soil. The elemental concentrations found for several elements were compared with the gross concentrations in lichens for ecologically clean areas if the AAC (MAC) were unavailable [9].

### Results and discussion

The ICP-AES detected 17 metals in the *H. physodes* specimens from the investigated CA – Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Ge, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Sn, Ti, V, Zn. 14 metals were shared by both of the investigated territories. Specimens from CFSNBR (CS 1–10) contained 16 metals (Cr being the exception), and ZNP specimens (CS 11–17) contained only 15, Ge and Sn being absent (Table 2). The concentrations of the metals detected in lichens varied over different ranges. The metal contents were grouped depending on their absolute contents in the specimens. The groups identified were the following: elements with increased concentrations (Al, Fe, Mn, Zn, V); moderate concentrations (Cu, Ni, Pb, Ti); low concentrations (As, Co, Cd, Sn, Mo); and very low concentration (Ge, Sb, Cr).

Even in high concentrations metals from the *first group* (Mn, Fe, Al, V, Zn) are not necessarily toxic for lichens. Mn, Fe and Al were found in specimens from all CS (1–17), V and Zn only in specimens from CS 1–13 (Table 2, 3). The analysis of metal concentrations from the first group revealed that the average concentration of most elements (Fe, Mn and V), except for Zn, were below the AAC (Fig. 1, Table 2). Average concentrations of Fe and Mn also do not exceed world baseline values for *H. physodes*. The average concentration of Zn in specimens from the investigated CA (CS 1–17) is equal to the AAC, which is 110 mg/kg (Table 2). There are differences in the average concentrations of Zn in the samples: CFSNBR has 105.3 mg/kg, ZNP has 125.7 mg/kg.

Table 1

Characteristics of *Hypogymnia physodes* collection sites in CAs studied

No.	CS location	Plant type	Additional characteristics
Central Forest State Nature Biosphere Reserve			
1	Quad. 38/56 (Severnoe)* T**	Old-growth black alder	Next to Katin Mokh swamp
2	Quad. 38/39/56/57 (Severnoe) T		
3	Quad. 26/27 (Severnoe) T	Old-growth black alder, spruce	Next to Tyud'ma River
4		Old-growth aspen and spruce	Next to Tyud'ma River, within the 1999 fire area [1]
5			
6	Quad. 28 (Severnoe) T	Spruce	
7	Quad. 28/29 (Severnoe) T	Spruce with maple	within the 1999 fire area
8	Quad. 28 (Severnoe) T		
9	Quad. 29 (Severnoe) T	Old-growth spruce	Next to Tyud'ma River, within the 1999 fire area
10	Quad. 30 (Severnoe) T	Old-growth spruce	
Zavidovo National Park			
11	Quad. 18 (Sokol'skoe) T	Spruce with birch, signs of damage by eight-dentated bark beetle	Next to Kozlovo township, highway Novozavidoskiy-Kozlovo-Kuryanovo-Turginovo and healing cut-over area
12	Quad. 200 (Sokol'skoe) T	Pines and birch	Next to the Dmitrovo and Bortnitsy villages and healing cut-over area
13	Quad. 181/182/199 (Sokol'skoe) T	Spruce with birch	
14	Quad. 122 (Aleksandrovskoe) M	Damp, at times swamped spruce forest with alder and birch trees	Near the Sheverikha village, there are large woodlands and swamps
15	Quad. 130 (Turginovskoe) T	Spruce with aspen and birch	Surrounded by large woodlands and swamps, no residential areas in the vicinity
16	Quad. 8/22 (Osheykinskoe) M	Spruce with birch	
17	Quad. 21/22 (Osheykinskoe) M		

Note: \* – name of the forest district; \*\* T – Tver region; M – Moscow region.

The average concentration of Al in samples from the CA was 398.5 mg/kg: CFSNBR – 394.4 mg/kg, ZNP – 404.27 mg/kg. The AAC (or MAC) values for Al have not been defined. Also, information on the world-average baseline values for this lichen is lacking. We found in the literature one mention of Al content in fruticose lichens from Karelia as 120–850 mg/kg with an average of 243 mg/kg [9]. This data indicated that the average Al content in lichens from CFSNBR and ZNP can be considered as baseline.

Gross concentrations of the analyzed elements (Al, Fe, Mn, Zn, V) in the lichen samples from separate CS varied widely, especially in lichen samples from CFSNBR. For example, the gross concentration of Fe (from 62.4 to 1921.5 mg/kg) and Mn (from 136.8 to 1531.5 mg/kg) varies significantly. Furthermore, gross concentrations of Zn, Fe and Mn from individual CS of investigated CA exceed corresponding AAC values (see Table 2). Gross concentrations of Zn most often exceeded AAC values – CS 2, 4, 8, 9 (CFSNBR) and CS 11, 13

(ZNP). Gross concentrations of Fe and Mn in the samples exceeded the AAC in isolated instances (for Fe – CS 7, for Mn – CS 2).

A definite correlation between the elemental contents and the area of forest fires in the 1990s [1] in CFSNBR or the vicinity of residential districts in ZNP could not be found by comparing data for the gross elemental concentrations in lichens from the studied CS. For example, in CFSNBR the maximum gross concentration of V was found for CS 2, which was far removed from the area of forest fires, whereas the minimum gross concentrations of V were observed at CS 6 and 7, which lay in the area completely burned by the fire.

The contents of the *second group* of metals (Cu, Ni, Pb, Ti) in *H. physodes* from the CA were significantly lower than those of the first group of metals (Fig. 1, Table 2). The majority of these elements are not seen in all samples. For example, Cu was found in samples from all CS, whereas the rest of the metals (Pb, Ti, Ni) were found only in samples from CS 1–13 (in CFSNBR – in CS 1–10, in ZNP – in CS 11–13).

**Table 2**  
Comparison of gross and average element concentrations in CA (CFSNBR – CS 1–10; ZNP – 11–17) and their normative values

Element	CFSNBR			ZNP		CA			Normative values					
	gross conc., mg/kg		average conc., mg/kg	gross conc., mg/kg		average conc., mg/kg	gross conc., mg/kg		average conc., mg/kg	MAC, mg/kg soil [7]	AAC*, mg/kg soil [8]	world-average baseline values [6]	AAC, mg/kg soil [2]	average conc. at baseline air conc., mg/kg [10]
	min	max		min	max		min	max						
Mn	136.8	1531.5	594.4	309.0	872.2	523.4	136.8	1531.5	565.2	1500	1500	10–130	1500	240
Fe	62.4	1921.5	494.7	510.4	928.4	652.1	62.4	1921.5	559.5	–	1000	50–1600	7500	1000
Al	160.5	612.0	394.4	306.7	634.8	404.3	160.5	634.8	398.5	–	–	–	–	–
Zn	72.0	166.0	105.3	93.2	150.9	125.7	72.0	166.0	110.0	100	110	20–500	102	102
V	11.6	64.8	45.7	100.4	112.4	79.1	11.6	112.4	59.5	150	–	–	150	5.5
Ti	7.3	27.3	16.1	2.1	30.2	25.8	2.1	30.2	18.3	–	–	–	–	20
Pb	7.8	21.9	13.7	9.6	18.0	14.9	7.8	21.9	14.0	32	65	5–100	32	14
Cu	6.2	12.3	7.5	6.4	40.4	16.4	6.2	40.4	11.2	3	66	1–50	55	8.5
Ni	0.6	3.8	1.7	1.8	2.2	2.1	0.6	3.8	1.8	4	40	0–5	35	4
As	1.2	4.3	2.6	5.3	7.1	6.2	1.2	7.1	3.2	2	5	–	2	–
Co	0.8	2.5	1.5	0.4	0.4	0.4	0.4	2.5	1.4	5	–	–	–	–
Cd	0.3	2.0	1.0	0.6	0.9	0.8	0.3	2.0	1.0	–	1	1–30	–	0.9
Sn	4.5	7.8	6.4	–	–	–	4.5	7.8	6.4	4.5	–	–	–	–
Mo	0.2	0.3	0.3	0.8	1.0	1.0	0.2	1.0	0.4	2	–	–	–	–
Sb	5.3	14.9	8.9	1.8	2.2	2.0	1.8	14.9	7.8	4.5	–	–	–	–
Cr	–	–	–	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	6	–	0–10	–	–
Ge	136.8	1531.5	594.4	309.0	872.2	523.4	136.8	1531.5	565.2	1500	1500	10–130	1500	240

Note: \* – AAC values are given for acidic soils (sandy and clayed soil),  $pH_{\text{HCl}} < 5.5$ ; error limits of 1.5% values presented in the table; “–” – absence of an element in the sample, for normative indicators – absence of data.

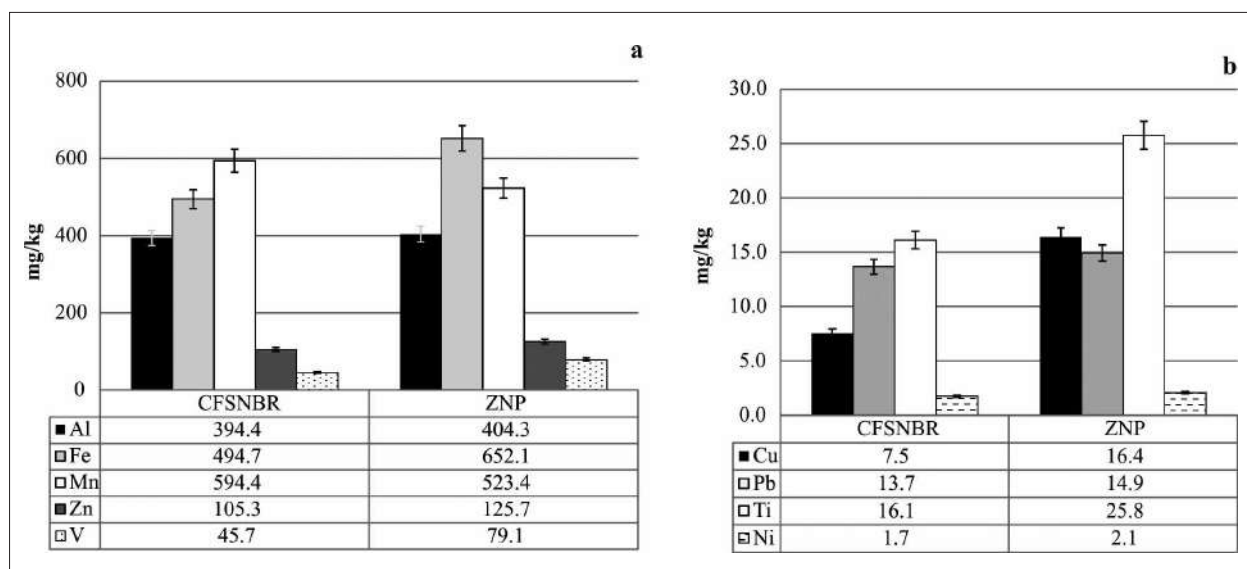


Fig. 1. Values of average element concentrations in the first (a) and second (b) groups in samples of *H. physodes* from investigated CA

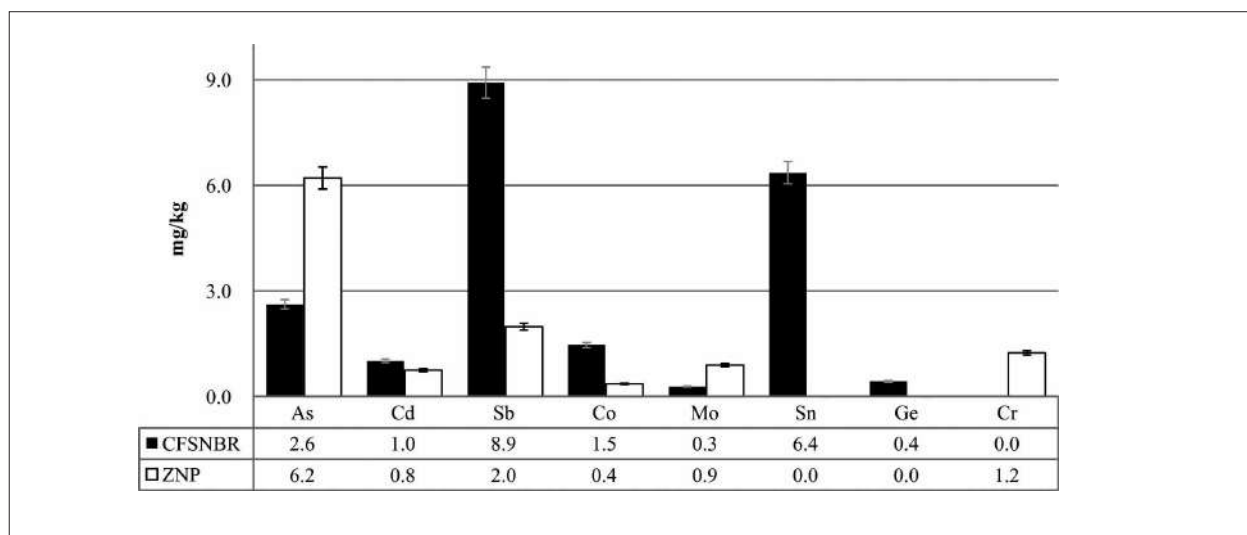


Fig. 2. Average concentration values for elements of the third group in samples of *Hypogymnia physodes* from studied CA

The average concentrations of Cu, Pb and Ni in samples from investigated CA do not exceed AAC values or the known world-average baseline values of these elements in *H. physodes* (Table 2). However, it is worth keeping in mind that the average concentrations of these metals in lichens from ZNP are significantly higher than in lichens from CFSNBR. In studied CA the average concentration of Ti is 18.3 mg/kg: 16.1 mg/kg in CFSNBR and 25.8 mg/kg in ZNP, which is 1.4 time higher. The AAC (or MAC) values for Ti have not been determined. However, the average content of Ti in *H. physodes* at the air baseline concentration is known to be 20 mg/kg. Furthermore, there is published

information on the content of this element in biota (0.2–80.00 mg/kg) [11]. Therefore, the observed average Ti content in CFSNBR lichens can be considered as the baseline.

The analysis of gross concentrations of metals from the second group showed no correlation between gross concentrations and points of collection or localization of areas damaged by fires in samples from CFSNBR [1]. However, in samples from ZNP, high gross concentrations of Cu were seen in CS (CS 11–14) that were in the vicinity of residential areas. Pb, Ti and Ni were found only in samples from CS 11–13.

The *third group* of metals is comprised of toxic metals (As, Co, Cd, Sn, Mo, Sb, Cr, Ge)

that have very low concentrations in lichens. The normative values for these metals (AAC, MAC, world-average baseline values) are also very low. Metals from this group were found in samples from very few CS. The most common metals found were As, Cd, Sn, Co, Mo and Sb, while Cr and Ge were found in isolated instances (Fig. 2, Table 2). The general amounts of elements from that group found in samples from both CA were different. Whereas the majority of elements were found in all CS from CFSNBR (Co, Sn, Sb, As, Mo, Cd), samples from the majority of CS from ZNP (CS 13–17) lack these elements. It should be noted that CS 13–17 are far away from water passages and large residential areas.

Average values of some metals from this group in samples from CA were higher than the known normative characteristics: in samples from CFSNBR these metals are Cd, Sn and Sb; in samples from ZNP it is the average value of As (Table 2). Samples from ZNP contain 1.2 times the average AAC (which is 5 mg/kg for As); in samples from CFSNBR the average contents of Cd are only insignificantly higher than the norm (AAC for Cd is 1 mg/kg) – 1.0 mg/kg. If this value is compared to the average world values for Cd, which vary greatly in the range from 1 to 30 mg/kg, we may consider this concentration to be baseline. There are no AAC values for Sn and Sb, the average values for these elements were compared to MAC values: the MAC was exceeded by 1.5 times (6.4 mg/kg) for Sn and by 2 times for Sb (8.9 mg/kg).

The average contents of other elements (Co, Mo, Ge, Cr) in samples do not exceed normative values. For example, the average concentrations of Co, Mo and Cr were below MAC values. There are few published materials about Ge concentrations. The authors did not find world-average baseline values nor the MAC values for this metal in lichens. There is data on the MAC values of this metal in the soil (it is equal to 2 mg/kg) [11]. As a result, it can be assumed that the average concentration of Ge (0.4 mg/kg), which was found only in samples from CFSNBR may be considered as baseline.

Gross concentrations of Sn and Sb exceed the known normative values in lichen samples from all CS in CFSNBR. High gross concentrations of these metals in lichens are the result of the anthropogenic effect. Alloys of Sn, Sb and some other metals are used as the foundation of antifriction metals in transport. The machines used in lumbering or when extinguishing fires may be the source of increased gross concentrations of these metals in lichen thalli. In samples

from two CS from ZNP (CS 11 and 12) the gross concentration of As is above the norm (Table 2). It is well-known that arsenic ( $As_2O_3$ ) is used in the production of some types of glass for clarification purposes [12]. In the Konakovo district (a large section of which is part of ZNP) glass production has been established a long time ago and defines the characteristics of this district [13]. High gross concentrations of this element in some CS in ZNP are likely to be the result of transboundary transfer of the emissions of these plants.

Gross concentrations of other metals do not exceed normative characteristics found in literature. A comparison of maximum and minimum values of gross concentrations did not yield a correspondence with the localization of CS in CFSNBR; in ZNP most of the metals were found in samples from two CS (CS 11, 12) (Table 3).

The values of average metal concentrations in lichens from CA in the Tver region are comparable to similar values of other CA in the Central Federal District. Similar studies were conducted in a Federal Biosphere Natural Reserve “Bryanskiy Forest” [13]. Using the data analyzed the authors were able to predict the possible ranges (intervals) of baseline values (Table 3).

Thus, 17 elements (Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Ge, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Sn, Ti, V, Zn) were detected in *H. physodes* specimens from Federal CA using ICP-AES. The average concentrations of the majority of found metals do not exceed the known normative values (AAC, MAC or world-average baseline values). Average concentrations of many metals in the samples from ZNP are higher than from samples from CFSNBR. Differences between average concentration values of metals from the second and third group (Ti, Cu, As, Co, Mo, Sb) were often revealed (Table 2). In general, the territory of ZNP appeared to be more heterogeneous in terms of the anthropogenic transformation of ecosystems, the landscaping and phytocoenotic characteristics. Alongside areas that are more actively used there are significant area of forests and swamps in the Lob’ river valley that are characterized by a lack of or very low concentrations of many metals. Our data supports their significance as buffers and nature preserves. Their localization should be taking into account in zoning procedures and in the correction of conditions of nature management.

There was no clear dependency of metal concentrations and forest fire localization in CFSNBR. This connection was found only for some aerial toxins [1]. The localization of zones

Table 3

Possible ranges of baseline values for some metals taking into account the obtained results and literature data

Metals	Gross conc. of metals in CA of the Tver region, mg/kg		Average metal conc., mg/kg		World-average baseline values, mg/kg [6]	Possible ranges of baseline values in Tver region, mg/kg
	min	max	CFSNBR, ZNP	Bryanskiy forest		
Mn	136.8	1531.5	565.2	382,6	10–130	110–650
Fe	62.4	1921.5	559.5	7319,1	50–1600	55–645
Al	160.5	634.8	398.5	–	–	135–460
Zn	72.0	166.0	110.0	85,5	20–500	60–125
V	11.6	112.4	59.5	1,1	–	10–70
Ti	2.1	30.2	18.3	0,0	–	1,5–20
Pb	7.8	21.9	14.0	28,9	5–100	6,5–16
Cu	6.2	40.4	11.2	40,3	1–50	5,3–13
Ni	0.6	3.8	1.8	23,8	0–5	0–5
As	1.2	7.1	3.2	11,1	–	1–3,7
Co	0.4	2.5	1.4	0,0	–	0,3–1,6
Cd	0.3	2.0	1.0	–	1–30	0,3–1,1
Sn	4.5	7.8	6.4	–	–	3,7–7,5
Mo	0.2	1.0	0.4	–	–	0,1–0,5
Sb	1.8	14.9	7.8	–	–	1,5–9
Cr	1.2	1.2	1.2	43,7	0–10	0,1–1,5
Ge	0.2	0.5	0.4	–	–	0,2–0,5

Note: “–” – no measurement data.

with higher metal concentrations seems to be the result of moisture saturation conditions of the air. In ecotypes in the vicinity of flood basins or large swamps the concentration of metals was higher. In ZNP there was a clear connection between the quantitative and qualitative metal contents and the level of anthropogenic transformation of the territories.

In general, the comparison of data on metal concentrations in lichens obtained in this study and literature data (Table 2, 3) allows the authors to consider the revealed concentrations to be the baseline for the Tver region. In the future, it would be expedient to increase the array of investigated metals in these CA and organize monitoring observations.

**Conclusion**

Seventeen metals were detected using ICP-AES analysis in *H. physodes thalli* from Federal CA. Gross concentrations of many elements in samples from ZNP are higher than in samples from CFSNBR. Among them, there are ele-

ments such as iron, aluminum, zinc, vanadium, titanium, lead, copper, nickel, arsenic, molybdenum. The largest excess of the average content of elements in the compared territories was found for molybdenum (3.3 times more), arsenic (2.4 times more) and copper (2.2 times more). These differences are the result of different levels and regimens of air moisture saturation, localization of working production plants, levels of anthropogenic transformation of the territory. However, in general the average concentrations of most of the metals are below the known normative values, and as such can be considered as baseline for the Tver region and adjacent territories.

**References**

1. Meysurova A.F., Notov A.A. Physicochemical analysis of indicator lichens as a component of conservation area baseline monitoring // J. Applied Spectroscopy. 2016. V. 82. No. 6. P. 1005–1012. doi: 10.1007/s10812-016-0219-z
2. Peer T., Türk R., Gruber J.P., Tschaikner A. Species composition and pedological characteristics of biological soil crusts in a high alpine ecosystem, Hohe Tauern, Austria //

Eco. mont. 2010. V. 2. No. 1. P. 25–30. doi: 10.1553/eco.mont-2-1s23

3. Golovko T.K., Shelyakin M.A., Zakhochiy I.G., Tabalenkova G.N., Pystina T.N. The response of lichens to the environmental pollution under the bauxite mining in the taiga zone // Theoretical and Applied Ecology. 2018. No. 2. P. 44–53 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2018-2-044/2-053/1

4. Koroleva Y., Revunkov V. Air pollution monitoring in the south-east Baltic using the epiphytic lichen *Hypogymnia physodes* // Atmosphere. 2017. V. 8. No. 7. P. 119–131. doi: 10.3390/atmos8070119

5. Nieboer E., Richardson D.H., Tomassini F.D. Mineral uptake and release by lichens: an overview // Bryologist. 1978. V. 81. No. 2. P. 226–246.

6. Moskovchenko D.V., Valeeva E.I. Heavy metal contents in lichens of the northern West Siberia // Vestnik ekologii, lesovedeniya i landshaftovedeniya. 2011. V. 11. P. 162–172 (in Russian).

7. GN 2.1.7.2041-06. Maximum allowed concentrations (MAC) of chemicals in the soil. Moskva: Federalnyy tsentr gigiyeny i epidemiologii Rospotrebnadzora, 2006. 15 p. (in Russian).

8. GN 2.1.7.2511-09. Approximate allowed concentrations (AAC) of chemicals in the soil. Ministry of Justice of

Russia. Moskva: Federalnyy tsentr gigiyeny i epidemiologii Rospotrebnadzora, 2009. 10 p. (in Russian).

9. Shevchenko V.P., Starodymova D.P., Kutenkov S.A., Vinogradova A.A., Gordeev V.V., Demina L.L., Ivanova Yu.A., Filippov A.S. Heavy metal contents in fruticous epiphytic lichens of Karelia as an indicator of atmospheric transfer of pollutants // Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2011. No. 3. [Internet resource] <http://www.science-education.ru/97-4692> (Accessed: 11.11.2018) (in Russian).

10. Zakutnova V.I., Pilepenko T.A. Influence of heavy metals on lichens // Vestnik OGU. 2012. No. 12. P. 112–116 (in Russian).

11. Chernykh N.A., Ovcharenko M.M. Heavy metals and radionuclides in biogeocenoses. Moskva: Agrokonsalt, 2002. 196 p. (in Russian).

12. Meysurova A.F., Notov A.A. Metal contents in lichens from nature reserves adjacent to urban ecosystems // J. Applied Spectroscopy. 2016. V. 83. No. 5. P. 832–839. doi: 10.1007/s10812-016-0371-5

13. Anishchenko L.N., Safrankova E.A. Heavy metal accumulation abilities of lichens in small cities of the Bryansk region (Russia's south Nonblack soil zone) // Vestnik Udmurtskogo gosudarstvennogo universiteta. 2014. V. 3. P. 7–13 (in Russian).



## Сорбционное взаимодействие ионов золота и его элементов-спутников с гуминовыми кислотами торфянисто-подзолистых почв

© 2020. В. А. Коршунова<sup>1</sup>, инженер, Е. Д. Лодыгин<sup>2</sup>, д. б. н., в. н. с.,  
 М. В. Чарыкова<sup>1</sup>, д. г.-м. н., профессор, С. Н. Чуков<sup>1</sup>, д. б. н., профессор,  
<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет,  
 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9,  
<sup>2</sup>Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,  
 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,  
 e-mail: vera\_korshunova@mail.ru, lodigin@ib.komisc.ru

Целью работы является экспериментальное моделирование взаимодействия с гуминовыми кислотами ионов мышьяка, меди, свинца. Актуальность и выбор объектов исследования обусловлены слабой изученностью кинетических характеристик взаимодействия ионов тяжёлых металлов с гуминовыми кислотами. Эти элементы являются, с одной стороны, распространёнными поллютантами, накапливающимися в почвах, подверженных антропогенному воздействию, а с другой стороны – элементами-спутниками золота, которые используются в качестве индикаторов золотого оруденения при геохимических поисках по вторичным ореолам рассеяния. Эксперимент проводился в интервале концентраций растворов от 5 до 100 мкг/см<sup>3</sup> и при температуре 298 К. Экспериментально полученные изотермы адсорбции описаны с помощью эмпирического уравнения Фрейндлиха и модели мономолекулярной адсорбции Ленгмюра. Проведён модельный эксперимент по влиянию ионов Fe<sup>3+</sup> на сорбцию ионов золота, что актуально при определении форм нахождения золота в рыхлых отложениях в присутствии оксидов и гидроксидов железа. Показано, что увеличение концентрации железа практически не влияет на количество сорбированных ионов золота в исследуемом интервале концентраций.

**Ключевые слова:** сорбция, гуминовые кислоты, мышьяк, золото, медь, свинец.

## Sorption interaction of gold and its pathfinder elements with humic acids of peat-podzolic soils

© 2020. V. A. Korshunova<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-3189-2801, E. D. Lodygin<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-0675-524X,  
 M. V. Charykova<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-8311-0325, S. N. Chukov<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-8425-8804,  
<sup>1</sup>St.-Petersburg State University,  
 7–9, University Embankment, Saint-Petersburg, Russia, 199034,  
<sup>2</sup>Institute of Biology of Komi Science Center of the Ural Branch  
 of the Russian Academy of Sciences  
 28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,  
 e-mail: vera\_korshunova@mail.ru, lodigin@ib.komisc.ru

The aim of research is experimental modeling of arsenic, copper, and lead ions interaction with humic acids (HAs). Importance of that study and choice of study subjects is caused by poor knowledge of kinetic properties of heavy metals and humic substances interaction. Those elements are, on the one hand, common pollutants accumulated in soils under anthropogenic impact, and on the other hand – satellite elements for gold deposits, which are used as indicators of gold mineralization in geochemical survey. The experiment was carried out in the range of heavy metals concentrations from 5 to 100 µg/cm<sup>3</sup> in solution and at temperature of 298 K. The equilibrium concentrations of the elements were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry. The experimental adsorption isotherms are described with the empirical Freundlich equation and the Langmuir monomolecular adsorption model. It was shown that the Langmuir model adequately describes the adsorption isotherms of Cu<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> cations in the used concentration range. The sorption equilibrium constant and the limit adsorption were calculated for these elements. The sorption of arsenic is better described with the Freundlich equation. Apparently, it is characterized by complex character of sorption interactions associated with a possible polymolecular adsorption mechanism, as well as with the change of form of arsenic in solution. A simulation experiment of influence of Fe<sup>3+</sup> ions onto the sorption of gold ions was conducted, which is important for determination of gold's migration forms in soils with presence of iron oxides and hydroxides. It was shown that the increase of iron concentration had almost no effect on the amount of sorbed gold ions in the studied concentration range.

**Keywords:** sorption, humic acids, arsenic, gold, copper, lead.

Антропогенная деятельность приводит к изменениям в структуре и функциях различных природных комплексов: изменяются темпы и направления миграции химических элементов, перемещаются зоны их накопления и выноса [1–3]. Тяжёлые металлы (ТМ) уже сейчас занимают второе место по степени опасности, уступая лишь пестицидам и заметно опережая такие широко известные загрязнители, как оксиды серы и углерода. Загрязнение ТМ обусловлено их широким применением в сельском хозяйстве и промышленном производстве. В связи с несовершенными системами очистки промышленных отходов и выбросов, ТМ попадают в окружающую природную среду, загрязняя и отравляя её [4]. ТМ относятся к особо токсичным загрязняющим веществам, наблюдения за которыми обязательны во всех средах [5]. По разным причинам окружающая среда оказывается перегруженной соединениями ТМ. Вследствие высокой биологической активности ионов ТМ, они, попадая в почву, включаются в разной степени в биологический круговорот [6]. К настоящему времени накоплено немало данных о связывании ТМ гуминовыми (ГК) и фульвокислотами (ФК) [7, 8]. Существующие модели связывания ионов ТМ основаны на взаимодействии с О- и N-содержащими функциональными группами, приуроченными к ароматическим фрагментам [9, 10]. При этом вопрос об эффективности связывания таких поллютантов остаётся открытым. Слабая изученность кинетических характеристик взаимодействия ионов ТМ с ГК обуславливает актуальность темы и выбор объектов исследования.

Учёт и количественная оценка взаимодействия ионов металлов с ГК необходимы при решении не только экологических, но и целого ряда других задач, связанных с изучением миграции и форм нахождения химических элементов в объектах окружающей среды [11, 12].

Целью работы являлось построение изотерм адсорбции и определение на их основе сорбционной ёмкости гуминовых кислот по отношению к исследуемым элементам, а также оценка характера сорбционных процессов.

### Материалы и методы исследований

Экстракцию ГК проводили из воздушно-сухого образца почв путём двукратной экстракции раствором 0,1 моль/дм<sup>3</sup> NaOH (соотношение почва раствор 1 : 10). Далее к

щелочному экстракту добавляли насыщенный раствор Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (20% от объёма экстракта) для коагуляции коллоидных частиц и центрифугировали в течение 1 ч при 12000 об./мин. Гуминовые кислоты осаждали в очищенном экстракте добавлением 10%-ного раствора H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, доводя pH раствора до 2. Очистку ГК проводили диализом, затем сушили при температуре 40 °С, растирали в агатовой ступке и просеивали через сито с d = 0,25 мм.

Для изучения сорбции ионов золота, мышьяка, меди и свинца на ГК готовили исходные растворы, содержащие ионы металлов, с концентрациями: 5, 10, 25, 35, 50, 75 и 100 мкг/см<sup>3</sup> из растворов государственных стандартных образцов (ГСО), которые разбавляли 1 ммоль/дм<sup>3</sup> раствором HNO<sub>3</sub>. Величина pH приготовленных растворов была в пределах 3,0–3,1. Исходные ГСО ионов меди и свинца (ГСО 7836-2000 и ГСО 7877-2000) приготовлены на основе растворов HNO<sub>3</sub>, а ГСО ионов As<sup>3+</sup> и Au<sup>3+</sup> (ГСО 7976-2001 и ГСО 8429-2003) – на основе растворов HCl. Серию из семи стеклянных колб вместимостью 100 см<sup>3</sup> с пришлифованными пробками помещали в термостат, в каждую из колб вносили навеску воздушно-сухого препарата ГК 50 мг, добавляли по 25 см<sup>3</sup> растворов ТМ с нарастающей концентрацией от 5 до 100 мкг/см<sup>3</sup>. Растворы перемешивали в течение 1 час на шейкере. После установления адсорбционного равновесия отделяли взвешенные частицы от раствора путём фильтрации через мембранный фильтр «Millipore» с диаметром пор 0,22 μm. Эксперимент проводили при температуре 25 °С в трёхкратной повторности.

Определение равновесных концентраций ионов ТМ в фильтрате проводили методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на приборе ELAN 6100 DRC.

Удельную избыточную адсорбцию Гиббса рассчитывали по уравнению:

$$\frac{x}{m} = \frac{(c_0 - c_p) \cdot V}{m},$$

где  $x/m$  – количество сорбированных ионов исследуемых элементов на единицу массы ГК, моль/г;  $c_p$  – равновесная молярная концентрация ионов в растворе после сорбции, моль/дм<sup>3</sup>;  $V$  – объём раствора, дм<sup>3</sup>.

Полученные изотермы адсорбции теоретически могут быть описаны на основе двух уравнений:

1) эмпирического уравнения Фрейндлиха, которое обычно используют для

представления среднего участка изотермы адсорбции [13]:

$$x/m = K_{Fr} \cdot c_p^{1/n}$$

или в линейной форме:

$$\lg(x/m) = \lg K_{Fr} + 1/n \cdot \lg c_p,$$

где  $K_{Fr}$  – константа Фрейндлиха, которая представляет собой количество адсорбированного вещества при равновесной концентрации, равной единице;  $1/n$  – константа, значение которой равно правильной дроби;

2) модельного уравнения мономолекулярной адсорбции Ленгмюра, описывающего изотерму адсорбции во всем интервале концентраций [9]:

$$x/m = Q_{max} \cdot (K_{sorb} \cdot c_p) / (1 + K_{sorb} \cdot c_p)$$

или в линейной форме:

$$c_p/x/m = 1/(K_{sorb} \cdot Q_{max}) + (1/Q_{max}) \cdot c_p,$$

где  $K_{sorb}$  – константа адсорбции,  $dm^3/моль$ ;  $Q_{max}$  – максимальная сорбционная ёмкость,  $моль/г$ .

### Результаты и обсуждение

В настоящее время существуют два основных подхода к исследованию взаимодействий ионов металлов с ГК в водной среде. Первый заключается в исследовании взаимодействия

ионов металлов с дисперсиями препаратов ГК [8, 9], в силу их крайне низкой растворимости в воде, или с нативным торфом [14], второй – в исследовании взаимодействия ионов металлов с растворёнными гумусовыми веществами [15]. В нашей работе исследования сорбции ионов меди, свинца, мышьяка и золота на препаратах ГК были осуществлены в рамках первого подхода. Результаты представлены в таблице 1.

При построении изотерм сорбции ионов ТМ (рис.) установлено, что изотермы не выходят на плато. Полученные данные свидетельствуют, что концентрация ионов ТМ в эксперименте (до  $100 \text{ мкг/дм}^3$ ) недостаточна для предельной сорбции.

На основе определения коэффициентов линейной регрессии были рассчитаны параметры уравнения Фрейндлиха в линейной форме и параметры линейной формы уравнения мономолекулярной адсорбции Ленгмюра – константы адсорбции ионов и их предельная адсорбция в расчёте на единицу массы ГК (табл. 2). Более высокие коэффициенты корреляции для последних уравнений позволяют нам утверждать, что модельное уравнение мономолекулярной адсорбции Ленгмюра адекватно описывает изотермы сорбции катионов  $Cu^{2+}$  и  $Pb^{2+}$  во всей области исследованных концентраций. Этот вариант описания изотермы сорбции имеет преимущество перед уравнением Фрейндлиха, которое применимо для ограниченного интервала концентраций, и, в нашем случае, характеризуется меньшими значениями коэффициентов корреляции.

Таблица 1 / Table 1

Данные по сорбции ионов  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  и As  
Data on the sorption of ions  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  and As

Равновесная концентрация ионов, ммоль/дм <sup>3</sup> Equilibrium concentration of ions, mmol/dm <sup>3</sup>			Количество адсорбированных ионов на единицу массы ГК, ммоль/г The number of adsorbed ions per unit mass of HAs, mmol/g		
$Cu^{2+}$	$Pb^{2+}$	As*	$Cu^{2+}$	$Pb^{2+}$	As*
0,985	0,387	1,148	0,284	0,583	0,093
0,609	0,273	0,879	0,277	0,527	0,061
0,297	0,164	0,565	0,246	0,431	0,051
0,141	0,098	0,431	0,206	0,330	0,018
0,063	0,058	0,300	0,167	0,237	0,017
0,002	0,014	0,124	0,078	0,075	0,006
0,001	0,004	0,055	0,037	0,024	0,005

Примечание: \* – приводятся значения суммарной концентрации ионов As, формы нахождения которого в зависимости от условий эксперимента могут быть различными ( $H_2AsO_4^-$ ,  $H_3AsO_3$ ,  $H_3AsO_4$  и др.).

Note: \* – values of the total concentration of As ions are given, the forms of which can be different depending on the experimental conditions ( $H_2AsO_4^-$ ,  $H_3AsO_3$ ,  $H_3AsO_4$ , etc.).

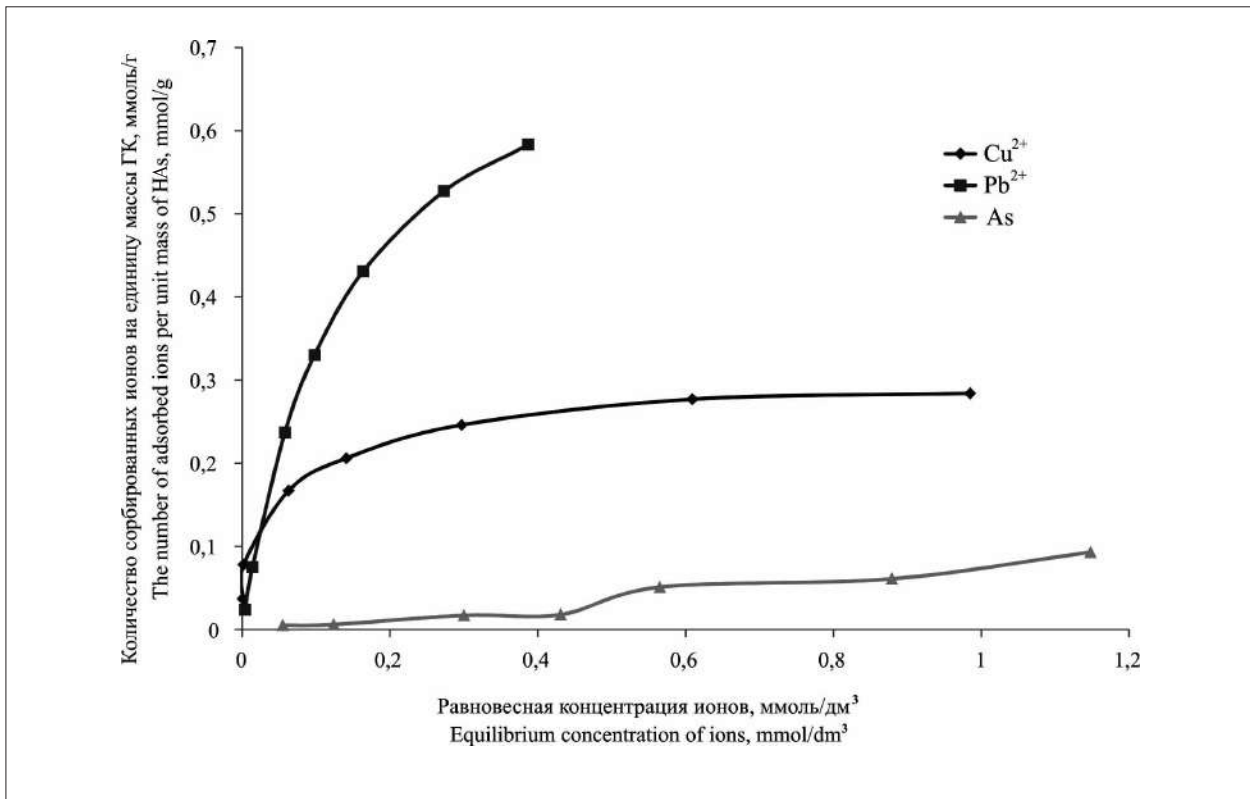


Рис. Изотермы сорбции ионов  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  и As на ГК  
 Fig. Sorption isotherms of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and As ions with HAs

Таблица 2 / Table 2

Параметры сорбции ионов  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  и As препаратами ГК и коэффициенты корреляции ( $r$ )  
 Sorption parameters of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and As ions with HAs and correlation coefficients ( $r$ )

Ион Ion	Параметры уравнения Фрейндлиха Freundlich equation parameters			Параметры уравнения Ленгмюра Langmuir equation parameters		
	$K_{Fr}$	$1/n$	$r$	предельная удельная адсорбция, ммоль/г maximum specific adsorption, mmol/g	константа сорбционного равновесия sorption equilibrium constant	$r$
$\text{Cu}^{2+}$	$(2,14 \pm 0,10) \cdot 10^{-3}$	$0,273 \pm 0,029$	0,973	$0,290 \pm 0,008$	$31000 \pm 11000$	0,998
$\text{Pb}^{2+}$	$(190 \pm 50) \cdot 10^{-3}$	$0,71 \pm 0,05$	0,989	$0,778 \pm 0,006$	$7650 \pm 90$	0,999
As*	$(79 \pm 29) \cdot 10^{-3}$	$1,01 \pm 0,13$	0,963	—**	—	—

Примечание: \* – приводятся значения суммарной концентрации ионов As, формы нахождения которого в зависимости от условий эксперимента могут быть различными ( $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$ ,  $\text{H}_3\text{AsO}_3$ ,  $\text{H}_3\text{AsO}_4$  и др.); \*\* – данные отсутствуют.

Note: \* – values of the total concentration of As ions are given, the forms of which can be different depending on the experimental conditions ( $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$ ,  $\text{H}_3\text{AsO}_3$ ,  $\text{H}_3\text{AsO}_4$ , etc.); \*\* – no data available.

Кроме того, уравнение Ленгмюра следует из определённой модели адсорбции и в рамках этой модели параметры  $K_{sorb}$  и  $Q_{max}$  имеют строгий термодинамический смысл – константы сорбционного равновесия и предельной удельной адсорбции. Сорбция мышьяка хуже описывается с помощью этого уравнения, что, по-видимому, указывает на более сложный характер сорбционных взаимодействий,

связанный с возможным полимолекулярным механизмом адсорбции, а также с изменением формы нахождения мышьяка в растворе. В этом случае экспериментальные данные с меньшей погрешностью описываются эмпирическим уравнением Фрейндлиха.

Из таблицы 2 следует, что предельная удельная адсорбция ионов  $\text{Pb}^{2+}$  статистически достоверно выше, чем ионов  $\text{Cu}^{2+}$ .

Таблица 3 / Table 3

Данные по сорбции ионов золота и железа из смешанных растворов  
Data on the sorption of gold and iron ions from mixed solutions

Равновесная концентрация ионов, ммоль/дм <sup>3</sup> Equilibrium concentration of ions, mmol/dm <sup>3</sup>		Количество адсорбированных ионов на единицу массы ГК, ммоль/г The number of adsorbed ions per unit mass of HAs, mmol/g	
Au <sup>3+</sup>	Fe <sup>3+</sup>	Au <sup>3+</sup>	Fe <sup>3+</sup>
0,080	15,179	0,011	0,003
0,081	20,000	0,011	0,025
0,051	117,679	0,011	0,074
0,056	447,321	0,012	0,106

В природных условиях существенное влияние на миграционные характеристики химических элементов и на их сорбционные свойства оказывают конкурирующие ионы. Этот аспект, в частности, важен для изучения совместной миграции этих элементов в рыхлых отложениях при разрушении коренных пород с образованием вторичных ореолов рассеяния.

Нами был проведён модельный эксперимент по влиянию ионов Fe<sup>3+</sup> на сорбцию ионов Au<sup>3+</sup>, что актуально при определении форм нахождения золота в рыхлых отложениях в присутствии оксидов и гидроксидов железа. Также, как и в случае мышьяка, здесь сложно однозначно указать формы нахождения химических элементов в растворах, поэтому в таблице приведены суммарные концентрации Au<sup>3+</sup> и Fe<sup>3+</sup>. Поскольку исходный ГСО для золота приготовлен на основе сильноокислого раствора HCl, ионы золота, очевидно, присутствуют преимущественно в виде хлоридных комплексов, однако относительно состава комплексных ионов – [AuCl<sub>4</sub>]<sup>-</sup>, [AuCl<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, [AuCl<sub>x</sub>OH<sub>y</sub>]<sup>-</sup> – в литературе существуют различные мнения [16–18]. Что касается преобладающих форм нахождения Fe<sup>3+</sup> в равновесных растворах (исходный ГСО 7835-2000), то и здесь возможны различные варианты – в кислой среде это могут быть свободные ионы Fe<sup>3+</sup> или гидроксокомплексы [FeOH]<sup>2+</sup> [18], а в присутствии соляной кислоты, входящей в состав ГСО ионы Fe<sup>3+</sup>, могут образоваться также хлоридные комплексы различного состава от [FeCl]<sup>2+</sup> до [FeCl<sub>4</sub>]<sup>-</sup>.

Как видно из таблицы 3, увеличение концентрации ионов Fe<sup>3+</sup> практически не влияет на количество сорбированных ионов золота в исследуемом интервале концентраций, что свидетельствует о лучшей сорбционной способности ионов золота, которая может быть обусловлена большим ионным радиусом и, как следствие, более сильной поляризацией и способностью притягиваться заряжен-

ной поверхностью молекул ГК. Кроме того, например, сорбция ионов [AuCl<sub>4</sub>]<sup>-</sup> на ГК может сопровождаться реакцией восстановления ионов Au<sup>3+</sup>. Вероятность протекания такой реакции будет определяться соотношением окислительно-восстановительных потенциалов реагирующих веществ. Стандартный окислительно-восстановительный потенциал для системы [AuCl<sub>4</sub>]<sup>-</sup> + 3e<sup>-</sup> ↔ Au + 4Cl<sup>-</sup> составляет 0,99 В [19]. Растворы ГК имеют разброс значений окислительно-восстановительного потенциала в пределах 0,5–0,7 В, что обусловлено их различным составом, степенью гумификации и наличием примесей. Можно сделать вывод, что ГК способны восстанавливать окисленные формы окислительно-восстановительных пар с потенциалом ≥ 0,7 В.

### Заключение

Проведённые эксперименты позволили построить изотермы адсорбции и количественно оценить предельную сорбционную ёмкость гуминовых кислот по отношению к ионам мышьяка, меди и свинца. Эти элементы являются, с одной стороны, распространёнными токсикантами, накапливающимися в почвах, подверженных антропогенному воздействию, а с другой стороны – элементами-спутниками золота, которые используются в качестве индикаторов золотого оруденения при геохимических методах поисков по вторичным ореолам рассеяния в почвенных горизонтах. Установлено, что увеличение концентрации ионов Fe<sup>3+</sup> практически не влияет на количество сорбированных ионов золота в исследуемом интервале концентраций, что свидетельствует о лучшей сорбционной способности ионов золота. Показано, что ГК способны восстанавливать окисленные формы ионов Au<sup>3+</sup>.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-05-00866). При вы-*

полнении работы использовалось оборудование Ресурсного центра СПбГУ «Геомодель».

## References

1. Il'in V.B., Syso A.I., Baidina N.L., Konarbaeva G.A., Cherevko A.S. Background concentrations of heavy metals in soils of southern Western Siberia // *Eurasian Soil Science*. 2005. V. 36. No. 5. P. 494–500.
2. Beznosikov V.A., Lodygin E.D., Kondratenok B.M. Assessment of background concentrations of heavy metals in soils of the northeastern part of European Russia // *Eurasian Soil Science*. 2007. V. 40. No. 9. P. 949–955. doi: 10.1134/S1064229307090049
3. Beznosikov V.A., Lodygin E.D., Chukov S.N. Landscape-geochemical assessment of the background metal content in the soil of the taiga zone // *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Seriya 3: Biologiya*. 2010. No. 2. P. 114–128 (in Russian).
4. Vodyanitskii Y.N., Plekhanova I.O. Biogeochemistry of heavy metals in contaminated excessively moistened soils (analytical review) // *Eurasian Soil Science*. 2014. V. 47. No. 3. P. 153–161. doi: 10.1134/S1064229314030090
5. SanPiN 2.1.7.1287-03. Sanitary and epidemiological requirements for soil quality. Moskva: Federalnyy tsentr gossanepidnadzora Minzdrava Rossii, 2004. 16 p. (in Russian).
6. Golovko T.K., Shelyakin M.A., Zakhochiy I.G., Tabalenkova G.N., Pystina T.N. The response of lichens to the environmental pollution under the bauxite mining in the taiga zone // *Theoretical and Applied Ecology*. 2018. No. 2. P. 44–53 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4304-2018-2-044/2-053/1
7. Gezici O., Kara H., Ayar A., Topkafa M. Sorption behavior of Cu(II) ions on insolubilized humic acid under acidic conditions: An application of Scatchard plot analysis in evaluating the pH dependence of specific and nonspecific bindings // *Separation and Purification Technology*. 2007. V. 55. P. 132–139. doi: 10.1016/j.seppur.2006.11.012
8. Vasilevich R.S., Beznosikov V.A., Lodygin E.D., Kondratenok B.M. Complexation of mercury(II) ions with humic acids in tundra soils // *Eurasian Soil Science*. 2014. V. 47. No. 3. P. 162–172. doi: 10.1134/S1064229314030089
9. Ying L., Qinyan Y., Baoyu G., Qian L., Chunling L. Adsorption thermodynamic and kinetic studies of dissolved chromium onto humic acids // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2008. V. 65. P. 25–29. doi: 10.1016/j.col-surf.2008.02.014
10. Lodygin E.D., Beznosikov V.A. The molecular structure and elemental composition of humic substances from Albeluvisols // *Chemistry and Ecology*. 2010. V. 26. No. 4. P. 87–95. doi: 10.1080/02757540.2010.497759
11. Korshunova V.A., Sergeev A.V., Charykova M.V. Movable forms of finding gold and satellite elements in the secondary halos of dispersion of the New Pesky gold ore manifestation (South Karelia) // *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Nauki o Zemle*. 2017. V. 62. No. 1. P. 45–62 (in Russian).
12. Korshunova V.A., Charykova M.V. Metal-organic forms of gold and satellite elements in podzolic soils in the territory of the gold deposit New Peski (South Karelia) // *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Nauki o Zemle*. 2018. V. 63. No. 1. P. 22–35 (in Russian).
13. Ashley J.T.F. Adsorption of Cu(II) and Zn(II) by estuarine, riverine and terrestrial humic acids // *Chemosphere*. 1996. V. 33. No. 11. P. 2175–2187. doi: 10.1016/0045-6535(96)00324-4
14. Smith E.J., Rey-Castro C., Longworth H., Lofts S., Lawlor A.J., Tipping E. Cation binding by acid-washed peat, interpreted with Humic Ion-Binding Model VI-FD // *European Journal of Soil Science*. 2004. V. 55. No. 3. P. 433–447. doi: 10.1111/j.1365-2389.2004.00607.x
15. Mou J., Shi W., Li C., Wang G. Complexation and sorption studies of Co(II) with -alumina-bound ulvic acid: Effect of pH, ionic strength, ulvic acid and alumina concentration // *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2012. V. 291. No. 3. P. 1099–1104. doi: 10.1007/s10967-011-1567-z
16. Tosiani T. Low temperature Au – humic acid interaction experiments: implication for Au transport in surface conditions // *Miner. Magazine*. 1998. V. 62 A. P. 1531–1532.
17. Ran Y., Jiamo F., Rate A.W., Gilkes R.J. Adsorption of Au(I, III) complexes on Fe, Mn oxides and humic acid // *Chemical Geology*. 2002. V. 185. P. 33–49.
18. *Chemist Handbook*. V. 3 / Ed. B.P. Nikolskiy. Moskva-Leningrad: Khimiya, 1965. 1005 p.
19. Lurie Yu.Yu. *Handbook of Analytical Chemistry*. Moskva: Khimiya, 1971. 456 p. (in Russian).

## Оценка влияния городской среды на видовое разнообразие и физиолого-биохимические особенности лишайников

© 2020. А. В. Пунгин, к. г. н., старший преподаватель,  
 К. В. Чайка, к. б. н., доцент,  
 П. В. Федурев, к. б. н., старший преподаватель,  
 Н. В. Николаева, студент, А. С. Коломиец, студент,  
 Балтийский федеральный университет им. И. Канта,  
 236040, Россия, г. Калининград, ул. Университетская, д. 2,  
 e-mail: APungin@kantiana.ru

В статье приведены результаты оценки влияния микроклиматических параметров местообитаний и эмиссии аммиака на видовое разнообразие и физиолого-биохимические особенности лишайников. Исследование проводилось в 2018–2019 гг. на 4 пробных площадках в Калининградской области (Россия) и на 14 пробных площадках, размещённых как в центральной части г. Калининграда, так и на окраине. Выявлено увеличение среднесуточной температуры и снижение влажности воздуха и температуры точки росы в местах обитания лишайников в центральной части г. Калининграда по сравнению с окраиной города, а также пробными площадками на территории региона. Вероятно, установленные различия в микроклиматических параметрах местообитаний лишайников отражают эффект городского острова тепла. На 18 пробных площадках было обнаружено 63 вида эпифитных лишайников. Установлено, что увеличение содержания аммиака в атмосферном воздухе приводит к снижению частоты встречаемости чувствительных экологических и функциональных групп лишайников, при этом повышается частота встречаемости толерантных групп. Выявлены сильные положительные корреляционные связи между содержанием аммиака в атмосферном воздухе и физиолого-биохимическими параметрами *Parmelia sulcata*, такими как содержание азота, хлорофилла *a* и хлорофилла *b*. Также была показана связь распространения отдельных видов и групп с микроклиматическими параметрами местообитаний.

**Ключевые слова:** лишайники, город, микроклимат, качество воздуха, аммиак.

## Assessment of the influence of the urban environment on species diversity and physiological and biochemical characteristics of lichens

© 2020. A. V. Pungin ORCID: 0000-0001-8374-3907, Ch. V. Chaika ORCID: 0000-0003-1390-1476,  
 P. V. Feduraev ORCID: 0000-0002-7577-6132, N. V. Nikolaeva ORCID: 0000-0002-6323-4862,  
 A. S. Kolomiets ORCID: 0000-0002-9142-6837,  
 Immanuel Kant Baltic Federal University,  
 2, Universitetskaya St., Kaliningrad, Russia, 236040,  
 e-mail: APungin@kantiana.ru

The article presents the results of assessing the influence of microclimatic parameters of habitats and ammonia emissions on the species diversity and physiological and biochemical characteristics of lichens. The study was conducted in 2018–2019 at 4 sample areas in the Kaliningrad region (Russia) and at 14 sample areas located both in the central part of Kaliningrad and on the outskirts. An increase in the average daily temperature and a decrease in air humidity and dew point temperature were revealed in the habitats of lichens in the central part of Kaliningrad as compared to the outskirts of the city, as well as sample areas in the region, which reflects the presence of the urban heat island in Kaliningrad. 63 species of epiphytic lichens were found at 18 sample areas. To identify the impact of the studied factors of the urban environment, the average frequency of occurrence of both individual species and taxonomic, ecological, and functional groups of species was calculated. It was found that an increase in the ammonia content in atmospheric air leads to a decrease in the frequency of occurrence of sensitive ecological and functional groups of lichens (Spearman correlation coefficient  $r_s = -0.50$ ;  $p \leq 0.05$ ), while the frequency of occurrence of tolerant groups increases ( $r_s = 0.52$ ;  $p \leq 0.05$ ). Strong positive correlation was found between the ammonia content in atmospheric air and the physiological and biochemical parameters of *Parmelia sulcata*: with the content of chlorophyll *a* ( $r_p = 0.84$ ;  $p \leq 0.001$ ), chlorophyll *b* ( $r_p = 0.77$ ;  $p \leq 0.001$ ) and nitrogen ( $r_p = 0.88$ ;  $p \leq 0.001$ ). It was shown that the frequency of occurrence of individual groups and species of lichens is associated not only with the impact of ammonia emissions, but also determined by

microclimatic parameters. Thus, an analysis of data for 2018 showed a moderate positive relationship between the dew point temperature of lichen habitats and the value of the diversity value of the reference species ( $FDW_{Ref}$ ) ( $r_s = 0.68$ ,  $p \leq 0.001$ ), air temperature, and the diversity value of the indicators of eutrophication ( $FDW_{Eu}$ ) ( $r_s = 0.51$ ,  $p \leq 0.05$ ) and a moderate negative relationship between relative humidity and  $FDW_{Eu}$  ( $r_s = -0.54$ ,  $p \leq 0.05$ ). An analysis of the data for 2019 showed a weak positive relationship between air temperature and  $FDW_{Eu}$  ( $r_s = 0.47$ ,  $p \leq 0.05$ ). The frequency of occurrence of *Hypogymnia physodes* has a strong negative relationship with air temperature ( $r_s = -0.77$ ,  $p \leq 0.01$ ), in turn, species such as *Melanohalea exasperatula*, *Xanthoria candelaria* and *X. polycarpa* have a positive relationship ( $r_s = 0.50$ ,  $p \leq 0.05$ ). The results obtained significantly complement the understanding of the distribution process of individual species and groups of lichen species and the acting limiting factors in urban areas.

**Keywords:** lichens, urban ecosystem, microclimate, air quality, ammonia.

Известно, что на урбанизированных территориях формируются особые климатические условия, которые связаны с изменением рельефа, присутствием искусственных потоков тепла, загрязнением воздуха, снижением испарения, что формирует эффект городского острова тепла, характеризующийся более высокой средней температурой, более низкой влажностью воздуха и более редкой конденсацией влаги, чем на окраине города и прилегающих территориях [1–3].

Лишайники, заселяющие городские районы, чутко реагируют на изменения различных факторов местообитаний [4–7]. Значительное количество исследований посвящается оценке степени воздействия экотоксикантов на видовой состав и функционирование объектов лишайнобиоты, в то время как работ, направленных на изучение роли климатических факторов городской среды (влажность воздуха, температура, инсоляция) неоправданно мало [4, 6]. Суровые условия городских территорий могут быть важным ограничивающим фактором для распространения пойкилогидридных организмов – лишайников, чей метаболизм зависит от воды, поступающей из окружающей среды [5, 6, 8]. Поскольку условия на урбанизированных территориях характеризуются многофакторностью и сочетанностью воздействий загрязнения воздуха и микроклиматических параметров, целью нашей работы являлось изучение воздействия загрязнения воздуха и микроклиматических параметров урбанизированных территорий на видовое разнообразие и физиолого-биохимические особенности лишайников.

### Материалы и методы

Исследование проводили на 18 пробных площадках в Калининградской области (Россия), с акцентом на г. Калининград, где 13 пробных площадок были размещены в центральной части города и одна площадка (№ 10) – на его окраине (рис. 1). Также были исследованы по две территории на западе региона:

на окраинах приморских городов-курортов – лесопарковая зона в г. Светлогорске (№ 11) и Зеленоградске (№ 15) и на востоке области – в окрестностях пос. Пугачево (№ 17, 18). Выбор пробных площадок был основан на ранее проведенных исследованиях [9] и рекогносцировочном обследовании 2018–2019 гг.

Оценку видового разнообразия лишайников, а также биоиндикационную оценку качества воздуха осуществляли с применением стандартизированной методики [8], были рассчитаны значения разнообразия лишайников для видов-индикаторов эвтрофикации ( $FDW_{Eu}$ ) и для референтных видов ( $FDW_{Ref}$ ), определен индекс качества воздуха (LGI).

Оценку микроклиматических параметров мест произрастания лишайников, таких как относительная влажность ( $RL$ ), температура воздуха ( $Lt$ ) и температура точки росы ( $Tr$ ), осуществляли на каждой площадке с применением датчика UNI-T UT330C USB. Параметры фиксировали каждые 5 мин с 17 июля по 3 августа 2018 г. и с 2 августа по 14 августа 2019 г. Параллельно осуществляли сбор данных по эмиссии аммиака ( $NH_3$ ) с применением адсорбционного метода пассивного сбора аммиака (Radiello–RAD168). Изменения физиологических показателей анализировали путём определения содержания фотосинтетических пигментов (хлорофилла  $a$  и хлорофилла  $b$ ) и азота в талломе *Parmelia sulcata* Taylor (98 проб). Экстракцию 99% раствором диметилсульфоксида и расчёт содержания фотосинтетических пигментов производили по методике Барнеса [11]. Определение общего содержания азота в пробах выполняли на CHNS-анализаторе «Elementar Vario EL cube».

Статистический анализ проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics 23 (ANOVA с критерием HSD, коэффициент корреляции Спирмена ( $r_s$ ) и Пирсона ( $r_p$ )). Канонический анализ соответствия (ССА) был выполнен с использованием программы



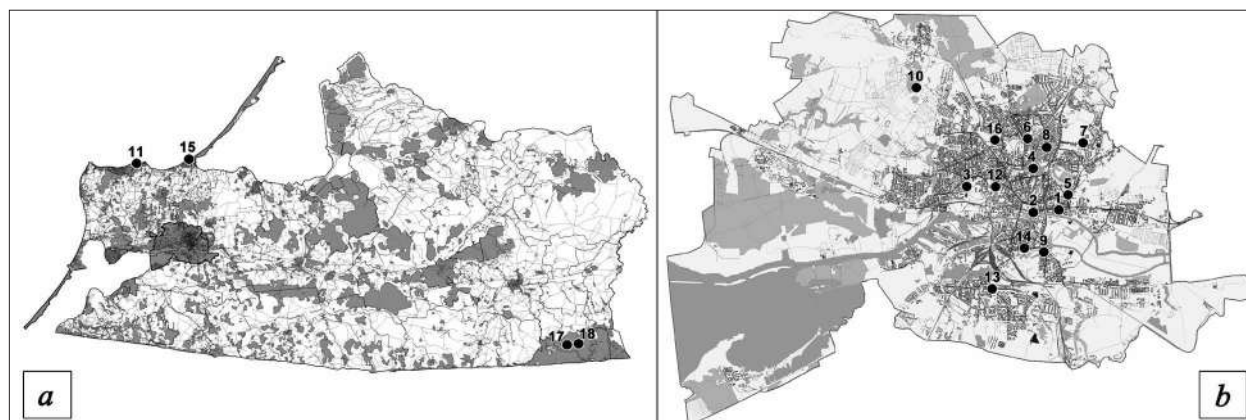


Рис. 1. Расположение пробных площадок в Калининградской области (а) и в городе Калининграде (б)  
 Fig. 1. Position of the sample areas in the Kaliningrad region (a) and in the Kaliningrad city (b)

XLSTAT 2018.7. Для выявления связей между лишенобиотой и микроклиматическими параметрами местообитаний и эмиссией аммиака были произведены расчёты средней частоты встречаемости отдельных видов и функциональных групп видов, которые максимально распространены на исследуемых территориях (минимум 6 пробных площадок). На основании ранее проведённых исследований [3, 5, 12], были выделены следующие группы видов, экологические и функциональные группы лишайников: группа *Candelariella reflexa* (*ref*); группа *Phaeophyscia* и *Hyperphyscia* (*phhy*); экологические группы – холодолюбивые (*kühl*) и теплолюбивые (*wärm*); сциофиты (*sci*) и гелиофиты (*hel*); мезогигрофиты (*hyg*), мезофиты (*mes*), ксерофиты (*xer*); ацидофилы (*acid*) и нейтрофилы (*neut*); олиготрофы (*olig*) и нитрофиты (индикаторы эвтрофикации) (*eutr*); суммарно нейтрофилы и нитрофиты (*NeEu*), а также ацидофилы и олиготрофы (*AcOl*); накипные (*Kru*), кустистые (*Str*) и листоватые, которые разделили на широколопастные (*grBl*) и узколопастные (*scBl*); суммарно кустистые и крупнолопастные (*StBl*); функциональные группы индикаторов эвтрофикации (*VDIeu*) и референтных видов (*VDIref*) [10]. Также были рассчитаны такие переменные, как общее число видов на пробной площадке (*sum\_alle*), сумма частот всех лишайников (*mF\_alle*) и частота встречаемости эпифитных лишайников (*mA\_Ep*).

### Результаты и обсуждение

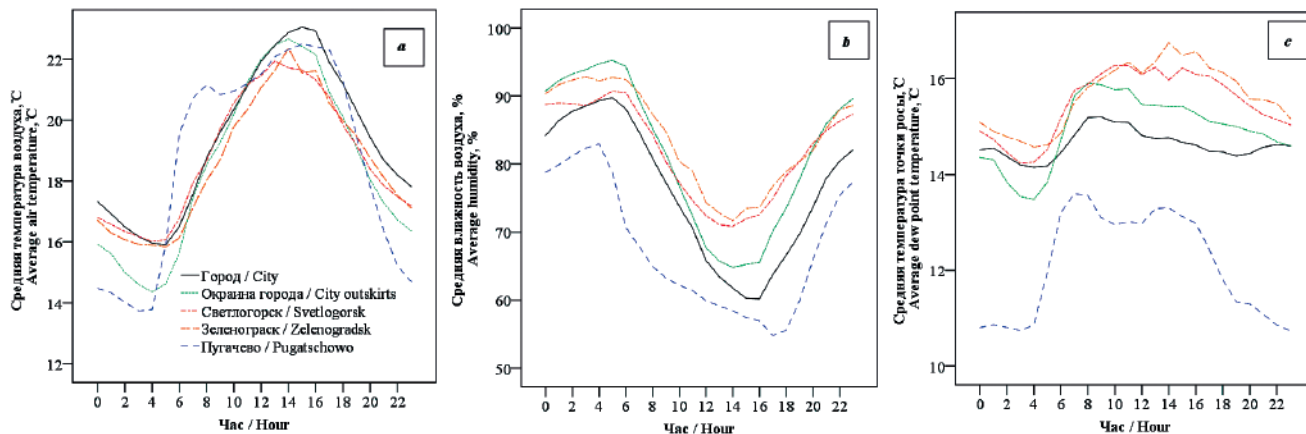
В результате проведённых исследований на всех пробных площадках было обнаружено 63 вида эпифитных лишайников. Максимальное видовое разнообразие – 28 видов, установ-

лено на пробной площадке № 3 (Центральный парк). В городе большая часть обследованных площадок (64%) имеет очень низкое качество воздуха (LGI 1.E5).

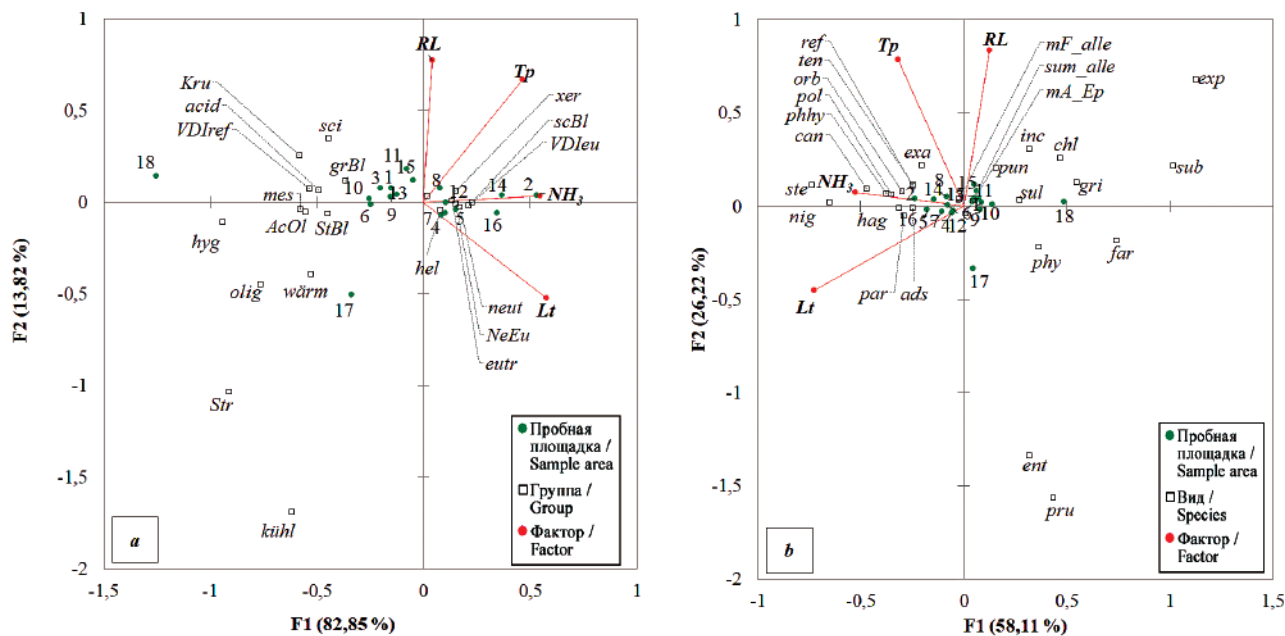
Оценка микроклиматических параметров мест произрастания лишайников в 2019 и 2018 гг. показала различия: в 2018 г. установлена более высокая среднесуточная температура воздуха, температура точки росы и несколько меньшая влажность воздуха ( $p \leq 0,05$ ) [12] по сравнению с 2019 г., что, вероятно, связано с более прохладной и влажной погодой [13]. За два года наблюдений фиксировались достоверные различия ( $p \leq 0,05$ ) в значениях микроклиматических параметров местообитаний лишайников в городе Калининграде и на окраине города. Так, в 2019 г. отмечено повышение среднесуточной температуры  $19,3 \pm 3,2$  °С, снижение влажности воздуха  $76,2 \pm 15,7\%$  и температуры точки росы  $14,6 \pm 2,1$  °С в г. Калининграде, по сравнению с окраиной города (пробная площадка № 10), где среднесуточная температура составляет  $18,4 \pm 3,5$  °С, влажность воздуха  $81,9 \pm 10,9\%$  и температура точки росы  $14,9 \pm 2,1$  °С (рис. 2, см. цв. вкладку). Заметна разница между исследуемыми параметрами в городе, приморских районах и на востоке области (рис. 2), где установлена наиболее низкая влажность воздуха ( $67,9 \pm 15,3\%$ ) и температура точки росы ( $12,1 \pm 3,4$  °С), что отражает континентальный характер климата восточной части региона [14]. Установленные различия в микроклиматических параметрах местообитаний лишайников, вероятнее всего, отражают эффект городского острова тепла [2].

Корреляционный анализ данных за 2018 г. показал умеренную положительную связь между температурой точки росы и  $FDW_{Ref}$

**А. В. Пунгин, К. В. Чайка, П. В. Федуряев,  
Н. В. Николаева, А. С. Коломиец**  
**«Оценка влияния городской среды на видовое разнообразие  
и физиолого-биохимические особенности лишайников». С. 72.**



**Рис. 2.** Средние значения температуры (a), относительной влажности воздуха (b) и температуры точки росы (c) в течение суток на пробных площадках в разных местностях в 2019 г.  
**Fig. 2.** Average values of temperature (a), relative humidity (b) and dew point temperature (c) during the day in sample areas in different places in 2019



**Рис. 3.** Канонический анализ соответствия (ССА) ординации экологических и функциональных групп (a), видов лишайников (b) и факторов среды на пробных площадках: содержание аммиака в атмосферном воздухе ( $\text{NH}_3$ ), относительная влажность (RL), температура воздуха (Lt) и температура точки росы (Tp)  
**Fig. 3.** Canonical correspondence analysis of ordination of groups (a), lichen species (b) and environmental factors at sample areas: ammonia content in atmospheric air ( $\text{NH}_3$ ), relative humidity (RL), air temperature (Lt) and dew point temperature (Tp)

( $r_s = 0,68, p \leq 0,001$ ); температурой воздуха и  $FDW_{Eu}$  ( $r_s = 0,51, p \leq 0,05$ ) и умеренную отрицательную связь между относительной влажностью и  $FDW_{Eu}$  ( $r_s = -0,54, p \leq 0,05$ ). Анализ данных за 2019 г. показал наличие слабой положительной связи между температурой воздуха и  $FDW_{Eu}$  ( $r_s = 0,47, p \leq 0,05$ ).

Максимальная концентрация аммиака в воздухе за два года наблюдений установлена на пробной площадке № 2 ( $8,78 \pm 0,04$  мкг/м<sup>3</sup>), минимальная – № 11 ( $0,42 \pm 0,05$  мкг/м<sup>3</sup>). В 2018 г. корреляционный анализ эмиссии  $NH_3$  и  $FDW_{Ref}$  выявил значительную отрицательную связь ( $r_s = -0,92, p \leq 0,001$ ), несколько ниже с температурой точки росы ( $r_s = -0,74, p \leq 0,001$ ); средняя связь  $FDW_{Ref}$  с эмиссией  $NH_3$  ( $r_s = -0,55, p \leq 0,05$ ) обнаружена в 2019 г.

При минимальной концентрации  $NH_3$  в лесопарковой зоне в г. Светлогорске выявлено более низкое содержание хлорофилла *a* ( $1,03 \pm 0,13$  мг/г), хлорофилла *b* ( $0,27 \pm 0,05$  мг/г) азота ( $0,94 \pm 0,08\%$ ) в *P. sulcata*. Выявлены сильные положительные корреляции между содержанием  $NH_3$  в 2018 г. и физиолого-биохимическими параметрами *P. sulcata*: с содержанием хлорофилла *a* ( $r_p = 0,84; p \leq 0,001$ ), хлорофилла *b* ( $r_p = 0,77; p \leq 0,001$ ) и азота ( $r_p = 0,88; p \leq 0,001$ ). Установлена сильная положительная связь между содержанием азота и хлорофиллом *a* ( $r_p = 0,93; p \leq 0,001$ ) и хлорофиллом *b* ( $r_p = 0,77; p \leq 0,01$ ). При этом содержание пигментов и азота в *P. sulcata* коррелировало с температурой точки росы и влажностью воздуха ( $r_p < -0,52; p \leq 0,05$ ). Полученные данные согласуются с тем, что с ростом накопления аммония в талломе лишайники активно включают его в процесс метаболизма для нейтрализации неблагоприятных цитотоксических эффектов, что также связано с увеличением фотосинтетической способности за счёт повышения концентрации хлорофиллов [6, 15, 16].

Канонический анализ соответствия (ССА) при анализе данных за 2019 г. показал, что большая часть распределения экологических групп и жизненных форм лишайников на исследуемых территориях связана с воздействием аммиака (рис. 3а, см. цв. вкладку), вектор которого расположился вдоль первой оси (82,85%). Для экологических и функциональных групп, расположенных противоположно вектору воздействия эмиссии аммиака, установлена средняя отрицательная корреляционная связь ( $r_s > -0,50; p \leq 0,05$ ), для однонаправленных – средняя положительная связь ( $r_s > 0,52; p \leq 0,05$ ). Корреляционный анализ не показал значимых связей экологических и функциональных групп лишайников с микро-

климатическими факторами. В то же время на рисунке 3а видно, что первая ось отделила экологические группы, такие как ксерофиты, гелиофиты, нейтрофилы, нитрофиты и узколопастные листоватые лишайники, а также функциональную группу видов-индикаторов эвтрофикации, которые расположились в правой положительной зоне. В данной зоне на первую ось падают, помимо аммиака, проекции векторов температуры воздуха и температуры точки росы, а, следовательно, можно предположить, что данные факторы оказывают воздействие на указанные группы и виды лишайников (рис. 3б, см. цв. вкладку). Полученная слабая положительная связь ( $r_s = 0,47, p \leq 0,05$ ) между температурой воздуха и значением разнообразия видов-индикаторов эвтрофикации, подтверждает наше предположение. Сопоставимые результаты были получены при анализе данных за 2018 г. [12].

Распределение видов лишайников также связано с воздействием аммиака (рис. 3б). Установлена отрицательная связь с концентрацией аммиака в воздухе для *Evernia prunastri* (L.) Ach. ( $r_s = -0,88; p \leq 0,01$ ), *Melanelixia subaurifera* (Nyl.) O. Blanco & al. ( $r_s = -0,61; p \leq 0,01$ ) и *Ramalina farinacea* (L.) Ach. ( $r_s = -0,51; p \leq 0,05$ ). Частота встречаемости *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. имеет сильную отрицательную связь с температурой воздуха ( $r_s = -0,77; p \leq 0,01$ ), в свою очередь *Melanohalea exasperatula* (Nyl.) O. Blanco & al. ( $r_s = 0,63; p \leq 0,05$ ) *Xanthoria candelaria* (L.) Th. Fr. и *X. polycarpa* (Hoffm.) Th. Fr. ex Rieber ( $r_s = 0,56; p \leq 0,05$ ) имеют положительную связь. Средняя корреляционная связь выявлена у *Lepraria incana* (L.) Ach. с температурой точки росы ( $r_s = 0,55; p \leq 0,05$ ). Частота встречаемости *Lecanora expallens* Ach. и сциофитных видов, вероятнее всего, связана как со снижением загрязнения воздуха аммиаком, так и с высокой влажностью воздуха, хотя корреляционный анализ не подтвердил наличие связи.

Полученные результаты о видовом разнообразии лишайников, физиолого-биохимическим параметрам и лишеноиндикационной оценке указывают на наличие загрязнения атмосферного воздуха и влияния азотсодержащих поллютантов. Согласно официальным данным [14], в г. Калининграде среди поллютантов преобладают оксид азота (среднегодовая концентрация в 2018 г. – 6 мкг/м<sup>3</sup>), диоксид азота (47 мкг/м<sup>3</sup>) и аммиак (11 мкг/м<sup>3</sup>), а также взвешенные вещества (130 мкг/м<sup>3</sup>). Нами было показано, что ча-

стота встречаемости отдельных видов и групп лишайников связана не только с воздействием эмиссии аммиака, но также и с микроклиматическими параметрами, которые в свою очередь, определяют доступность атмосферной влаги для лишайников. Известно, что роса и туман играют важную роль для развития эндолитных и эпилитных лишайников в умеренном климате [17]. В городских условиях с характерным островом тепла и загрязнением атмосферы, по-видимому, в выигрышной ситуации оказываются толерантные к эвтрофикации атмосферного воздуха виды, обладающие морфологическими и физиологическими приспособлениями для эффективного получения влаги из атмосферы [3]. В целом, загрязнение атмосферного воздуха, являясь доминирующим ограничивающим фактором распространения лишайников на урбанизированных территориях, часто скрывает влияние климатических параметров [3].

### Заключение

За два года наблюдений получены данные о микроклиматических параметрах местообитаний лишайников и концентрации аммиака в атмосферном воздухе на территории города Калининграда и Калининградской области. Анализ данных показал наличие эффекта городского острова тепла в г. Калининграде: наблюдается увеличение среднесуточной температуры и снижение влажности воздуха и температуры точки росы в местах обитания лишайников в центральной части города по сравнению с окраиной города. На 18 пробных площадках было обнаружено 63 вида эпифитных лишайников. Анализ частоты встречаемости отдельных видов, таксономических, экологических и функциональных групп видов показал, что с увеличением содержания аммиака в атмосферном воздухе происходит снижение встречаемости чувствительных к эвтрофикации видов и групп видов лишайников, при этом частота встречаемости толерантных лишайников возрастает. Выявлено воздействие аммиака на физиолого-биохимическими параметрами лишайников: установлены сильные положительные корреляционные связи ( $r_p > 0,75$ ;  $p \leq 0,001$ ) между содержанием  $\text{NH}_3$ , которое в исследованных местообитаниях варьировало 0,42 до 8,78  $\text{мкг/м}^3$ , с содержанием азота, хлорофилла *a* и хлорофилла *b* в талломе лишайника *Parmelia sulcata*. Канонический анализ соответствия и корреляционный анализ показали, что частота встречаемости отдельных

групп и видов лишайников связана с микроклиматическими параметрами местообитаний: температурой, влажностью воздуха и температурой точки росы. Можно заключить, что загрязнение атмосферного воздуха является доминирующим ограничивающим фактором распространения лишайников на урбанизированных территориях. Однако, не исключено, что в городских районах с пониженным уровнем загрязнения воздуха локальные климатические условия могут быть важной движущей силой разнообразия лишайников. Данный вопрос в настоящее время требует дополнительных научных изысканий.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00149.*

### Литература

1. Wilby R.L. Climate change, biodiversity and the urban environment: a critical review based on London, UK // Progress in Physical Geography. 2006. V. 30. No. 1. P. 173–198.
2. Rizwan A.M., Dennis L.Y.C., Liu C. A review on the generation, determination and mitigation of Urban Heat Island // Journal of Environmental Sciences. 2008. V. 20. P. 120–128.
3. Munzi S., Correia O., Silva P., Lopes N., Freitas C., Branquinho C., Pinho P. Lichens as ecological indicators in urban areas: beyond the effects of pollutants // Journal of Applied Ecology. 2014. V. 51. No. 6. P. 1750–1757.
4. Stapper N.J. Baumflechten in Düsseldorf unter dem Einfluss von Luftverunreinigungen, Stadtklima und Klimawandel // Bibliotheca Lichenologica. 2012. V. 108. P. 221–240.
5. Windisch U. Wirkungsermittlung von Stadtklimaeffekten auf Biota anhand von Flechten. Forschungsbericht des Fachzentrums Klimawandel (INKLIM-A-Projekt) // HLNUG. 2016. [Internet resource] [https://www.hlnug.de/fileadmin/dokumente/klima/INKLIM\\_A/natur-und-landschaft/flechten-stadtklima.pdf](https://www.hlnug.de/fileadmin/dokumente/klima/INKLIM_A/natur-und-landschaft/flechten-stadtklima.pdf) (Accessed: 27.09.2019).
6. Carter T.S., Clark C.M., Fenn M.E., Jovan S., Perakis S.S., Riddell J., Schaberg P.G., Greaver T.L., Hastings M.G. Mechanisms of nitrogen deposition effects on temperate forest lichens and trees // Ecosphere. 2017. V. 8. No. 3. P. e01717.
7. Иванов А.И., Дунаева Т.А., Домнина Е.А., Ашихмина Т.Я., Дудин Г.П. Поиск информативных биохимических тестов в практике экологического мониторинга особо опасных объектов // Теоретическая и прикладная экология. 2011. № 4. С. 94–98.
8. Головкин Т.К., Шелякин М.А., Пыстина Т.Н. Эколого-биологические и функциональные свойства лишайников таёжной зоны Европейского Северо-Востока России (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2020. № 1. С. 6–13.

9. Pungin A., Windisch U., Skrypnik L., Chaika C., Feduraev P. Biomonitoring the effects of eutrophication in Kaliningrad (Russia) with lichens and tree barks // *Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft*. 2017. V. 77. No. 4. P. 137–142.
10. VDI 3957 Part 13: Biological measurement procedures for determining and evaluating the effects of ambient air pollutions by means of lichens (bioindication). Mapping the diversity of epiphytic lichens as an indicator of air quality. Berlin: Beuth-Verlag, 2005. 27 p.
11. Barnes J.D., Balaguer L., Manrique E., Elvira S., Davison A.W. A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls *a* and *b* in lichens and higher plants // *Environmental and Experimental Botany*. 1992. V. 32. No. 2. P. 85–100.
12. Pungin A., Chaika Ch., Feduraev P., Parfenova D., Skrypnik L. Assessment of the impact of urban environmental factors on lichen species diversity in Kaliningrad // *Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft*. 2019. V. 80. No. 3. P. 71–80.
13. Архив фактической погоды. Гидрометцентр России [Электронный ресурс] <https://meteoinfo.ru/archive-pogoda/russia/kaliningrad-area> (Дата обращения: 26.09.2019).
14. Государственный доклад «Об экологической обстановке в Калининградской области в 2018 году». Правительство Калининградской области. Министерство природных ресурсов и экологии Калининградской области. Калининград: ВИА Калининград, 2019. 200 с.
15. Головки Т.К., Дымова О.Б., Табаленкова Г.Н., Пыстина Т.Н. Фотосинтетические пигменты и азот в талломах лишайников бореальной флоры // *Теоретическая и прикладная экология*. 2015. № 4. С. 38–44.
16. Hauck M. Ammonium and nitrate tolerance in lichens // *Environmental Pollution*. 2010. V. 158. No. 5. P. 1127–1133.
17. Tretiach M. Ecophysiology of calcicolous endolithic lichens: progress and problems // *Giornale Botanico Italiano*. 1995. V. 129. No. 1. P. 159–184.
- des Fachzentrums Klimawandel (INKLIM-A-Projekt) // HLNUG. 2016. [Internet resource] [https://www.hlnug.de/fileadmin/dokumente/klima/INKLIM\\_\\_A/natur-und-landschaft/flechten-stadtklima.pdf](https://www.hlnug.de/fileadmin/dokumente/klima/INKLIM__A/natur-und-landschaft/flechten-stadtklima.pdf) (Accessed: 27.09.2019).
6. Carter T.S., Clark C.M., Fenn M.E., Jovan S., Perakis S.S., Riddell J., Schaberg P.G., Greaver T.L., Hastings M.G. Mechanisms of nitrogen deposition effects on temperate forest lichens and trees // *Ecosphere*. 2017. V. 8. No. 3. P. e01717. doi: 10.1002/ecs2.1717
7. Ivanov A.I., Dunayev T. A., Domnina E.A., Ashihmina T.Y., Dudin G.P. Searching of informative biochemical tests in the practice environmental monitoring of particularly dangerous objects // *Theoretical and Applied Ecology*. 2011. No. 4. P. 94–98 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2011-4-094-098
8. Golovko T.K., Shelyakin M.A., Pystina T.N. Ecological and biological, and functional traits of lichens in Taiga zone of European Northeast of Russia (review) // *Theoretical and Applied Ecology*. 2020. No. 1. P. 6–13 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2020-1-006-013
9. Pungin A., Windisch U., Skrypnik L., Chaika C., Feduraev P. Biomonitoring the effects of eutrophication in Kaliningrad (Russia) with lichens and tree barks // *Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft*. 2017. V. 77. No. 4. P. 137–142.
10. VDI 3957 Part 13: Biological measurement procedures for determining and evaluating the effects of ambient air pollutions by means of lichens (bioindication). Mapping the diversity of epiphytic lichens as an indicator of air quality. Berlin: Beuth-Verlag, 2005. 27 p.
11. Barnes J.D., Balaguer L., Manrique E., Elvira S., Davison A.W. A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls *a* and *b* in lichens and higher plants // *Environmental and Experimental Botany*. 1992. V. 32. No. 2. P. 85–100. doi: 10.1016/0098-8472(92)90034-Y
12. Pungin A., Chaika Ch., Feduraev P., Parfenova D., Skrypnik L. Assessment of the impact of urban environmental factors on lichen species diversity in Kaliningrad // *Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft*. 2019. V. 80. No. 3. P. 71–80.
13. Archive of actual weather. Hydrometcenter of Russia [Internet resource] <https://meteoinfo.ru/archive-pogoda/russia/kaliningrad-area> (Accessed: 26.09.2019) (in Russian).
14. The National report on the environmental situation in the Kaliningrad region in 2018. The Government of the Kaliningrad region, the Department of Environmental Monitoring of the Kaliningrad region. Kaliningrad: VIA Kaliningrad, 2019. 200 p. (in Russian).
15. Golovko T.K., Dymova O.V., Tabalenkova G.N., Pystina T.N. Photosynthetic pigments in the thalli of lichens of boreal flora // *Theoretical and Applied Ecology*. 2015. No. 4. P. 38–44 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2015-4-038-044
16. Hauck M. Ammonium and nitrate tolerance in lichens // *Environmental Pollution*. 2010. V. 158. No. 5. P. 1127–1133.
17. Tretiach M. Ecophysiology of calcicolous endolithic lichens: progress and problems // *Giornale Botanico Italiano*. 1995. V. 129. No. 1. P. 159–184. doi: 10.1080/11263509509436118

## References

**Динамика растительности и свойств  
почв залежных экосистем**

© 2020. М. Л. Бурдуковский, к. б. н., с. н. с.,  
П. А. Перепелкина, м. н. с., И. В. Киселева, к. б. н., с. н. с.,  
Федеральный научный центр биоразнообразия наземной  
биоты Восточной Азии ДВО РАН,  
690022, Россия, Приморский край, г. Владивосток,  
проспект 100-летия Владивостока, д. 159,  
e-mail: mburdukovskii@gmail.com, polly2004@list.ru, kiseleva-iv@inbox.ru

Изучены трансформация состава растительного покрова и изменение некоторых свойств почв залежных полей на территории Приморского края. Первыми поселенцами из древесных растений на исследуемых территориях являются представители рода *Salix*, они произрастают единично или образуют микрогруппировки. Установлено, что появление в подросте представителя коренных лесов *Quercus mongolica* Fisch. ex Turcz. происходит через 15–20 лет после вывода поля из сельскохозяйственного оборота. Максимальным видовым разнообразием характеризуются средневозрастные залежи (20–30 лет). С увеличением возраста залежи видовое разнообразие снижается. В условиях воздействия пирогенного фактора и дефицита в почве семян растений, характерных для залежных экосистем Приморского края, наиболее устойчивыми доминантами являются вейниково-злаковые и полынные синузии. На этапе активного возобновления древесных пород увеличивается кислотность почв и уменьшается содержание гумуса, подвижных форм калия и фосфора.

**Ключевые слова:** пашня, сукцессия, залежные земли, агрохимическая характеристика.

**Dynamics of vegetation and soil  
properties of fallow ecosystems**

© 2020. M. L. Burdukovskii ORCID: 0000-0003-1806-6721  
P. A. Perepelkina ORCID: 0000-0001-7652-9443  
I. V. Kiseleva ORCID: 0000-0002-2547-5905  
Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity  
Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences,  
159, Prospekt Stoletiya Vladivostoka, Vladivostok, Russia, 690022,  
e-mail: mburdukovskii@gmail.com, polly2004@list.ru, kiseleva-iv@inbox.ru

Russia ranks first in the world in the area of land taken out of agricultural use. In some regions, fallow areas account for more than 50% of the total agricultural area. Currently, the main part of these areas is in the process of natural ecosystem restoration, with significant changes in vegetation composition, soil formation, and soil properties.

Land withdrawal from the fallow state to arable land is becoming a worldwide trend and also significant in the far-eastern region of Russia. Data on the vegetation cover transformation on the territory of Primorsky region depending on the fallow period are considered. Studies were conducted on abandoned agricultural fields (15, 20, 30, 35 and 60 years after abandonment). As a reference site, we used a cultivated field in the area and native forest samples. The experiment included 2 soil types: Gleyic Cambisols and Dystric Fluvisol.

The study determined that members of the genus *Salix* are the first settlers of woody plant. They grow singly or form microgroups. The undergrowth *Quercus mongolica* Fisch. ex Turcz., which is representative of the native forest appears 15–20 years after the taking the field out of agricultural use. Middle-age fallow fields (20–30 years after abandonment) are characterized by the maximum species diversity. Fallow ecosystems of the Primorsky region are characterized by plant seed shortage and frequent fires. Reedgrass-cereals and wormwood sinusias are the most stable dominants under these conditions. An increase in soil acidity and reduction of humus content, mobile forms of potassium and phosphorus occur at the stage of active renewal of tree species.

**Keywords:** arable land, succession, fallow lands, agrochemical characteristics.

Экономический кризис 1990-х годов в России способствовал выводу из оборота больших площадей сельскохозяйственных земель. В настоящее время в каждом субъекте Российской Федерации не распаивается и не используется в сельскохозяйственном производстве примерно 28,5% площади пахотных угодий [1].

Бывшие агроценозы, трансформированные в постагрогенные фитоценозы, отличаются от естественных ценозов структурой растительности и её флористическим составом [2]. Естественное развитие растительности зависит от многих факторов: физико-химических свойств почвы, истории землепользования на данной территории, почвенного банка семян, наличия занесённых видов, аллелопатических взаимодействий, времени нахождения в залежном состоянии и др. [3–6].

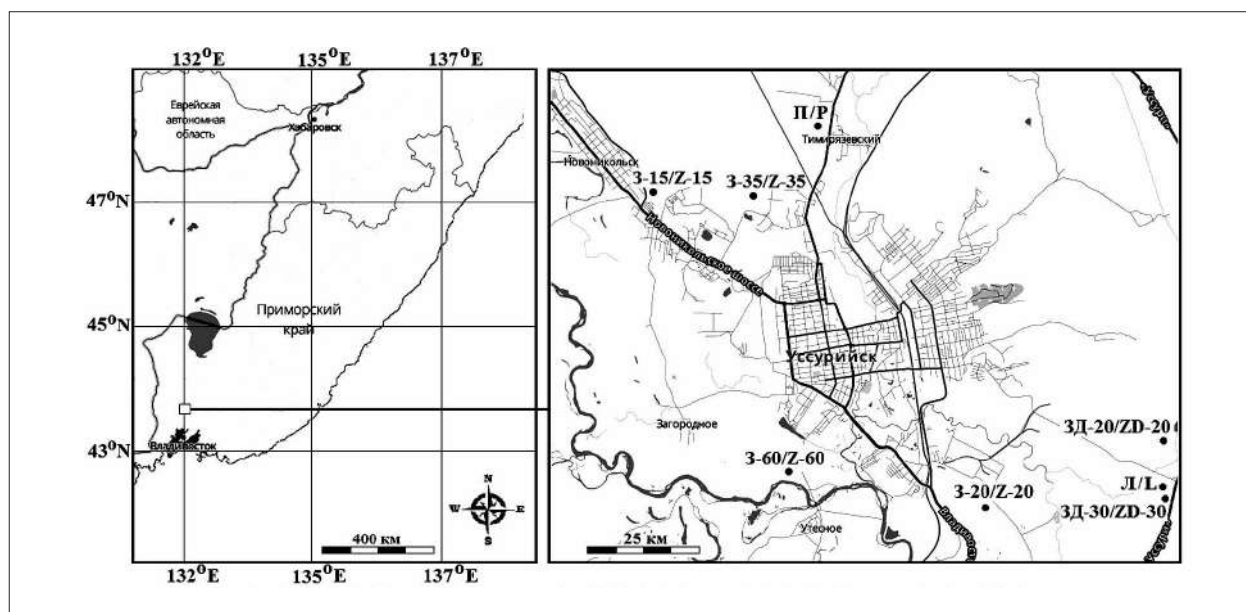
Освоение новых территорий, которые могут быть использованы для нужд сельского хозяйства, требует больших капитальных вложений и трудовых ресурсов. Более экономичным способом является возвращение в сельскохозяйственный оборот земель, длительное время не используемых в аграрном производстве, тем более что вопрос стоит не об освоении целины, а только о проведении мелиоративных мероприятий и возобновлении обработки [7].

На территории Дальневосточного региона, где только за период с 2010 по 2013 гг. площадь земель сельскохозяйственного назначения сократилась на 5,3 млн га, проблема трансформации залежных почв при повторном вовлечении в сельскохозяйственное использование остаётся актуальной. Работ, касающихся изменения основных свойств и уровня плодородия почв в ходе постагрогенеза, практически нет. Взаимосвязь между динамикой растительности и почвенными условиями также остаётся не изученной.

Цель данной работы – изучение структуры растительных сообществ и некоторых агрохимических свойств почв в ходе постагрогенной трансформации залежных экосистем юга Приморского края.

## Материалы и методы

Исследования проводили на бывших пахотных землях Уссурийского городского округа Приморского края в июле–августе 2017 г. Изучаемые участки представляли собой залежи 15, 20, 30, 35 и 60-летнего возраста (рис. 1). Для сравнения были привлечены образцы ненарушенной почвы, расположенной в непосредственной близости от залежей и развивающейся под зональным



**Рис. 1.** Карта-схема района исследований: П – поля севооборота; 3-15 – средневозрастные 15-летние залежи; 3-20 – средневозрастные 20-летние; 3Д-20 – средневозрастные 20-летние с активным возобновлением древесных пород; 3Д-30 – средневозрастные 30-летние с активным возобновлением древесных пород; 3-35 – средневозрастные полугидроморфные 35-летние; 3-60 – зрелые 60-летние; Л – коренной дубовый лес

**Fig. 1.** Study area map: P – cultivated field; Z-15 – 15-years old fallow; Z-20 – 20-years old; ZD-20 – 20-years old with active renewal of tree species; Z-30 – 30-years old with active renewal of tree species; Z-35 – semi hydromorphic 35-years old; Z-60 – 60-years old; L – native forest

типом растительности, и пахотной почвы с поля, используемого под возделывание сои (контрольный вариант длительного опыта по использованию удобрений на территории Приморского научно-исследовательского института сельского хозяйства).

Для выявления основных закономерностей зарастания залежей все поля были кластеризованы на группы, каждая из которых включает по 3 поля.

Для изучения растительных сообществ применялись стандартные геоботанические методы [8]. Описания каждого участка проведены на 2 площадках размером 20 x 20 м, наиболее полно характеризующих травостой. Для определения возраста деревьев и подроста применены методы дендрохронологии [9].

Почва на исследуемых участках – тёмно-гумусовый подбел (Gleyic Cambisols), за исключением 60-летних залежей, где распространена аллювиальная серо-гумусовая почва (Dystric Fluvisol). Почва залежи 35-летнего возраста (З-35) относится к полугидроморфной, что предполагает условия постоянного или длительного переувлажнения. В почвенном профиле присутствуют признаки оглеения.

На каждом участке был заложен разрез для уточнения классификационной принадлежности почвы. Отбор проб проводили из верхних слоёв профиля и трёх прикопок на глубинах 0–20 и 20–30 см. В смешанных образцах определяли кислотность почв (рН солевой вытяжки) на рН-метре Mettler Toledo S220-Kit (Швейцария), содержание гумуса методом Тюрина, поглощённые основания – по Шолленбергеру, подвижные формы фосфора и калия – по Кирсанову [10].

При обработке данных использовали общепринятые статистические методы с использованием программы Statistica v.13.

### Результаты и обсуждение

Возобновление растительного покрова на залежных полях зависит от экологических условий, и, в первую очередь, от фитоценотического окружения и режима увлажнения. Первое обуславливает поступление определённого набора семян, а второе – их успешную приживаемость. Нами выделено несколько типов естественного зарастания залежей в зависимости от возраста и сформированных условий экотопа. Все они относятся к стадиям олуговения и залесения [11].

В ходе исследований было выявлено, что максимальным видовым разнообразием

характеризуются средневозрастные залежи с начальным этапом возобновления древесных растений (рис. 2). С увеличением возраста залежей видовое разнообразие снижается, выпадают виды адвентивной флоры, увеличивается участие луговых трав, появляются аборигенные виды лесных растений, сохраняющие разнообразие семейств в сформированной травяной синузии.

Согласно анализу семейственных спектров, с увеличением возраста залежи происходит и увеличение разнообразия семейств. Наименьшее разнообразие характерно для средневозрастных 15-летних залежей (З-15). Доминирующим семейством является *Asteraceae*, существенно участие семейства *Fabaceae*. На зрелых залежах увеличивается участие в травостое семейства *Poaceae*.

Возобновление древесных растений происходит очень медленно. Согласно проанализированным древесным ядрам, успешное закрепление единичных особей подроста происходит спустя 8–10 лет после вывода поля из сельскохозяйственного оборота. В большинстве случаев пионерами становятся представители рода *Salix*. Распространение семян ветром на дальние расстояния и сохранение всхожести даже в условиях избыточного увлажнения на протяжении нескольких лет способствуют закреплению их в фитоценозе. Высокая толерантность подростка ивы к условиям среды помогает переносить затопление территорий и многочисленные пожары. Все образцы ядер представителей этого рода имеют следы

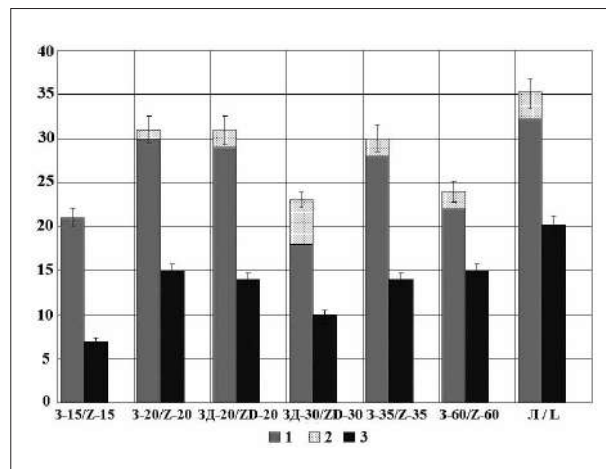
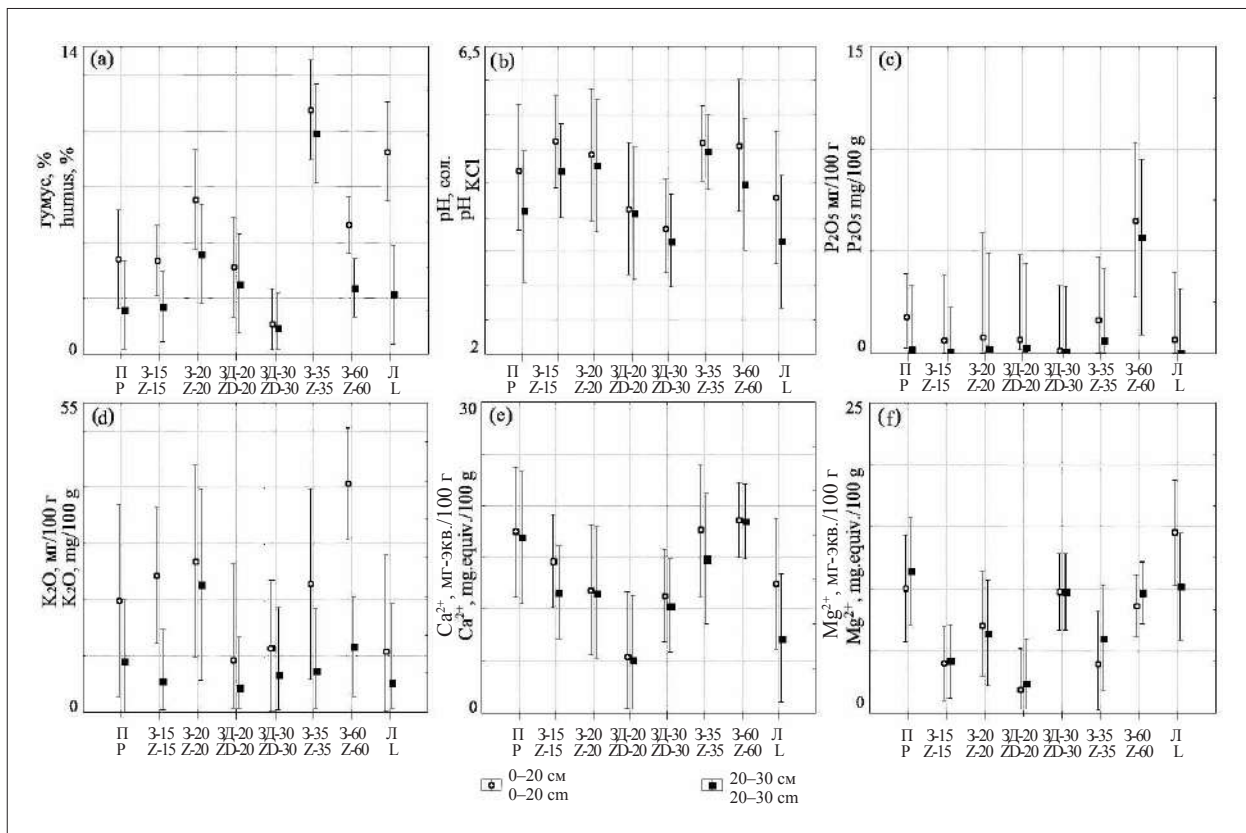


Рис. 2. Усреднённое количество видов и семейств растений на разновозрастных залежах и в коренном лесу (в шт.): 1 – виды растений, 2 – древесные, 3 – семейства,  $p \leq 0,05\%$

Fig. 2. Average number of plant species and plant communities on fallow lands (number of pieces): 1 – plant species, 2 – trees species, 3 – plant communities,  $p \leq 0.05\%$





**Рис. 3.** Агрохимические свойства тёмно-гумусового подбела и аллювиальной серо-гумусовой почвы при различном хозяйственном использовании, ANOVA, Tukey test,  $p < 0,05$   
**Fig. 3.** Agrochemical properties of Gleyic Cambisols and Dystric Fluvisol with different use and managements, ANOVA, Tukey test,  $p < 0.05$

повреждения пожарами в разном возрасте. В условиях стабильного гидрологического режима и отсутствия пожаров появляется подрост *Betula platyphylla* Sukaczew, *Populus tremula* L. Несмотря на то, что в ближайшем окружении эти виды деревьев могут и не присутствовать, при сильных ветрах их семена могут уноситься ветром на расстояние до 2 км и более. Спустя 15–20 лет после вывода поля из севооборота, в условиях незначительной пирогенной нагрузки (ЗД-30) появляется подрост *Quercus mongolica* Fisch. ex Turcz. – эдификатора аборигенных лесных сообществ, но его распространение ограничено по территории поля. Однако, большинство исследуемых залежей подвержено пожарам и медленно растущий подрост дуба на них просто сгорает. Мелкий подрост *Populus maximowiczii* A. Henry встречается на средневозрастных залежах разного режима увлажнения (ЗД-30, З-35), но крупный подрост зафиксирован только на залежах мезофитного типа (ЗД-30). На зрелых залежах (З-60) отмечен подрост *Fraxinus mandshurica* Rupr., *Acer ginnala* Maxim. Семени данных видов распространяются ветром на

расстояние 20–90 метров [12]. Соответственно, их возобновление на залежах возможно только в условиях непосредственного наличия генеративных деревьев в ближайшем окружении.

В условиях частого воздействия пирогенного фактора на растительные сообщества возобновление древесных растений сильно затруднено. Растительные сообщества начинают развиваться практически с нуля или же сильно тормозят в развитии. На протяжении длительного времени после пожара на полях преобладают различные виды полыни, а видовое разнообразие снижается. Аналогичная ситуация в Приамурье была описана в работе [13].

Результат анализа взаимоотношений агрохимических свойств почв и типа растительности показал их тесную корреляционную связь.

Гумусовый горизонт наиболее зависим от типа растительного сообщества [14]. Самым высоким содержанием гумуса (рис. 3а) характеризуются почвы аборигенного лесного массива (Л) и полугидроморфной залежи (З-35). Практически все исследуемые поля достоверно отличаются от лесных почв более низким его содержанием. Увеличение содержания гу-

муса в поверхностном горизонте полугидрофорфной залежи (З-35) во многом связано со значительным привнесом органического вещества с корневой массой растений. Этому способствует обильная осоково-злаковая растительность (верхний горизонт почвы был сильно задернован). При этом поверхностное переувлажнение почв сдерживает процессы минерализации органического вещества микрофлорой, что приводит к накоплению гумуса. Почвы полынно-вейниковых залежей с активным возобновлением видов древесных растений (ЗД-30) характеризуются самыми низкими значениями содержания гумуса.

Все исследуемые почвы по уровню кислотности относятся к слабокислым кроме почв залежных полей с интенсивным возобновлением древесных растений (ЗД-20, ЗД-30), в которых реакция среды сильноокислая и приближена к почвам коренных дубовых лесов (рис. 3b).

Прекращение сельскохозяйственного использования привело к снижению содержания катионов  $Ca^{2+}$  и  $Mg^{2+}$  в почве (рис. 3e, f). Увеличение происходит спустя 30 лет. Аналогичные закономерности отмечены для дерново-подзолистых почв, но увеличение содержания катионов происходило в них на более ранних сроках после начала залежного процесса [15]. По содержанию катионов  $Ca^{2+}$ , особенно в минеральном горизонте, и подвижных форм калия и фосфора наибольшими концентрациями характеризуются зрелые залежи (З-60) (рис. 3 с, d, e). Они достоверно отличаются от лесных почв и почв средневозрастных залежей с активным возобновлением древесных пород. Низкое содержание подвижных форм фосфора в темно-гумусовом подбеле по сравнению с аллювиальной серо-гумусовой почвой обусловлено региональными особенностями почвообразования, а именно, процессом конкрециобразования [16], в результате которого фосфор переходит в недоступное фиксированное состояние в железомарганцевые конкреции.

Вероятно, подобная картина является закономерным этапом развития залежных почв Приморского края и отражает изменения агрохимических свойств, которые происходят при прекращении или снижении уровня антропогенного воздействия.

### Заключение

Наиболее устойчивыми доминантными в залежных экосистемах юга Приморского края

являются вейниково-злаковые и полынные синузии. На средневозрастных залежах доминирующим семейством является *Asteraceae*, существенно участие семейства *Fabaceae*. На зрелых залежах выявлено высокое участие в травостое семейства *Poaceae*. Максимальным видовым разнообразием характеризуются средневозрастные залежи с возобновлением древесных растений. С увеличением возраста залежи видовое разнообразие снижается.

Первыми поселенцами из древесных растений на исследуемых территориях являются представители рода *Salix*, они произрастают единично или образуют микрогруппировки. Их успешное закрепление происходит спустя 8–10 лет после вывода поля из сельскохозяйственного оборота. Появление представителя коренных лесов, подроста *Q. mongolica* Fisch. ex Turcz., происходит в возрасте 15–20 лет и приурочено к периферии залежи, граничащей с лесным массивом.

Изучение взаимоотношений агрохимических свойств почв и типа растительности выявило несколько закономерностей для разных этапов процесса естественного зарастания территорий. После выведения полей из сельскохозяйственного оборота и формирования средневозрастных залежей в почве снижается содержание подвижных форм фосфора, катионов  $Ca^{2+}$  и  $Mg^{2+}$ . На более поздних сроках залежного процесса происходит увеличение содержания в почве катионов  $Ca^{2+}$ , подвижных форм калия и фосфора. На этапе активного возобновления древесных видов растений на залежах увеличивается кислотность почв и уменьшается содержание гумуса и подвижных форм калия.

*Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда, проект № 17-76-10011 «Оценка продуктивности, агроэкологического состояния и перспективы использования залежных почв Дальневосточного региона».*

### Литература

1. Кундиус В.А., Воронкова О.Ю. Эколого-экономические предпосылки использования залежных земель Алтайского края в направлении производства органической продукции // Вестник алтайской науки. 2015. № 3. С. 295–302.
2. Kalina O., Goryachkin S.V., Lyuri D.I., Giani L. Postagrogenic development of vegetation, soils and carbon stocks under self-restoration in different climatic zones of European Russia // Catena. 2015. V. 129. P. 18–29.

3. Leck M.A., Leck C.F. A ten-year seed bank study of old field succession in central New Jersey // *J. Torrey Bot Soc.* 1998. V. 125. P. 11–32.

4. Meiners S.J., Pickett S.T.A., Cadenasso M.L. Effects of plant invasions on the species richness of abandoned agricultural land // *Ecography*. 2001. V. 24. P. 633–644.

5. Schmidt W. An experimental study of old-field succession in relation to different environmental factors // *Plant Ecol.* 1998. V. 77. P. 103–114.

6. Stowe L.G. Allelopathy and its influence on the distribution of plants in an Illinois old-field // *J. Ecol.* 1979. V. 67. P. 1065–1085.

7. Орлова О.И. Борьба за землю: восстановление залежных земель // *Карельский научный журнал*. 2015. № 2 (11). С. 130–133.

8. Раменский Л.Г. Проблемы и методы изучения растительного покрова. Избранные работы. Л.: Наука, 1971. 610 с.

9. Шиятов С.Г., Ваганов Е.А., Кирдянов А.В., Круглов В.Б., Мазепа В.С., Наурузбаев М.М., Хантемиров Р.М. Методы дендрохронологии. Часть I. Основы дендрохронологии. Сбор и получение древесно-кольцевой информации. Красноярск: КрасГУ, 2000. 80 с.

10. Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. М.: МГУ, 1970. 487 с.

11. Работнов Т.А. История фитоценологии: Учебное пособие. М.: Аргус, 1995. 158 с.

12. Ильинский А.П. Расселение растений (основные понятия и термины) // *Природа*. 1945. № 5. С. 45–55.

13. Шлотгауэр С.Д. Трансформация видового разнообразия растительности Приамурья под влиянием пожаров // *Сибирский экологический журнал*. 2007. № 2. С. 251–255.

14. Falkengren-Grerup U., ten Brink D.-J., Brunet J. Land use effects on soil N, P, C and pH persist over 40–80 years of forest growth on agricultural soils // *Forest Ecol. Manag.* 2005. V. 225. P. 74–81.

15. Litvinovich A.V., Drichko V.F., Pavlova O.Yu., Chernov D.V., Shabanov M.V. Changes in the acid-base properties of cultivated light-textured soddy-podzolic soils in the course of postagrogenic transformation // *Eurasian Soil Science*. 2009. V. 6. P. 629–635.

16. Timofeeva Y.O., Karabtsov A.A., Semal V.A., Burdukovskii M.L., Bondarchuk N.V. Iron-manganese nodules in udepts: the dependence of the accumulation of trace elements on nodule size // *Soil Science Society of America Journal*. 2014. V. 78. No. 3. P. 767–778.

## References

1. Kundius V.A., Voronkova O.Y. Ecological and economic prerequisites for the use of fallow lands of the Altai territory in the direction of organic production // *Vestnik altaiskoy nauki*. 2015. No. 3. P. 295–302 (in Russian).

2. Kalinina O., Goryachkin S.V., Lyuri D.I., Giani L. Postagrogenic development of vegetation, soils and carbon stocks under self-restoration in different climatic zones of European Russia // *Catena*. 2015. V. 129. P. 18–29. doi: 10.1016/j.catena.2015.02.016

3. Leck M.A., Leck C.F. A ten-year seed bank study of old field succession in central New Jersey // *J. Torrey Bot Soc.* 1998. V. 125. P. 11–32. doi: 10.2307/2997228

4. Meiners S.J., Pickett S.T.A., Cadenasso M.L. Effects of plant invasions on the species richness of abandoned agricultural land // *Ecography*. 2001. V. 24. P. 633–644. doi: 10.1111/j.1600-0587.2001.tb00525.x

5. Schmidt W. An experimental study of old-field succession in relation to different environmental factors // *Plant Ecol.* 1998. V. 77. P. 103–114.

6. Stowe L.G. Allelopathy and its influence on the distribution of plants in an Illinois old-field // *J. Ecol.* 1979. V. 67. P. 1065–1085. doi: 10.2307/2259228

7. Orlova O.I. Struggle for the ground: restoration of laylands // *Karelskiy nauchnyy zhurnal*. 2015. No. 2 (11). P. 130–133 (in Russian).

8. Ramensky L.G. Problems and methods of studying vegetation. Collected works. Leningrad: Nauka, 1971. 610 p. (in Russian).

9. Shiyatov S.G., Vaganov E.A., Kirdeyanov A.V., Kruglov V.B., Mazepa V.S., Naurzabayev M.M., Khantemirov R.M. Dendrochronology methods. Part I. Basics of dendrochronology. Collecting and obtaining tree-ring information. Krasnoyarsk: KrasGU, 2000. 80 p. (in Russian).

10. Arinushkina E.V. Guide to the chemical soil analysis. Moskva: MGU, 1970. 487 p. (in Russian).

11. Rabotnov T.A. History of phytocenology: study guide. Moskva: Argus, 1995. 158 p. (in Russian).

12. Ilinsky A.P. Resettlement plant (basic concepts and terms) // *Priroda*. 1945. No. 5. P. 45–55 (in Russian).

13. Schlotgauer S.D. The fire-caused transformation of plant diversity in Priamurie // *Sibirskiy ekologicheskiy zhurnal*. 2007. No. 2. P. 251–255 (in Russian).

14. Falkengren-Grerup U., ten Brink D.-J., Brunet J. Land use effects on soil N, P, C and pH persist over 40–80 years of forest growth on agricultural soils // *Forest Ecol. Manag.* 2005. V. 225. P. 74–81. doi: 10.1016/j.foreco.2005.12.027.

15. Litvinovich A.V., Drichko V.F., Pavlova O.Y., Chernov D.V., Shabanov M.V. Changes in the acid-base properties of cultivated light-textured soddy-podzolic soils in the course of postagrogenic transformation // *Eurasian Soil Science*. 2009. No. 6. P. 629–635. doi: 10.1134/S1064229309060076

16. Timofeeva Y.O., Karabtsov A.A., Semal V.A., Burdukovskii M.L., Bondarchuk N.V. Iron-manganese nodules in udepts: the dependence of the accumulation of trace elements on nodule size // *Soil Science Society of America Journal*. 2014. V. 78. No. 3. P. 767–778. doi: 10.2136/sssaj2013.10.0444

## Экологический мониторинг водоёмов Кумо-Маньчской впадины

© 2020. Э. Б. Дедова, д. с.-х. н., профессор, г. н. с.,

В. И. Иванова, к. б. н., с. н. с.,

Г. Н. Кониева, к. с.-х. н., в. н. с.,

Калмыцкий филиал ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт гидротехники и мелиорации им. А. Н. Костякова»,  
358011, Россия, Республика Калмыкия, г. Элиста, площадь Городовикова, д. 1,  
e-mail: kf\_vniigim@mail.ru

Водоёмы Кумо-Маньчской впадины имеют реликтовое происхождение и функционируют за счёт выщелачивания слагающих впадину морских отложений поверхностными и грунтовыми водами. В статье приводятся результаты многолетнего экологического мониторинга водоёмов Маньчской группы озёр, обладающих высокой минерализацией, что способствует формированию специфического биоценоза. Изучение экологических особенностей водоёмов в условиях лимитирующего влияния солёности показало, что высокая степень минерализации воды (80–200 г/л) способствует активному развитию и размножению *Artemia salina* L. в озёрах Большое Яшалтинское и Джама. Основным источником питания парthenогенетической популяции артемии являются микрофиты *Dunaliella salina*, *Nitzschia*, *Navicula*, *Surirella*, обладающие высокой пластичностью и способные выдерживать резкие перепады минерализации воды. Анализ полученных результатов показал, что состав, динамика численности и генезис биоты подвержены флуктуации, зависящей от совокупного действия экологических факторов среды. Наиболее сильная степень минерализации в озёрах Маньчской группы формируется в летний период при значении гидротермического коэффициента 0,3–0,4. В озёрах отмечено развитие двух-трёх генераций рачка *Artemia salina* L., средняя численность разновозрастного рачка за период апрель–август в озере Большое Яшалтинское – 23,07–61,14 тыс. экз./м<sup>3</sup>, в озере Джама – 10,05–23,15 тыс. экз./м<sup>3</sup>. Установленная зависимость между минерализацией воды ( $x$ ) и средней длиной тела рачков ( $Y$ ) аппроксимируется уравнением вид  $Y = 8,9118 + 0,0041 x$  ( $n = 60$ ;  $r = 0,38$ ;  $p = 0,03$ ;  $r^2 = 0,14$ ).

**Ключевые слова:** минерализация воды, Кумо-Маньчская впадина, гипергалинные водоёмы, артемия, водоросли.

## Environmental monitoring of water reservoirs of Kumo-Manych depression

© 2020. E. B. Dedova ORCID: 0000-0002-0640-911X,

V. I. Ivanova ORCID: 0000-0002-5852-5753,

G. N. Konieva ORCID: 0000-0002-6965-5967

All-Russian hydraulic and melioration research institute named after  
A. N. Kostyakov, Kalmykia Branch,  
1, Gorodovikova Ploshchad, Elista, Republic of Kalmykia, Russia, 358011,  
e-mail: kf\_vniigim@mail.ru

The reservoirs of the Kumo-Manych depression are of relict origin and function due to leaching of the sea sediments composing the depression by surface and ground waters. The article presents the results of long-term environmental monitoring of reservoirs of Manych group of lakes with high mineralization, which contributes to the formation of a specific biocenosis. The study of ecological features of water bodies under the conditions of limiting influence of salinity showed that a high degree of water salinity (80–200 g/L) contributes to the active development and reproduction of *Artemia salina* L. in lakes Bol'shoe Yashaltinskoe and Jama. The main source of nutrition of the parthenogenetic population of *Artemia* are microphytes *Dunaliella salina*, *Nitzschia*, *Navicula*, *Surirella*, which have high plasticity and are able to withstand sudden changes in water mineralization. 24 species of diatoms and 1 species of green algae were found. The analysis of the results showed that the composition, dynamics of abundance and genesis of biota are subject to fluctuations, depending on the cumulative effect of environmental factors. The strongest degree of mineralization of surface waters in the lakes of Manych group is formed during the summer period at the value of hydrothermal factor of 0.3–0.4. In the lakes, it is noted the development of two or three generations of crustaceans *Artemia salina*, the average number of different age crustaceans for the period April–August in the lake Bol'shoe Yashaltinskoe is 23.07–61.14 thousand ind./m<sup>3</sup>, in the lake Jama – 10.05–23.15 thousand ind./m<sup>3</sup>. The dependence between the mineralization of water ( $x$ ) and the average body length of crustaceans ( $Y$ ) is approximated by the equation of the form:  $Y = 8,9118 + 0,0041 x$  ( $n = 60$ ;  $r = 0.38$ ;  $p = 0.03$ ;  $r^2 = 0.14$ ).

**Keywords:** mineralization of water, Kumo-Manych depression, hyperhaline reservoirs, artemia, algae.

Кумо-Маньчская впадина расположена в южной европейской части аридного климатического пояса Российской Федерации, которая представляет собой уникальное образование тектонического происхождения с шириной 20–30 км, а в центральной части сужается до 1–2 км [1, 2]. В геологическом прошлом здесь проходил морской пролив, соединяющий Черноморский и Каспийский бассейны.

Анализ палеогеографических исследований показал, что водоёмы Кумо-Маньчской впадины сформировались как реликтовые объекты во время хвалынской трансгрессии, связанной со сменой морского и речного режимов, в условиях резко континентального засушливого климата при остром дефиците атмосферных осадков, высокой сумме активных температур воздуха и интенсивных суховеях. Самым большим водоёмом является озеро Маньч-Гудило, которое охраняется согласно Конвенции о водно-болотных угодьях, имеющих международное значение. К северу и к юго-востоку от него находятся лиманные озёра, такие как Подманок, Джама, Царык,

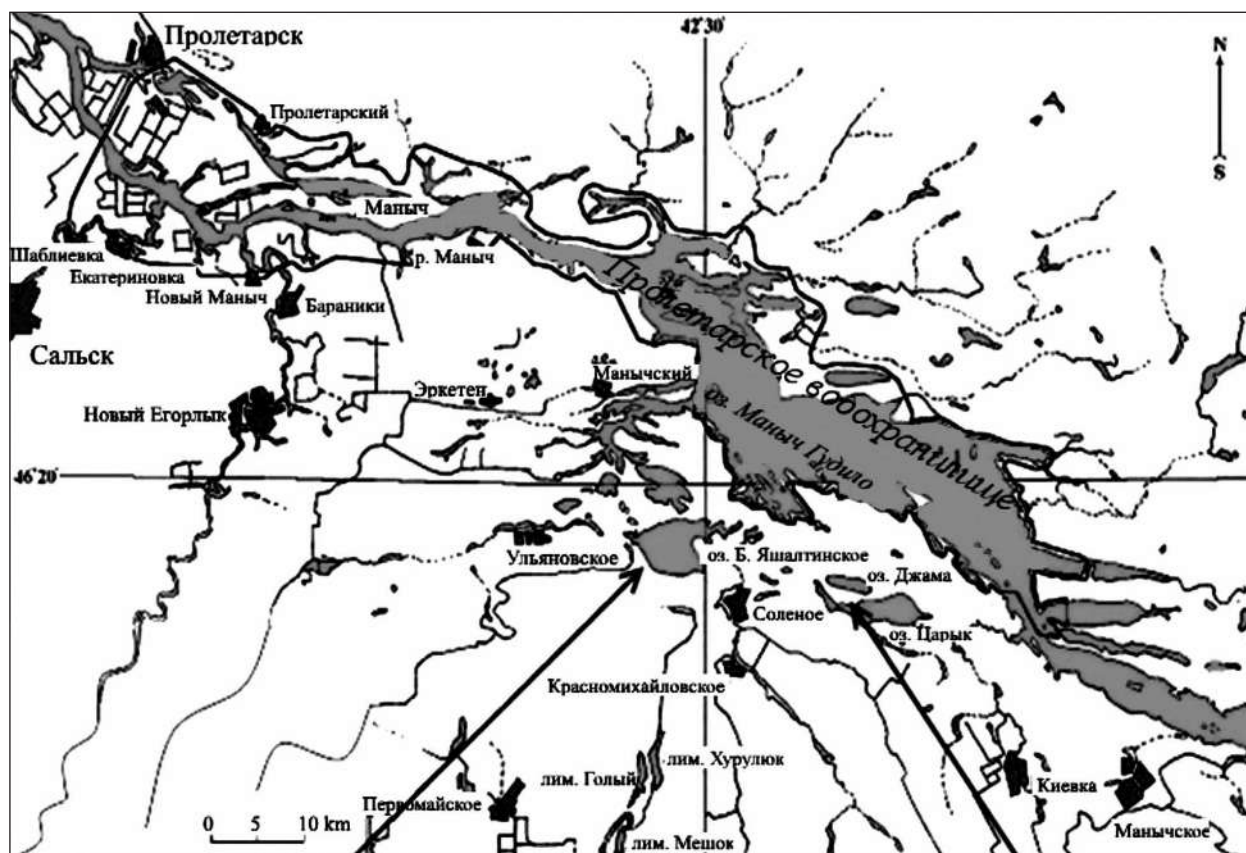
Большое и Малое Яшалтинское, Грузское, Лебяжье и др. [3–6] (рис. 1).

Изучение функционирования природных уникальных экосистем водоёмов Кумо-Маньчской впадины является актуальным направлением в экологии.

Цель данной работы – проведение экологического мониторинга водных объектов Кумо-Маньчской впадины, разработка рекомендаций комплексного использования и оздоровления водохозяйственной обстановки водоёмов.

### Объекты и методы исследования

Материалом для данной работы послужили результаты экологического мониторинга водоёмов Кумо-Маньчской впадины в период 2002–2016 гг. Количественный химический анализ вод проводили в соответствии с методиками ПНД Ф 14.1:2.98-97, ПНД Ф 14.1:2:4.113-97, ПНД Ф 14.1:2:3.95-97, ПНД Ф 14.1:2.107-97, ПНД Ф 14.1:2.114-97, ПНД Ф 14.1:2:3:4.121-97, предел погрешностей при вероятности  $P = 0,95$  составляет  $\pm 9–14\%$ . Отбор



Озеро Большое Яшалтинское  
Lake Bol'shoe Yashaltinskoe

Озеро Джама  
Lake Jama

Рис. 1. Расположение озёр Кумо-Маньчской впадины  
Fig. 1. Location of the lakes of the Kumo-Manych depression

Таблица 1 / Table 1

Динамика химического состава озера Большое Яшалтинское  
Dynamics of the chemical composition of the lake Bol'shoe Yashaltinskoe

Дата отбора Date of selection	Концентрация ионов, г/л Ion concentration, g/L							Сумма солей, г/л Amount of salts, g/L	pH
	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>		
2002 год / 2002									
23.07	–	0,78	75,3	50,4	7,0	8,4	49,8	192	8,0
2003 год / 2003									
22.04	–	0,85	82,5	61,8	9,4	11,2	57,3	223	8,3
20.08	–	1,53	169,5	127,2	20,6	25,7	96,9	441	8,7
2004 год / 2004									
10.04	–	0,51	33,1	18,6	0,80	5,2	20,0	78,3	7,5
26.07	–	0,60	33,8	18,9	0,84	5,8	20,1	80,0	7,7
2007 год / 2007									
15.04	0,003	0,11	57,5	24,1	0,03	4,8	33,6	120,2	7,8
05.08	–	0,67	84,0	48,6	8,5	9,6	64,2	215,6	8,0
2010 год / 2010									
10.05	–	0,62	53,8	26,0	5,9	7,8	35,9	130,0	7,6
22.08	–	1,23	143,6	112,2	18,0	24,8	106,4	406	8,2
2013 год / 2013									
04.05	–	0,31	81,6	16,4	4,6	1,3	63,1	167	7,8
25.08	–	0,97	130,0	81,5	16,7	7,2	88,0	324	8,0
2016 год / 2016									
20.04	0,003	0,98	67,4	47,6	7,4	9,6	56,4	190	7,7
27.07	–	1,11	72,4	64,9	10,1	16,9	71,9	237	8,2

Примечание: прочерк обозначает, что концентрация ионов ниже предела обнаружения метода.  
Note: A dash indicates that the ion concentration is below the detection limit of the method.

гидробиологических проб, измерения факторов среды, обработку материалов проводили по методике изучения биогеоценозов внутренних водоёмов, математическую обработку данных проводили методами статистического анализа с применением программы STATISTIKA 10.0 [7–10].

### Результаты и обсуждение

Результаты экспедиционных исследований показали, что озёра Кумо-Маньчской впадины имеют чётко выраженные крутые берега и плоское дно с соленосной глиной, которая покрывается кристаллами соли при высыхании озёр в сухие годы. Основное питание происходит за счёт атмосферных осадков, талых и грунтовых вод.

Озеро Большое Яшалтинское является наиболее крупным из Маньчской группы озёр с площадью водной поверхности в межень 41,0 км<sup>2</sup>. При экстремально высоком наполнении оз. Маньч-Гудило до отметок 15,52–15,50 м возможно поступление части

его стока в озеро Большое Яшалтинское и образование единого водного зеркала с озером Малое Яшалтинское [11].

Озеро Джама, как и другие озёра Маньчской группы, имеет реликтовое происхождение и функционирует за счёт выщелачивания слагающих впадину морских отложений поверхностными и грунтовыми водами, к концу лета может полностью или частично пересыхать. При этом площадь водной поверхности озера Джама в весенний период составляет соответственно 5 км<sup>2</sup>, минерализация воды в годы исследований в зависимости от сезона года варьировала от 108 до 426 г/л.

Результаты многолетнего мониторинга показали, что общая минерализация воды в оз. Большое Яшалтинское может достигать 441,3 г/л. Вместе с тем, при подаче в водоём пресной воды по каналу РР-4 (Ростовский распределитель) Право-Егорлыкской оросительно-обводнительной системы (что имело место в 2003–2005 гг.) минерализация может уменьшаться до 78,3–80,0 г/л (табл. 1).

## МОНИТОРИНГ ПРИРОДНЫХ И АНТРОПОГЕННО НАРУШЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ

Минерализация и химический состав озёр значительно колеблются по годам и сезонам в зависимости от количества осенне-зимних осадков, испаряемости и подачи пресной воды. При этом наименьшая концентрация солей отмечается в весенний период и наибольшая – в конце лета, химический состав изменяется от сульфатно-хлоридного магниево-натриевого до хлоридного натриево-магниевого.

Величина минерализации водоёма Б. Яшалтинское ( $Y_{IV-V}$  и  $Y_{VI-VIII}$ ) в зависимости от гидротермического коэффициента (ГТК) ( $x$ ) за периоды апрель–май и июнь–август описываются уравнениями:

$$Y_{IV-V} = 124,90 + 162,36x - 140,07x^2 \quad (1)$$

$$Y_{VI-VIII} = 798,52 - 1352,96x - 625,36x^2 \quad (2)$$

$(n = 30; r^2 = 0,14; p = 0,04).$

Решение уравнений показывает, что наиболее сильная степень минерализации формируется в летний период при значении ГТК ( $x$ ) 0,3–0,4 (рис. 2).

Результаты исследований показали, что оз. Большое Яшалтинское и Джама по сумме

ионов относятся к гипергалинным водоёмам Маньчской группы.

Нами выявлено 25 видов водорослей, в том числе 24 вида диатомовых (*Nitzschia* sp., *N. compressa* (Bailey) Boyer, *N. constricta* (Kütz.) Ralfs in Pritch., *N. epithemoides* Grun., *N. hungarica* Grun., *N. pellucida* Grun., *N. pusilla* Grun., *N. scalpeliformis* Grun.; *Surirella brebissonii* Krammer & Lange-Bertalot, *S. hoefleri* Hust.; *Navicula lundii* Reinch., *N. phyllepta* Kütz., *N. salinarum* Grun., *Amphora coffeaeformis* (Ag.) Kütz., *Craticula halophila* (Grun.) D.G. Mann, *Cylindrotheca gracilis* (Bréb. ex Kütz.) Grun., *Entomoneis alata* (Ehr.) Ehr., *Fragilaria fasciculata* (Ag.) Lange-Bertalot, *Gyrosigma acuminatum* (Kütz.) Rabenh., *Hantzschia vivax* (W.Sm.) M. Peragallo, *Rhopalodia gibberula* (Ehr.) O. Müll., *Stauroneis anceps* Ehr., *Stephanodiscus* sp., *Thalassiosira* sp.) и 1 вид зелёных (*Dunaliella salina* Teod.). Представители альгофлоры в условиях высокой минерализации воды обладают высокой пластичностью и способны выдерживать резкие перепады и широкие пределы солёности [12–14].

Эти микрофиты служат основным источником питания рачка партеногенетической популяции артемии. Результаты исследований

**Таблица 2 / Table 2**

Морфологическая характеристика половозрелых особей рачка *Artemia salina* L. в гипергалинных водоёмах Кумо-Маньчской впадины  
Morphological characteristics of mature crustaceans *Artemia salina* L. in the hypergalin reservoirs of the Kumo-Manych depression

Показатель Indicator	Месяц / Month				
	апрель April	май May	июнь June	июль July	август August
озеро Большое Яшалтинское / Bol'shoe Yashaltinskoe lake					
Минерализация воды, г/л / Water mineralization, g/L	152,0±5,6	162,3±4,7	176,8±8,5	202,5±11,2	260,2±15,4
Длина тела, мм Body length, mm	9,25±0,19	10,50±0,11	9,13±0,25	10,25±0,20	10,75±0,26
$L_{max}$	11,50±0,22	13,50±0,30	11,25±0,18	12,50±0,10	14,00±0,17
$L_{min}$	7,00±0,12	7,50±0,15	7,00±0,09	8,00±0,26	7,50±0,14
$L_{max}:L_{min}$	1,64	1,80	1,61	1,56	1,87
озеро Джама / Jama lake					
Минерализация воды, г/л / Water mineralization, g/L	165,1±5,7	180,3±5,5	208,4±9,1	276,2±13,7	310,1±18,7
Длина тела, мм Body length, mm	9,13±0,18	9,88±0,25	9,00±0,12	9,75±0,27	10,00±0,18
$L_{max}$	11,25±0,26	12,50±0,18	11,00±0,23	12,00±0,16	12,75±0,20
$L_{min}$	7,00±0,14	7,25±0,12	7,00±0,11	7,50±0,22	7,25±0,13
$L_{max}:L_{min}$	1,61	1,72	1,57	1,60	1,76

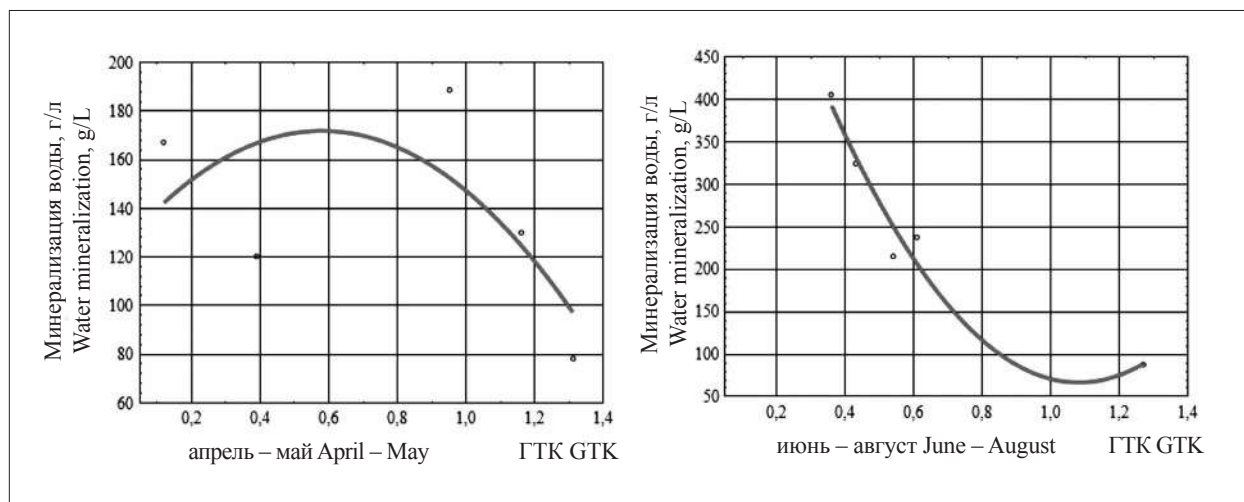


Рис. 2. Степень минерализации воды в зависимости от гидротермического коэффициента (ГТК)  
 Fig. 2. The degree of mineralization of water depending on the ГТК

показали, что высокая степень минерализации воды в водоёмах способствует развитию и размножению рачка-жабронюга *Artemia salina* L. [15–17]. Так, его популяции были отмечены в озёрах Большое Яшалтинское и Джама, где минерализация воды составляла 80–400 г/л, в других исследуемых озёрах *Artemia salina* L. не обнаружена.

Анализ эффективности таких факторов, как биомасса артемий, минерализация воды и численности фитопланктона, а также их совместного влияния показал следующее: максимальные показатели биомассы рачка при минерализации 78,3 г/л в оз. Большое Яшалтинское составили 91,8 г/м<sup>3</sup>, в оз. Джама при минерализации 148,2 г/л – 57,7 г/м<sup>3</sup>. При увеличении минерализации воды в озёрах Манычской группы (229,8–246,1 г/л) происходит снижение численности фитопланктона (6,6–12,1 млн кл./л) и биомассы артемий (20,7–57,6 г/м<sup>3</sup>). По результатам мониторинга установлено, что для активной жизнедеятельности *Artemia salina* L. оптимальный порог солёности воды составляет 80–200 г/л.

Следует отметить, что при неблагоприятных условиях внешней среды (минерализация воды более 300 г/л) *Artemia salina* L. погибает, но при этом популяции сохраняются в грунтах озёр в виде цист, численность которых составляет 49,1–252,3 тыс. экз./м<sup>3</sup>.

Анализ структуры популяции *Artemia salina* L. показал, что в оз. Б. Яшалтинское она состояла в основном из самок (до 27,2 тыс. экз./м<sup>3</sup>), самцы имелись в единичных экземплярах, а численность науплиусов варьировала от 15,0 до 41,7 тыс. экз./м<sup>3</sup>, что на 47–71% больше, чем в оз. Джама.

Изучение морфологических особенностей *Artemia salina* L. показало, что их параметры зависят от гидрохимического режима озера. Так, в оз. Джама при минерализации воды 165,1–310,1 г/л размерный состав половозрелых рачков артемий колебался от 7,00 до 12,75 мм, при средней длине примерно 9,50 мм. В оз. Большое Яшалтинское при меньшей минерализации воды длина тела половозрелых особей рачка на 2,22–9,80% больше, чем в оз. Джама (табл. 2).

Зависимость между минерализацией воды (x) и средней длиной тела рачков (y) аппроксимируется уравнением вида:  $Y = 8,9118 + 0,0041x$  (n = 60; r = 0,38; p = 0,03; r<sup>2</sup> = 0,14). Длина тела науплиусов в период исследований варьировала в пределах 0,560–2,700 мм, составляя в среднем 1,70±0,51 мм (σ = 0,880, C<sub>v</sub> = 51,65%). Последующие ювенильные стадии развития рачка имели среднюю длину тела от 3,750 до 6,500 мм (5,17±0,65, σ = 1,124, C<sub>v</sub> = 21,76%). Диаметр цист *Artemia salina* L. составлял от 0,250 до 0,400 мм.

### Заключение

Проведённый комплексный мониторинг водоёмов Кумо-Манычской впадины показал, что они обладают повышенной степенью минерализации воды. Установлено, что наиболее сильная степень минерализации поверхностных вод в озёрах Манычской группы формируется в летний период при значении ГТК 0,3–0,4. Обнаружено 24 вида диатомовых и 1 вид зелёных (*Dunaliella salina* Teod.) водорослей. В озёрах отмечено развитие двух–трёх генераций рачка *Artemia salina* L., средняя



численность разновозрастного рачка за период апрель–август в оз. Большое Яшалтинское – 3,07–61,14 тыс. экз./м<sup>3</sup>, в оз. Джама – 10,05–23,15 тыс. экз./м<sup>3</sup>. Установленная зависимость между минерализацией воды ( $x$ ) и средней длиной тела рачков ( $Y$ ) аппроксимируется уравнением вида:  $Y = 8,9118 + 0,0041 x$  ( $n = 60$ ;  $r = 0,38$ ;  $p = 0,03$ ;  $r^2 = 0,14$ ).

### Литература

1. Алексеевский Н.И. Гидрофизика: учебник для ВУЗов. М.: Академия, 2006. 176 с.
2. Богун Н.М. Изучение степных экосистем заповедной зоны озера Маньч-Гудило // Роль особо охраняемых природных территорий в сохранении биоразнообразия. Ростов-на-Дону: Ростовский университет, 2006. С. 174–176.
3. Ulanova S. The reservoirs of the Kuma-Manych depression in the territory of Kalmykia: regimen, ecotonic systems of the shores, and use // Applied Problems of Arid Lands Development. 2011. No. 2 (47). P. 33–45.
4. Лурье П.М., Панов В.Д., Саломатин А.М. Река Маньч // Гидрография исток. СПб.: Гидрометеиздат, 2001. 160 с.
5. Бакташева Н.М., Дедова Э.Б., Иванова В.И., Кониева Г.Н. Экосистема гипергалинных водоёмов Калмыкии. Элиста: ФГБОУ ВПО Калмгосуниверситет, 2015. 145 с.
6. Бамбеева В.И., Бакташева Н.М., Дедова Э.Б. Комплексная характеристика биоценоза гипергалинного водоёма Калмыкии // Естественные науки. 2009. № 3. С. 20–24.
7. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Альянс, 2014. 351 с.
8. Методика изучения биогеоценозов внутренних водоёмов / Под ред. Ф.Д. Мордухай-Болтовского. М.: Наука, 1975. 240 с.
9. Van Stappen G. Introduction, biology and ecology of *Artemia* // Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. 1996. V. 361. P. 70–106.
10. Сокольская Е.В., Кочуров В.И., Долгов Ю.А., Лобковский В.А. Многофакторная модель как основа управления качеством окружающей среды урбанизированных территорий // Теоретическая и прикладная экология. 2018. № 2. С. 26–34.
11. Овчинников А.С., Бородычев В.В., Дедова Э.Б., Иванова В.И. Особенности экосистем солёных водоёмов Калмыкии // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. 2015. № 4 (40). С. 10–21.
12. Анисимова О.В., Бамбеева В.И. Водоросли озера Большое Яшалтинское // Проблемы сохранения и рационального использования биоразнообразия Прикаспия и сопредельных регионов. Вып. 2. Элиста: Изд-во КГУ, 2005. С. 9–10.

13. Graham L., Wilcox L. Algae. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2000. 650 p.
14. Krammer K. Cymbopleura, Delicata, Navicymbula, Gomphocymbellopsis, Afrocymbula // Diatoms of Europe: Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats. 2003. V. 4. P. 1–530.
15. Убаськин А.В. Эколого-биологические особенности рачка *Artemia*: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Павлодар, 2005. 20 с.
16. Mamontov J., Litvinenko A., Litvinenko L. About conditions and use of *Artemia* resources in Russia // International Workshop on Artemia. Iran: Urmia University, 2001. 32 p.
17. Litvinenko L.I., Kozlov A.V., Kovalenko A.I., Bauer D.S. Salinity of water as a factor to determine the development of the brine shrimp *Artemia* populations in Siberian lakes // Hydrobiologia. 2007. V. 576. P. 95–101.

### References

1. Alekseevsky N.I. Hydrophysics: a textbook for high schools. Moskva: Academia, 2006. 176 p. (in Russian).
2. Bohun N.M. Study of steppe ecosystems of the Manych-Gudilo lake conservation zone // Role of specially protected natural areas in the conservation of biodiversity. Rostov-on-Don: Rostov University, 2006. P. 174–176 (in Russian).
3. Ulanova S. The reservoirs of the Kuma-Manych depression in the territory of Kalmykia: regimen, ecotonic systems of the shores, and use // Applied Problems of Arid Lands Development. 2011. No. 2 (47). P. 33–45.
4. Lurie P.M., Panov V.D., Solomatina A.M. The River Manych // Hydrography source. Sankt-Peterburg: Gidrometeoizdat, 2001. 160 p. (in Russian).
5. Baktasheva N.M., Dedova E.B., Ivanova V.I., Konieva G.N. Ecosystem of hypergalin reservoirs of Kalmykia. Elista: FGBOU VPO Kalmgosuniversitet, 2015. 145 p. (in Russian).
6. Bambeeva V.I., Baktasheva N.M., Dedova E.B. Complex characteristic of the biocenosis of the hypergalin basin of Kalmykia // Estestvennye nauki. 2009. No. 3. P. 20–24 (in Russian). doi: 10.18384/2310-7189-2009-3-20-24
7. Dospikhov B.A. Method of field experience (with the basics of statistical processing of research results). Moskva: Al'yans, 2014. 351 p. (in Russian).
8. Methods of studying the biogeocenoses of inland waters /Ed. F.D. Mordukhay-Boltovskiy. Moskva: Nauka, 1975. 240 p. (in Russian).
9. Van Stappen G. Introduction, biology and ecology of *Artemia* // Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. 1996. V. 361. P. 70–106.
10. Sokolskaya E.V., Kochurov V.I., Dolgov Yu.A., Labkovsky V.A. Multi-factor model as the basis of environmental quality management in urbanized territories // Theoretical and Applied Ecology. 2018. No. 2. P. 26–34 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2018-2-026-034

11. Ovchinnikov A.S., Borodichev V.V., Dedova E.B., Ivanova V.I. Peculiarities of the ecosystems of the salt water bodies of Kalmykia // *Izvestiia Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: nauka i vysshee professionalnoe obrazovanie*. 2015. No. 4 (40). P. 10–21 (in Russian).

12. Anisimova O.V., Bambeeva V.I. Algae of lake Bolshoye Yashaltinskoe // *Problems of conservation and rational use of biodiversity of the Caspian region and adjacent regions*. No. 2. Elista: izd-vo KGU, 2005. P. 9–10 (in Russian).

13. Graham L., Wilcox L. *Algae*. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2000. 650 p.

14. Krammer K. *Cymbopleura*, *Delicata*, *Navicymbula*, *Gomphocymbellopsis*, *Afrocymbula* // *Diatoms of*

Europe: *Diatoms of the European inland waters and comparable habitats*. 2003. V. 4. 530 p.

15. Ubaskin A.V. Ecological and biological features of the *Artemia*: Avtoref. diss. ... kand. biol. nauk. Pavlodar, 2005. 20 p. (in Russian).

16. Mamontov J., Litvinenko A., Litvinenko L. About conditions and use of *Artemia* resources in Russia // *International Workshop on Artemia*. Iran: Urmia University, 2001. 32 p.

17. Litvinenko L.I., Kozlov A.V., Kovalenko A.I., Bauer D.S. Salinity of water as a factor to determine the development of the brine shrimp *Artemia* populations in Siberian lakes // *Hydrobiologia*. 2007. V. 576. P. 95–101. doi: 10.1007/s10750-006-0296-8

**Мониторинг природных и природно-антропогенных объектов  
в провинции Вятско-Камской возвышенности**

© 2020. М. Г. Дворников, д. б. н., в. н. с.,

В. В. Ширяев, д. б. н., в. н. с.,

**В. Г. Сафонов**, д. б. н., профессор, член-корреспондент РАН, г. н. с.,

Д. П. Стрельников, м. н. с.,

Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства  
и звероводства им. профессора Б. М. Житкова РАН,  
610000, Россия, г. Киров, ул. Преображенская, д. 79,  
e-mail: Dvornikov50@mail.ru

В работе обобщены результаты тридцатилетних стационарных исследований зональных природных и антропогенно нарушенных биогеоценозов (БГЦ) на основе естественных экосистем и их компонентов в провинции Вятско-Камской возвышенности. Сочетание в иерархическом ряду природных, природно-антропогенных и антропогенных объектов является хронологической основой экологического мониторинга. Проведён анализ структуры региональных экосистем и использования биоресурсов в изменяющихся природно-климатических и антропогенных условиях. Благодаря выявленным параметрам структурно-функциональной организации БГЦ и их ёмкости установлен (в цифровых значениях) тренд преобразований тайги в смешанные и омоложенные леса. Процесс преобразования сопровождается увеличением кальция в природных объектах и компонентах среды к югу региона и подтверждает изменения биогеохимического круговорота таёжного типа, влекущего за собой снижение способности восстанавливать и поддерживать естественное количество воды на водосборе Камского бассейна и его агрегаций, и климата в целом. Вместе с тем, эмерджентность, динамичное функционирование БГЦ и прогноз их развития открывает инновационные и инвестиционные перспективы для эффективного природопользования и развития региона.

**Ключевые слова:** природно-антропогенные объекты, биологическая продуктивность, прогнозирование экологических рисков и безопасности.

**Monitoring of natural and natural-anthropogenic objects  
in the province of Vyatka-Kama Upland**

© 2020. M. G. Dvornikov ORCID: 0000-0002-8261-5783<sup>?</sup>

V. V. Shiryaev ORCID: 0000-0002-4549-5727<sup>?</sup>

**V. G. Safonov** ORCID: 0000-0002-4827-4209<sup>?</sup>

D. P. Strelnikov ORCID: 0000-0002-9814-631X<sup>?</sup>

Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming of RAS,  
79, Preobrazhenskaya St., Kirov, Russia, 610000,  
e-mail: Dvornikov50@mail.ru

The review summarizes the results of thirty years stationary studies of zonal natural and anthropogenically disturbed biogeocenoses (BGC) based on natural ecosystems and their components in the province of Vyatka-Kama Upland. The combination in the hierarchical series of natural, natural-anthropogenic and anthropogenic objects is the chorological basis of environmental monitoring. The analysis of the structure of regional ecosystems and the use of biological resources in changing climatic and anthropogenic conditions is carried out. Due to the identified parameters of the structural and functional organization of the BGC and their capacity, the trend for the conversion of taiga into mixed and rejuvenated forests has been established (in numerical values). The conversion process is accompanied by an increase in calcium to the south of the region and confirms changes in the biogeochemical cycle of the taiga type, which entails a decrease in the ability to restore and maintain the natural amount of water in the Kama basin and its aggregations and the climate as a whole. At the same time, the emergence, dynamic functioning of the BGC and the forecast for their development opens up attractive innovative and investment prospects for effective environmental management and development of the region.

**Keywords:** natural and anthropogenic objects, biological productivity, forecasting of ecological risks and safety.

Одним из главных показателей, характеризующих поддержание динамики устойчивого (динамичного) равновесия биосферных процессов, подверженным влиянию практически всех видов и форм хозяйственной деятельности человека, а также являющимся интегральным показателем хозяйствования и природопользования служит биологическая продуктивность. Факторы, от которых зависит биологическая продуктивность, это динамичное возобновление, безопасное состояние ресурсов и качества среды, обеспечивающиеся в результате функционирования биоты и неживых компонентов как единого целого в параметрах вещественного круговорота и потока энергии в конкретных пространственно-территориальных границах естественных экологических систем, антропогенных объектов, развитие которых можно прогнозировать на основе экологического мониторинга. Программы мониторинга, от межгосударственного до локального уровней, востребованы с 1980-х годов. При использовании данных мониторинга, с одной стороны, возможно предотвратить ухудшение состояния биоты, качества биоресурсов и природной среды, с другой – получить наивысший хозяйственный эффект [1–4]. Подобного рода подход со строго ориентированным вектором к практическому применению и с прогнозом ноосферного развития осознаётся мировым сообществом как единственный способ безопасного выживания человечества в современных условиях.

Целью настоящей работы был обзор результатов исследований в среднетаёжных и южнотаёжных биогеоценозах (БГЦ), находящихся на территории Кировской области, с целью выбора основных индикаторов оценки экологического состояния и развития биогеоценологических (биосферных) процессов.

В задачи исследований входило выявление динамики вещественно-энергетического потока в БГЦ и обоснование на основе его показателей возможности и перспектив их использования: при экологической экспертизе природных (ПО) и природно-антропогенных объектов (ПАО), в прогнозировании эколого-экономического развития Кировской области.

### Объекты и методы исследования

Стационарные исследования проводились в 1989–2018 гг. в БГЦ, находящихся в разных режимах природопользования и охраны, расположенных в особо охраняемых природных территориях (ООПТ) и задействованных хо-

зяйственной деятельностью человека участках ПАО. В работе использовали комплексный научный подход для обобщения палеоэкологических, археологических, экологических и иных материалов [1]. Объектами исследований были особи, популяции, группы БГЦ, входящие в ПАО. На стационарах по общепринятым методикам проводили таксацию древостоев, определение прироста и запасов фитомассы, размера листового опада и отпада; прослеживалась продуктивность, учитывали зоомассу наземных позвоночных и почвенных беспозвоночных животных; осуществлялся отбор проб осадков, живой зоомассы и фитомассы, ветоши, опада, подстилки и почвы для определения содержания в них химических элементов. В соответствии с методиками количество площадок, проб, измерений и анализов обеспечивало статистическую обработку материалов, анализы проводились в аттестованных лабораториях [1]. Термины приведены по Федеральному закону от 10.01.2002 г. ФЗ №-7 «Об охране окружающей среды».

### Результаты и обсуждение

На материалах жизнедеятельности региональной биоты выявлено, как в конкретных зональных условиях окружающей среды сформировались биогеохимические циклы и восстановительные сукцессионные ряды, обеспечивающие стабильность БГЦ и биосферы в целом за счёт высокого биоразнообразия на разных его уровнях (молекулярно-генетическом, популяционно-видовом, сообществ и экосистем) [1–5]. На региональном иерархическом уровне выделяются два типа геопространств: природные зоны, провинции и речные бассейны [1, 3, 6]. На основе полученных результатов исследований установлено, что естественные экологические системы (ЕЭС) региона исследований обладают эмерджентностью [3]. Признаки этих систем – целостность и наличие у элементов общей цели – поддержание биогеоценологических и водорегулирующих процессов. В пространстве (в том числе в иерархическом ряду) этот режим волновой, а в системе, где поддерживается устойчивость – автоволновой. При этом важны не только современные оценки состояния, но и прошлые временные этапы изменений и преобразований БГЦ, динамики развития хозяйственной деятельности и использования ресурсов в голоцене [1]. Это позволило, в первую очередь, рассматривать различные ПО, ПАО (включая урбанизированные) и антропоген-

ные объекты (АО) в виде исторически упорядоченных единств, во-вторых, территориально дифференцировать практические мероприятия природопользователей в конкретных природных первичных ячейках – БГЦ. Именно эти представления лежат в основе развития БГЦ и мониторинга биоразнообразия. В связи с хозяйственной деятельностью и плотностью поселений человека на Северо-Востоке Кировской области в голоцене были изучены динамика природной среды и изменение состояния биоресурсов. На основе анализа поселений древних охотников и состава их пищи выявлена зависимость сбора пищевой продукции, роста биомассы домашних животных от плотности населения жителей и площади поселения. Этот процесс динамичен. К примеру, у Наговицинского городища в 1374 г. основан г. Вятка (ныне 510 тыс. чел.), здесь и в десятке городов (возникших в XV–XVII вв.) проживает 74% жителей Кировской области. При снижающейся численности населения в XXI в. (на 30%) плотность его составляет уже не 14, а 11 чел./км<sup>2</sup>. Так, городские АО, утратившие признаки и свойства ПАО, возникли из преобразованных ПО, и те, и другие имеют критерии выделения территорий для их идентификации, оценок состояния, мониторинга и стратегического планирования. Вместе с тем в поддержании биоразнообразия лесных БГЦ ведущая роль принадлежит восстановительным сукцессиям, жизнедеятельности растений-эдификаторов, доминирующим в сообществах животным, и антропогенной деятельности – это также объекты экологического мониторинга [4]. Состояние биоразнообразия в климаксовых формациях заповедников (в ООПТ Кировской области «Летопись природы» ведётся с 1990-х гг.) легли в основу сравнительных оценок состояния, мониторинга и эффективности природопользования в конкретных ПО. Особо важно, если сопряжённо с ООПТ расположены хозяйственно освоенные участки с типологически близкими БГЦ, развивающимися под воздействием природно-антропогенных факторов. Здесь в сравнительных исследованиях (опыт-контроль) и выявляется информационно-аналитическая роль индикатора – эталонных БГЦ. Приоритетное изучение таких ЕЭС, как природных эталонов, отмечается мировым сообществом, природоохранным законодательством и экологической доктриной России. При познании регионального уровня выделения и установления объёма и границ БГЦ учитывалось, что БГЦ имеет территориальную про-

тяжённость и близок к элементарному ландшафту. В этом случае интегрально использовано одно из основных их функциональных свойств – тип обмена веществом и поток энергии. Это свойство включает состав и иерархию всех звеньев вещественно-энергетического потока. Роль каждого из них, в том числе объёма и скорости превращений вещества и энергии, направления их преобразования, и главное, отмеченной законодательством сбалансированности функциональных процессов между продукцией и деструкцией органического вещества. По представленным материалам прослежены функционирование БГЦ, сбалансированность взаимосвязей в пищевой цепи: растительность – травоядные – хищники – редуценты, и как проявляются особенности биологического круговорота веществ в разных БГЦ. С этой целью всегда выявлялась структура биомассы основных компонентов природных, изменённых и преобразованных БГЦ. Подробные характеристики их лесонасаждений, параметры круговорота зольных веществ, азота и других элементов, потока энергии приводятся в работах [1, 3]. На пробных площадках, в пригородной зоне г. Кирова (ныне ООПТ) прослежены характеристики древостоев урбанизированных территорий, собраны и взвешены антропогенные предметы. Здесь заметны бытовые отходы, их имеется более 1–2 кг/га. В природных БГЦ наблюдается другая структура сообществ. Средняя биомасса позвоночных животных здесь в 1400 раз меньше среднего годового прироста надземной фитомассы, а в урбанизированных – в 1500–1700 раз меньше. Следовательно, меньше здесь их функциональная роль и устойчивость БГЦ. Отмеченное прослеживается и по энергопотоку, за последние 60 лет в Кировской области леса омоложены (спелых 28% от прежних 43%) и стали смешанными [1]. В итоге индексы отношения фитомассы к первичной продукции в средней и южной тайге – 0,015 и 0,025, значения которых близки к величинам лиственных по величине лиственных и смешанных лесов (0,028 и 0,033). Качество и состояние окружающей среды характеризуется физическими, химическими и биологическими показателями, и (или) их совокупностью, однако в числе нормативов в Российской Федерации (РФ) до настоящего времени не определены главные функциональные показатели популяций, сообществ и экосистем как основных составных частей структуры, сохранения и использования биоразнообразия. Оценки состояния,

использования и мониторинг биоразнообразия особенно необходимы в основе современных прогнозов и экологической экспертизе. Пока же популяционные структуры биологических компонентов среды и объектов природопользования в регионе изучены единично [1, 7, 8]. Между тем, нормативы допустимых нагрузок в пределах конкретных территорий ЕЭС должны обеспечивать соблюдение устойчивого функционирования и сохранения всех уровней биоразнообразия. Так, в границах ёмкости круговорота реализуются современные эволюционные процессы БГЦ, расположенных в природных зонах, и возможность их самовосстановления после негативных воздействий. Это обеспечивается благодаря неразрывному взаимодействию всех уровней биоразнообразия, которое прошло и проходит эволюционную «притирку» в конкретной изменяющейся среде обитания ЕЭС. Поэтому в природоохранной (экспертной) деятельности в обозначении нормы и импактного мониторинга, особенно прогноза устойчивого развития [1, 3], необходимы фундаментальные научные сравнительные (исходные) сведения, полученные на ООПТ и на территории ПАО (региональный уровень мониторинга). Заметим, заповедники размещены зонально (других эталонов биоты и биоразнообразия на планете нет). Однако, загрязняющие вещества из АО переносятся воздушными или водными потоками на значительные расстояния, и неизвестно, где и сколько их входит в другую конкретную ЕЭС. К примеру, биогеохимическая миграция была отмечена по содержанию, накоплению, перемещению и распределению зольных веществ, азота и других элементов (включая тяжёлые металлы (ТМ) и радиоактивные вещества) по структурным блокам природных (зональных фоновых) и освоенных БГЦ и использовалась для выявления ореолов, фона и далее – углеродного цикла. В лесных (1–5 бонитета) и луговых БГЦ, находящихся вне зоны промышленных воздействий, запас, ёмкость, интенсивность потоков химических веществ и запасов углерода соответствуют зональным значениям, однако в весенних наносах, привнесённых половодьем, содержание ТМ и радиоактивных веществ заметно выше. Поэтому рассчитанный ежегодный (от всходов до стадии отпада древесины) и вековой оборот химических элементов, а также кларковое содержание (в том числе и ТМ), согласно выявленной продуктивности и структуры фитомассы, указывают на их древнее и современное присутствие в БГЦ [1]. Здесь подстилка в

вертикальной структуре БГЦ – главный геохимический барьер (контролируется реперами, шаблонами, сеточной изоляцией и т. д.), проявление и содержание ореолов зависит от точной (по шаблону) фиксации (на стационарах) сезонной ветоши и ежегодного опада и отпада, геоморфологических и гидрологических условий. В болотных БГЦ из-за вторичного сорбционного накопления содержание химических элементов в ореолах выше. Эти материалы исследования показывают уникальность конкретных ПО и ПАО и дают возможность ответить, какая часть химических элементов ежегодно вовлекается в биологический круговорот и какие параметры его могут использоваться для нормирования, а какая доля безвредно для живого уходит в геологический круговорот. Вместе с тем, исследования по экосистемному уровню биоразнообразия в регионе также немногочисленны [1, 9–11]. Возможно, исследования на экосистемном и популяционном уровнях интенсифицируются вслед за возникшей проблемой утилизации отходов. Для региональных ПАО, преобразованных в урбанизированные территории с вторичными лесонасаждениями, характерны: высокие показатели фрагментированности (от 3 и более участков на один км<sup>2</sup>, от 0,6% и более площадь дорог и троп); значительное число синантропных видов; лесопокрытая площадь менее 50%; на 15–30% меньше накопление подстилки (из-за троп), опада, отпада; снижена до 45–60% продуктивность; отличается структура и биомасса позвоночных животных. Перечисленные признаки уже подтверждают начало разбалансированности локальных процессов деструкции и образования продукции, а также свидетельствуют о специфике сложившегося ведомственного ресурсного природопользования. Выявленные тенденции изменения признаков также увеличивают вероятность разного рода угроз – повышение численности клещей, возникновение лесных пожаров, расселение лесостепных животных в былую тайгу. К примеру, обычными стали высокие плотности мышевидных грызунов, различных видов врановых птиц, хищных зверей у свалок бытовых отходов и садовых участков. Обилие синантропных видов – это сигнал возникновения не природных (антропогенных) биоценозов с очагами болезней, передающихся человеку и домашним животным (бешенство, клещевой энцефалит, туляремия, чума плотоядных и т. д.). Учитывая специфику застройки, из пригородных территорий некоторые виды диких

животных (кряква *Anas platyrhynchos* L., водяная полёвка *Arvicola amphibius* L., ондатра *Ondatra zibethicus* L., бобр *Castor fiber* L., лисица *Vulpes vulpes* L., американская норка *Neovison vison* S.) проникают на селитебные территории и обитают в иной среде. Многими выявленными параметрами этих сообществ и процессом использования биоресурсов нужно своевременно управлять, а не игнорировать их. Аналогичные тенденции показывают данные годичного прироста древесины (древесно-кольцевой индикации), позволяющие идентифицировать гидролого-климатические условия с учётом природных особенностей конкретной территории и акватории региона в масштабе нескольких столетий. Эти материалы необходимы для оценки нагрузок и разработки ландшафтно-экологического прогноза [1, 3, 11, 12], что возможно при большем привлечении научного потенциала в части оценок продуктивности, круговоротов веществ, потока энергии и роли компонентов в ЕЭС. Так, на основе оценок взаимосвязи управляющих структур биоразнообразия [13] у компонентов среды, при реконструкции истории генетических изменений, под влиянием климатических и антропогенных воздействий выявлены критические периоды состояния популяций даже у широко распространённой в Евразии *Lynx lynx* L. [8]. По совокупной информации можно своевременно выявить экологическую угрозу и управлять ресурсами [14], уточнить градации пожарной опасности в урбанизированных и охраняемых БГЦ; регулировать на урбанизированных территориях численность животных – переносчиков опасных болезней, передающихся человеку, что стало ныне весьма актуальным. Подчеркнём, что ПО и ПАО, их растительные и животные компоненты, используемые в регионе человеком не одно тысячелетие, по биологическим показателям качества [1] характеризуются пока хорошим состоянием и экологически благоприятной окружающей средой. Оценка среды по комплексным показателям состояния и использования биоразнообразия в зонально-территориальных единицах весьма необходима, поэтому приоритетное место в природопользовании будет занимать уже не ресурсная и ведомственная, а широко применяемая в странах с развитой экономикой эколого-экономическая составляющая, разрабатываемая региональным научно-образовательным центром. Тогда рассмотренный научный подход открывает привлекательные инновационные и инвестиционные перспек-

тивы в эффективное природопользование региона – в экологический туризм и обеспечение занятости сельского населения. Будет расширяться применение наукоёмких и экологически безопасных технологий, в которых в процессе деструкции отходов участвует биота.

### Заключение

Для перехода к устойчивому развитию необходимы:

1) идентификация ПАО, выявление структурно-функционального состояния БГЦ как обязательного информационно-аналитического индикатора регионального экологического мониторинга, с учётом представлений об улучшении качества жизненных условий и принципов стратегического планирования в части конкретных взаимосвязанных планов, эколого-экономических оценок и главное – научных прогнозов рисков и эффективности взаимосвязей регионального и муниципального уровней;

2) формирование эколого-экономического мировоззрения специалистов, обучающихся в учебных заведениях, и усиление массового экологического просвещения граждан региона;

3) целеустремленность и эффективное сотрудничество руководства федеральных и региональных органов, научной общественности и бизнеса, так как результаты скоординированной и научно обоснованной деятельности будут повышать ценность потребляемых природных ресурсов, что является главной целью рационального природопользования.

### Литература

1. Дворников М.Г. Млекопитающие в экосистемах бассейна р. Вятка (на примере особо охраняемых и освоенных территорий). Киров: Областная типография, 2007. 352 с.
2. Попова Н.В. Параметры детритной ветви малого биологического круговорота как основа для определения устойчивости почвенно-фитоценологических экосистем с разными запасами подстилки // Проблемы региональной экологии. 2017. № 4. С. 64–69.
3. Дворников М.Г., Ширяев В.В., Сафонов В.Г., Глушков В.М. Структурно-функциональная организация лесных биогеоценозов как информационно-аналитический индикатор выявления угроз экологического характера и изменения климата // Известия Самарского НЦ РАН. 2012. Т. 14. № 5. С. 20–25.
4. Wackernagel M., Schulz N.B., Deumling D., Linares A.C., Jenkins M., Kapos V., Monfreda C., Loh J., Myers N., Norgaard R., Randers J. Tracking the ecological

overshoot of the human economy // PNAS. 2002. V. 99. No. 14. P. 9266–9271.

5. Программа и методика биогеоценологических исследований / Под ред. Н.В. Дылиса. М.: Наука, 1974. 404 с.

6. Мильков Ф.Н. Природные зоны СССР. М.: Мысль, 1977. 293 с.

7. Видякин А.И. Индексная оценка признаков популяционной структуры сосны обыкновенной // Лесоведение. 1991. № 1. С. 57–62.

8. Lucena-Perez M., Marmesat E., Kleinman-Ruiz D., Martínez-Cruz B., Węcek K., Saveljev A.P., Seryodkin I.V., Okhlopov I.M., Dvornikov M.G., Ozolins J., Naranbaatar G., Paunovic M., Ratkiewicz M., Schmidt K., Godoy J.A. Genomic patterns in the widespread Eurasian lynx shaped by Late Quaternary climatic fluctuations and anthropogenic impacts // Molecular Ecology. 2020. V. 29. No. 4. P. 812–828.

9. Пристова Т.А. Биологический круговорот веществ во вторичном лиственном-хвойном насаждении средней тайги // Экология. 2008. № 3. С. 189–195.

10. Усольцев В.А. Фитомасса и первичная продуктивность лесов Евразии. Екатеринбург: УрО РАН, 2010. 570 с.

11. Сергиенко В.Г. Влияние ожидаемого изменения климата на баланс углерода и продуктивность экосистем в лесном секторе Российской Федерации // Труды Санкт-Петербургского НИИ лесного хозяйства. 2018. № 1. С. 74–90.

12. Critical loads for sulphur and nitrogen // Report from a workshop held at Skokloster / Eds. J. Nilsson, P. Grennfelt. Sweden: Miljorapport 15, 1988. 418 p.

13. Тимофеев-Ресовский В.Н. Генетика, эволюция, значение методологии в естествознании. Екатеринбург: Токмасс-Пресс, 2009. 240 с.

14. Глушков В.М., Дворников М.Г., Колесников В.В., Сафонов В.Г., Сергеев А.А., Шевнина М.С., Ширяев В.В. Факторы, препятствующие управлению ресурсами диких копытных животных в России // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 3. С. 76–83.

## References

1. Dvornikov M.G. Mammals in the ecosystems of the Vyatka river basin (on example of specially protected and developed territories). Kirov: Oblastnaya tipografiya, 2007. 352 p. (in Russian).

2. Popova N.V. Parameters of the detrital branch of the small biological cycle as a basis for determining the stability of soil-phytocenotic ecosystems with different litter stocks // Problemy regionalnoy ekologii. 2017. No. 4. P. 64–69 (in Russian).

3. Dvornikov M.G., Shiryayev V.V., Safonov V.G., Glushkov V.M. Structural and functional organization of forest biogeocenoses as an information-analytical indicator for identifying environmental threats and climate change // Izvestiya Samarskogo NCRAN. 2012. V. 14. No. 5. P. 20–25 (in Russian).

4. Wackernagel M., Schulz N.B., Deumling D., Linares A.C., Jenkins M., Kapos V., Monfreda C., Loh J., Myers N., Norgaard R., Randers J. Tracking the ecological overshoot of the human economy // PNAS. 2002. V. 99. No. 14. P. 9266–9271. doi: 10.1073/pnas.142033699

5. Program and methodology of biogeocenological research / Ed. N.V. Dylis. Moskva: Nauka, 1974. 404 p. (in Russian).

6. Milkov F.N. Natural zones of the USSR. Moskva: Mysl, 1977. 293 p. (in Russian).

7. Vidyakin A.I. Index assessment of the signs of the population structure of Scots pine // Lesovedenie. 1991. No. 1. P. 57–62 (in Russian).

8. Lucena-Perez M., Marmesat E., Kleinman-Ruiz D., Martínez-Cruz B., Węcek K., Saveljev A.P., Seryodkin I.V., Okhlopov I.M., Dvornikov M.G., Ozolins J., Naranbaatar G., Paunovic M., Ratkiewicz M., Schmidt K., Godoy J.A. Genomic patterns in the widespread Eurasian lynx shaped by Late Quaternary climatic fluctuations and anthropogenic impacts // Molecular Ecology. 2020. V. 29. No. 4. P. 812–828 (in Spain). doi: 10.1111/mec.15366

9. Pristova T.A. The biological cycle of substances in the secondary deciduous coniferous stands of the middle taiga // Ekologiya. 2008. No. 3. P. 189–195 (in Russian).

10. Usoltsev V.A. Phytomass and primary productivity of forests of Eurasia. Yekaterinburg: UrO RAS, 2010. 570 p. (in Russian).

11. Sergienko V.G. Influence of expected climate change on the carbon balance and productivity of ecosystems in the forest sector of the Russian Federation // Trudy Sankt-Peterburgskogo NII lesnogo khozyaystva. 2018. No. 1. P. 74–90 (in Russian).

12. Critical loads for sulphur and nitrogen // Report from a workshop held at Skokloster / Eds. J. Nilsson, P. Grennfelt. Sweden: Miljorapport 15, 1988. 418 p.

13. Timofeev-Ressovsky V.N. Genetics, evolution, the importance of methodology in the natural Sciences. Ekaterinburg: Toklass-Press, 2009. 240 p. (in Russian).

14. Glushkov V.M., Dvornikov M.G., Kolesnikov V.V., Safonov V.G., Sergeev A.A., Shevнина M.S., Shiryayev V.V. Factors hindering resource management of wild ungulates in Russia // Theoretical and Applied Ecology. 2012. No. 3. P. 76–83 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2012-3-076-083



## Новый подход к оценке состояния запасов рыб на примере леща

© 2020. В. Г. Терещенко<sup>1</sup>, д. б. н., г. н. с.,  
Ф. М. Шакирова<sup>2</sup>, к. б. н., доцент, зам. руководителя филиала,  
В. З. Латыпова<sup>3,4</sup>, д. х. н., член-корр. АН РТ, профессор, г. н. с.,  
Н. Ю. Степанова<sup>3</sup>, д. б. н., доцент, зав. кафедрой,  
Ю. А. Северов<sup>2</sup>, к. б. н., зав. лабораторией,  
О. К. Анохина<sup>2</sup>, к. х. н., зав. лабораторией, А. Р. Гайсин<sup>2,3</sup>, м. н. с.,  
магистрант, А. В. Гранин<sup>2</sup>, н. с., Р. Р. Нуретдинов<sup>2</sup>, м. н. с.,

<sup>1</sup>Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН,  
152742, Россия, Ярославская обл., Некоузский район, п. Борок, д. 109,

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии,  
Татарский филиал ФГБНУ «ВНИРО», «ТатарстанНИРО»,  
420111, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Тази Гиззата, д. 4,

<sup>3</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет,  
420008, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18,

<sup>4</sup>Институт проблем экологии и недропользования АН РТ,  
420087, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Даурская, д. 28,  
e-mail: ecoanrt@yandex.ru

Приведён подход к оценке состояния рыбных ресурсов как многоуровневой системы анализа изменений структурно-функциональных характеристик популяций рыб. Рассматриваемый подход опробован на примере модельного вида леща (*Abramis brama* L.) как основного промыслового вида в Куйбышевском водохранилище с использованием данных за период 2000–2018 гг. На основе расчёта коэффициента естественной смертности путём аппроксимации кривой населения с учётом возрастного состава уловов показано, что при стабильном пополнении промыслового стада и вступлении в промысел высоко- и малочисленных поколений в зависимости от условий нереста снижения запасов леща не предвидится. Результаты исследований будут полезны для оценки состояния популяций рыб, разработки мероприятий по рациональному освоению их запасов в водохранилищах.

**Ключевые слова:** рыбы, популяция, динамика, структура, мониторинг состояния.

## New approach to assessing the state of fish stocks on the example of bream

© 2020. V. G. Tereshchenko<sup>1</sup> ORCID: 0000-0003-4170-9529, F. M. Shakirova<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-9865-260X,  
V. Z. Latypova<sup>3,4</sup> ORCID: 0000-0002-8490-6939, N. Y. Stepanova<sup>3</sup> ORCID: 0000-0003-1733-9062,  
Yu. A. Severov<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-6004-0333, O. K. Anokhina<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-8224-5356,  
A. R. Gaisin<sup>2,3</sup> ORCID: 0000-0003-2572-5174, A. V. Granin<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-7421-3039,  
R. R. Nuretdinov<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-1999-8822

<sup>1</sup>Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences,  
109, V. Borok, Nekouz District, Yaroslavl Region, Russia, 152742,

<sup>2</sup>Russian Federal “Research Institute of Fisheries and Oceanography”,  
Tatar Branch of VNIRO “TatarstanNIRO”,  
4, Tazi Gizzata St., Kazan, Republic of Tatarstan, Russia, 420111,

<sup>3</sup>Kazan (Volga Region) Federal University,  
18, Kremlevskaya St., Kazan, Republic of Tatarstan, Russia, 420008,

<sup>4</sup>Institute of Problems of Ecology and Subsoil Use of the Academy  
of Sciences of Republic of Tatarstan,  
28, Daur'skaya St., Kazan, Republic of Tatarstan, Russia, 420087,  
e-mail: ecoanrt@yandex.ru

This paper substantiates a new approach to the protection of fish resources, based on the transition from the concept of a calculated forecast of catches and quotas to a multilevel system for assessing the status of fish populations under conditions of slow flow. The main levels of the fish population monitoring system are considered. A new approach based on an analysis of monitoring results of the main structural and functional population characteristics of fish, on data on the dynamics of the population size and its generations, changes in the age structure, growth rate, abundance of individuals with morphological anomalies. A new approach was tested on the example of a model species of bream (*Abramis brama* L.) in the Kuibyshev reservoir as a common inhabitant of different morpho-hydrological properties of reservoirs in Europe, belonging to the LC group according to the IUCN classification. An array of new scientific data has been obtained. Based on the calculation of natural mortality by approximating the population curve, taking into account the age composition of catches, it is shown that with a stable replenishment of the fishing herd, when high- and small-numbered generations enter the fishery, depending on the spawning conditions, bream stocks are not expected to be undermined. The results of the study can be used as a basis for assessing the state of fish populations, developing measures for the rational development of their reserves in conditions of unstable hydrological regime of reservoirs and weakening of control over fishing in the protection of fish resources.

**Keywords:** fish, population, dynamics, structure, monitoring of state.

Экосистемы водохранилищ функционируют в условиях замедленного водообмена и интенсивного регулирования, направленного на обеспечение человека водными ресурсами и электроэнергией. В связи с проблемами, возникшими после создания водохранилищ [1, 2], особую роль приобрело расширение сети мониторинга за состоянием их водных и водных биологических ресурсов. Отсутствие системного биологического мониторинга и резкое ослабление контроля над промыслом [3] нанесли значительный ущерб рыбным ресурсам. Возникшая ситуация требует новых научно обоснованных принципов и подходов к мониторингу состояния популяций рыб водохранилищ для рационального освоения их рыбных запасов.

Цель данной работы – обоснование и опробование подхода к охране рыбных ресурсов, основанного на многоуровневой системе мониторинга состояния популяций рыб водохранилищ на примере модельного вида – леща *Abramis brama* L. в Куйбышевском водохранилище.

### Методология, материал и методика

Новый подход к рациональному освоению рыбных ресурсов в отличие от традиционного прогноза уловов [3] базируется на оценке состояния популяций по данным многоуровневой системы мониторинга с анализом и интеграцией информации каждого из предыдущих уровней и поиском надёжных и эффективных индикаторов изменения состояния популяций рыб. Мониторинг состояния популяций рыб основан на данных о состоянии среды обитания, ихтиологического анализа (включающего патологоанатомические исследования отдельных особей, динамику численности популяции и её генераций, изменения в возрастной структуре, скорости роста, данные об обилии особей

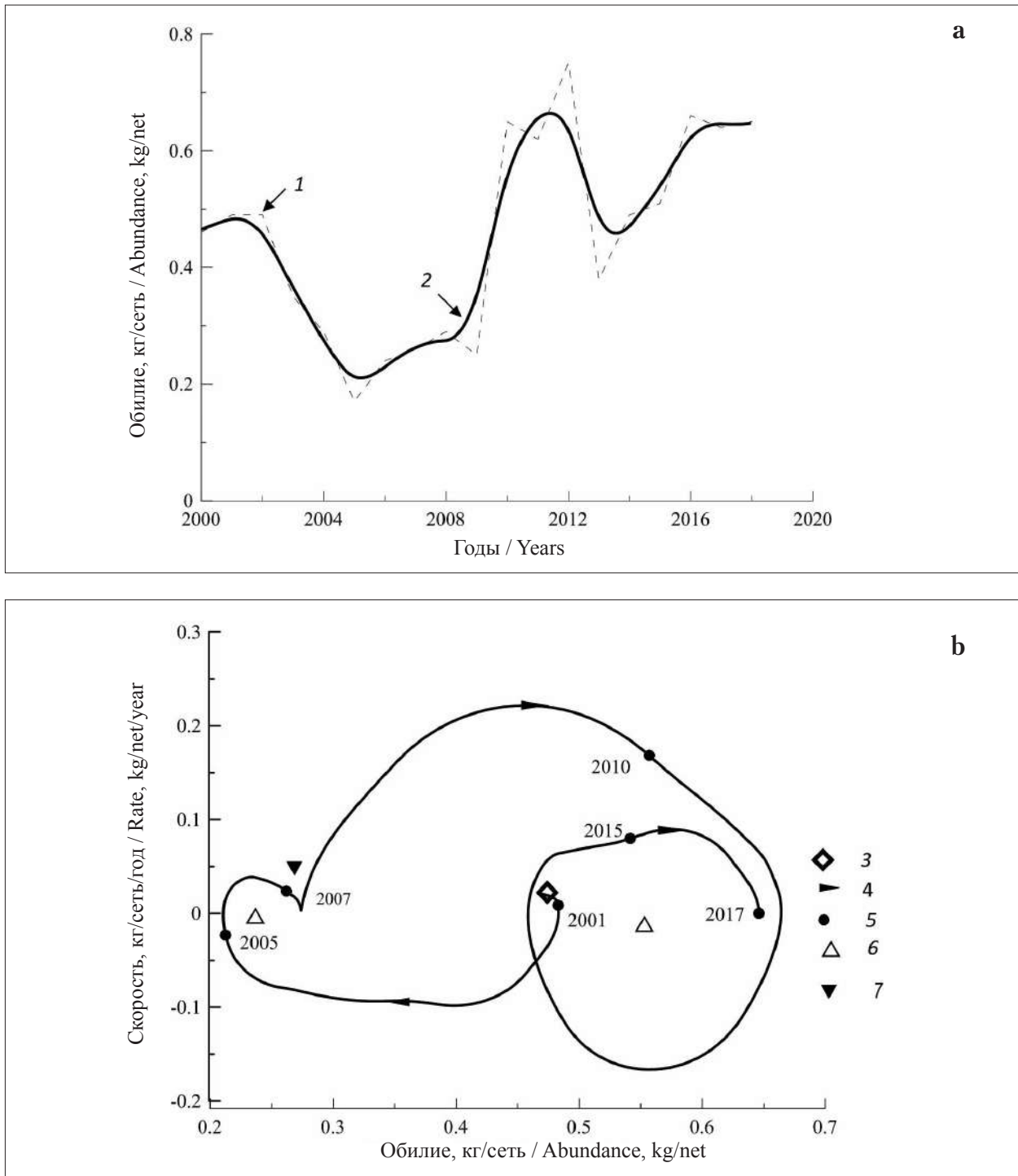
с морфологическими аномалиями [4, 5]); на оценке величины смертности и пополнения популяции, в том числе с применением модификации стандартного биостатистического метода [5] и анализа структурного фазового портрета рыбной части сообщества [6–8], а также на прогнозировании эффективности нереста рыб в зависимости от влияющих на него факторов.

В качестве объекта исследования взят модельный вид – лещ *Abramis brama* L. Куйбышевского водохранилища. Он является обычным обитателем разных по морфогидрологическим свойствам водоёмов Европы [8–10] и по классификации Международного союза охраны природы относится к группе LC, т. е. не вызывающий опасение. Биоматериал для анализа (всего 36580, ежегодно – от 950 до 7987 экз. особей рыб) собирали сетями с ячейёй 36–90 мм в период с 2000 по 2018 гг. [3]. Анализ состояния популяции проводили на базе классических теоретических представлений и современных разработок [5, 11–19].

### Результаты и обсуждение

**Динамика численности** популяции – важнейший критерий её состояния. Численность особей и относительные показатели, отнесённые к единице площади, объёму жизненного пространства или времени, регулируются равновесием между потенциалом роста и ограничениями, накладываемыми на этот рост средой обитания в зависимости от климата и наличия ресурсов [20].

С 2000 по 2003 гг. обилие леща в Куйбышевском водохранилище уменьшалось (рис. 1а) при отрицательной скорости его изменения, что характерно при переходе популяции в состояние с меньшей численностью (рис. 1б). С 2004 по 2008 гг. траектория системы стала циклической, т. е. лещ находился в состоянии



**Рис. 1.** Динамика относительной численности популяции леща Куйбышевского водохранилища (а) и её динамический фазовый портрет (b): 1 – исходные данные; 2 – сглаженные данные; 3 – начальное состояние; 4 – направление перемещения; 5 – состояние популяции в год, обозначенный цифрой у кривой; 6 – устойчивое состояние; 7 – критическая точка

**Fig. 1.** Relative population dynamics of the bream of the Kuibyshev reservoir (a) and its dynamic phase portrait (b): 1 – actual data on catches, 2 – smoothing data, 3 – initial population state, 4 – direction of system movement, 5 – population state in the year indicated near the curve, 6 – steady-state condition, 7 – critical point

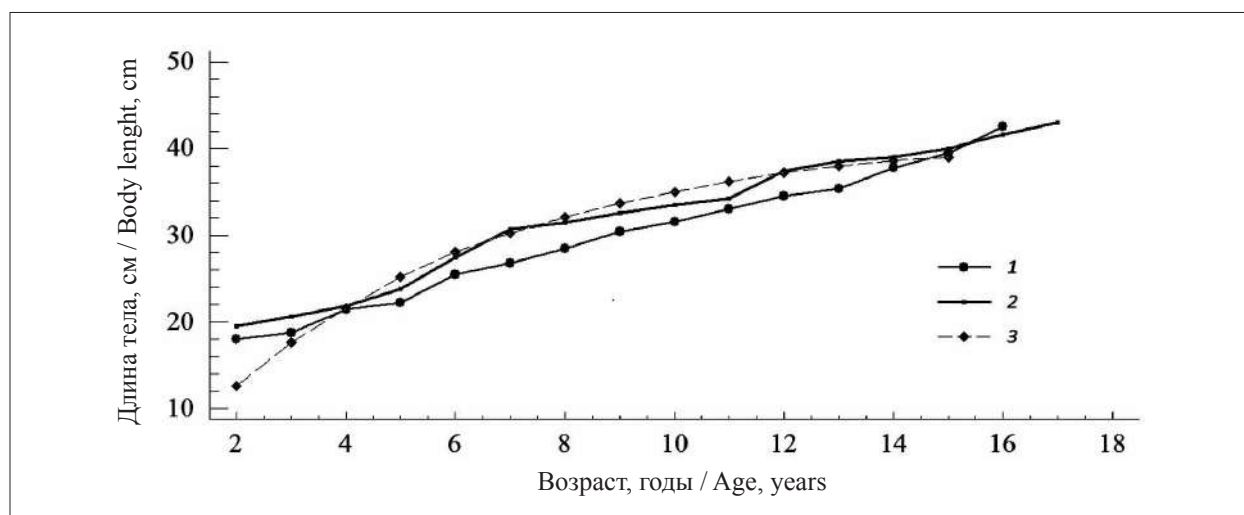


Рис. 2. Линейный рост леща Куйбышевского водохранилища в разные годы: 1 – 2000 г. по [3]; 2 – 2018 г.; 3 – 1960 г. по [19]  
 Fig. 2. Linear growth of bream of the Kuibyshev reservoir in different years: 1 – 2000 under [3]; 2 – 2018; 3 – 1960 under [19]

Таблица 1 / Table 1

Аномалии и патологии у леща Ундорского плёса Куйбышевского водохранилища ( $n = 909$  экз.)  
 Anomalies and pathologies of the bream of Undorsky Reach of the Kuibyshev Reservoir ( $n = 909$  spec.)

Вид аномалий / Type of anomalies	Встречаемость / Incidence, %
Аномалии внешней морфологии / Anomalies of external morphology	
Аномалии боковой линии / Side line anomalies	1,00
Искривление хвостового стебля / Curvature of the tail stem	0,33
Уродливое развитие спинного и анального плавников Ugly development of the dorsal and anal fins	0,55
Паразиты / Parasites	
<i>Ligula intestinalis</i> и пиявки ( <i>Piscicola geometra</i> ) <i>Ligula intestinalis</i> and leeches ( <i>Piscicola geometra</i> )	0,33

равновесия, при этом средний улов составлял 0,25 экз./сеть с вариабельностью  $CV = 17,6\%$ . После прохождения популяцией критической точки в 2007 г. отмечался её переход в состояние равновесия со средним уловом 0,55 кг/сеть, характерным для популяции леща и в настоящее время. Межгодовая вариабельность улова незначительно возросла ( $CV = 20\%$ ), что, вероятно, связано с появлением нескольких урожайных поколений.

**Рост рыб.** Для анализа линейного роста рыб последних лет в качестве реперного взят третий этап формирования ихтиофауны (1960–1965 гг.) с наилучшими популяционными показателями леща в водохранилище [2, 21, 22].

Данные о линейном росте леща в период 2000–2018 гг. в сравнении с реперным этапом приведены на рисунке 2. Отмечается также аналогичное изменение темпа роста массы тела леща [3, 19, 22] как важнейший приспособительный механизм ответа популяции на изменение обеспеченности пищей.

Относительный вклад особей с морфологическими аномалиями является критерием отклонения в развитии рыб. Работы 2005–2006 гг. показали низкую ( $\leq 1\%$ ) встречаемость аномалий и патологий у леща Куйбышевского водохранилища (табл. 1) и отсутствие нарушений полового цикла. Следовательно, лещ в водохранилище не подвержен сильным аберрациям. Больше аномалий обнаружено в водоёме у чехони, густеры, берша, судака и окуня, однако их встречаемость также низка и не превышает 2%.

**Возрастная структура.** В настоящее время возрастной ряд леща составляют особи 2–17 лет. Анализ численности популяции леща выявил периоды её нахождения в равновесных состояниях, что позволяет корректно объединить данные возрастной структуры в период исследований. У рыб в возрасте

9+–17+ лет статистически значимых различий в возрастной структуре не отмечено. По критерию Стьюдента рыб в возрасте 3+ и 4+ лет было достоверно больше в 2000-х гг. ( $p = 0,05$  и  $p = 0,1$ , соответственно), а шестилеток и семилеток – в 2010-х гг. ( $p = 0,05$ ). Эффективный нерест леща в эти годы определяется условиями среды обитания (оптимальный уровеньный режим водохранилища и благоприятная нерестовая температура в период весеннего размножения рыб). Многовозрастная структура леща также характеризует благополучие популяции леща в водохранилище в целом.

**Оценка численности поколений леща.** На основе информации о равновесной возрастной структуре популяции леща Куйбышевского водохранилища и усреднения возрастной структуры популяции за период исследования (2000–2018 гг.) проведена оценка численности поколений леща на основе модифицированной методики убыли от лова (рис. 3).

По экспериментальным данным проведена аппроксимация относительной численности четырёх возрастных групп леща (рис. 3).

Аппроксимацию относительной численности младших возрастных групп ( $T = 2–6$  лет) осуществляли полиномом второй степени; для описания изменения численности более старших возрастных групп ( $T = 6–17$  лет) воспользовались методом линейной аппроксимации. Получены следующие аппроксимирующие модели (1)–(4):

$$T = 2–6 \text{ лет:} \\ \ln N = 2,32297 + 0,22779 \cdot T - 0,03115 \cdot T^2 \\ (R^2 = 89,4) \quad (1)$$

$$T = 6–11 \text{ лет:} \\ \ln N = 4,71415 - 0,35591 \cdot T \quad (R^2 = 99,6) \quad (2)$$

$$T = 11–14 \text{ лет:} \\ \ln N = 9,58367 - 0,79686 \cdot T \quad (R^2 = 99,6) \quad (3)$$

$$T = 14–17 \text{ лет:} \\ \ln N = 0,97301 - 0,18033 \cdot T \quad (R^2 = 99,6), \quad (4)$$

где  $\ln N$  – натуральный логарифм процентного соотношения возрастной группы;  $T$  – возраст, годы;  $R^2$  – коэффициент детерминации.

Согласно коэффициентам детерминации ( $R^2$ ), полученные модели описывают от 89,4 до 99,6% изменения обилия особей при относительной погрешности модели, составляющей 0,2–3,8%, что указывает на хорошую аппроксимацию равновесной возрастной структуры леща. Результаты моделирования согласуются с данными оценки численности молоди леща [23], что свидетельствует об адекватности применённого метода.

Коэффициент естественной смертности рыб зависит от возраста [24]. Путём аппроксимации кривой населения с учётом возрастного состава уловов определён коэффициент ( $Z$ ) смертности леща в водоёме, составляющий величину  $Z = 0,38$ . Следовательно, начиная с 7–8 летнего возраста, стадо леща ежегодно сокращается на 38%. Учитывая, что данный показатель состоит из двух компонентов ( $M+F$ ) (естественной и промысловой смертности), можно считать, что при стабильном пополнении промыслового стада и производителей, подрыв запасов леща не предвидится.

**Оценка состояния популяции леща.** Объединение некоторых из разнородных показателей состояния популяции, основанное

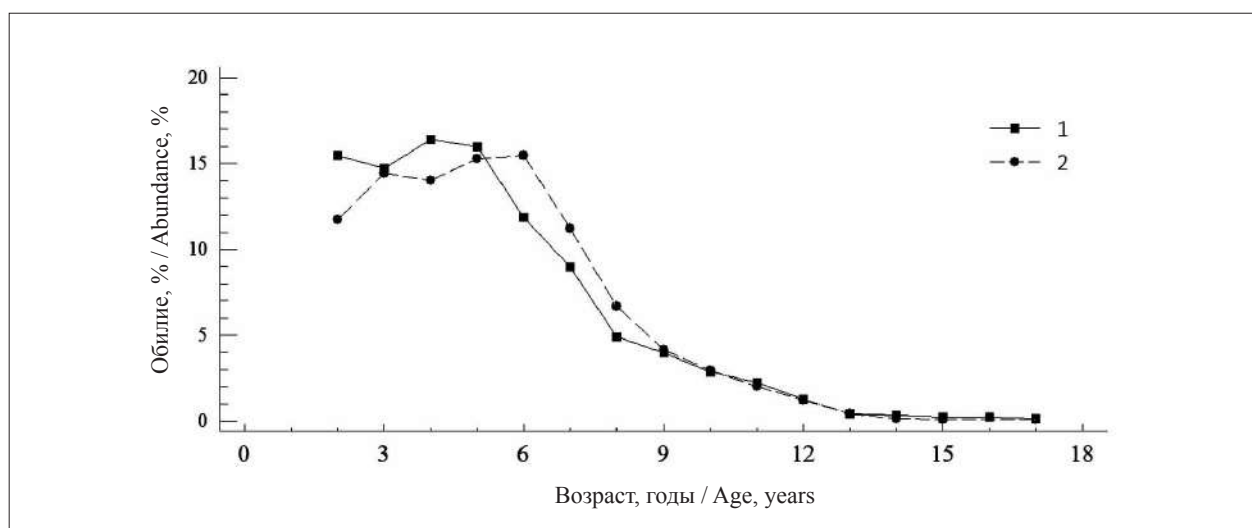


Рис. 3. Усреднённая возрастная структура популяции леща за 2000–2018 гг. (1) и аппроксимирующая функция равновесной возрастной структуры (2)  
 Fig. 3. The average age structure of the bream population in the periods 2000–2018 (1) and approximating function of the equilibrium age structure (2)

Таблица 2 / Table 2

Экспертная оценка состояния популяции леща Куйбышевского водохранилища  
Expert assessment of the Kuibyshev reservoir bream population status

Показатели / Indicators	Значение показателя* The value of the indicator *
Средняя длина, см ** / Average length, cm **	0
Средняя масса, г ** / Average weight, g **	-1
Темп линейного роста / The rate of linear growth	+1
Темп роста массы тела / The rate of weight growth	+1
Промысловые уловы / Commercial catches	0
Улов на усилие*** / Effort catch***	0
Возрастная структура / Age structure	+1
Условия нагула / Feeding conditions	0
Кормовая база / Feed base	0
Наличие морфологических аномалий Presence of morphological abnormalities	0

Примечание: \* – показатели выше (+1), ниже (-1) или соответствуют (0) значениям предыдущего года; \*\* – уменьшение (-1), увеличение (+1) значений показателей, превышающих 5%; (0) – изменение длины и массы особи менее, чем на 5%; \*\*\* – оценка эксперта (по 4-х балльной шкале) по количеству жира на кишечнике и по накармленности рыб.

Note: \* – indicators higher (+1), lower (-1) or correspond to (0) values of the previous year; \*\* – decrease (-1), increase (+1) values of indicators exceeding 5%; (0) – change in the length and mass of an individual less than 5%; \*\*\* – expert assessment (on a 4-point scale) on the amount of fat on the intestines and on the feeding of fish.

на трёхбалльной шкале (-1, 0, +1), позволяет представить состояние популяции в виде точки в многомерном признаковом пространстве, положение которой в начале координат (0) соответствует нормальному состоянию популяции, а отклонение от неё в положительную (+1) или отрицательную (-1) стороны – улучшению или ухудшению её состояния, соответственно (табл. 2).

Оценку состояния популяции проводили также по наличию/отсутствию морфологических изменений в сравнении с их встречаемостью, принятой за норму. Если экспертную оценку состояния популяций хищных рыб следует проводить по данным ихтиологических исследований, то при экспертной оценке состояния популяции леща (табл. 2) особое внимание уделено оценке по биологическим показателям.

### Заключение

В работе приведён новый подход к охране рыбных ресурсов, базирующийся не на традиционном прогнозе уловов, а на мониторинге состояния популяций рыб как многоуровневой системе, опробованной на примере леща в Куйбышевском водохранилище по данным за период 2000–2018 гг. Анализ популяционных показателей и структурного фазового портрета показал, что популяция леща Куйбышевского водохранилища находится в равновесном со-

стоянии, характерном для его популяции и в настоящее время.

Данные мониторинга о линейном росте особей разного возраста, темпе повышения массы тела леща, как и многовозрастная структура его популяции характеризуют благополучие популяции исследованного модельного вида рыб в целом.

На основе расчёта коэффициента естественной смертности путём аппроксимации кривой населения с учётом возрастного состава уловов, показано, что при стабильном пополнении промыслового стада при вступлении в промысел высоко- и малочисленных поколений в зависимости от условий нереста снижения запасов исследованного модельного вида рыб не предвидится.

Результаты могут быть положены в основу оценки состояния популяций рыб, разработки мероприятий по рациональному освоению запасов рыб в условиях зарегулированного гидрорежима водохранилищ.

*Исследование осуществлено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Республики Татарстан в рамках научного проекта № 18-44-160023.*

### Литература

1. Куйбышевское водохранилище: экологические аспекты водохозяйственной деятельности / Под научной

редакцией В.З. Латыповой, О.П. Ермолаева, Н.П. Торсуева, В.А. Кузнецова. Казань: Издательство «Фолиант», 2007. 320 с.

2. Кузнецов В.А. Изменения экосистемы Куйбышевского водохранилища в процессе его формирования // Водные ресурсы. 1997. Т. 24. № 2. С. 228–233.

3. Анохина О.К., Гончаренко К.С., Говоркова Л.К. Промыслово-биологическая характеристика рыб, состояние промысловых запасов ОДУ и ВУ в Куйбышевском водохранилище на современном этапе // Труды Татарского отделения ФГНУ «ГосНИОРХ». СПб., 2003. Вып. 13. С. 152–176.

4. Решетников Ю.С., Попова О.А., Кашулин Н.А., Лукин А.А., Амундсен П.А., Сталдвин Ф. Оценка благополучия рыбной части водного сообщества по результатам морфопатологического анализа рыб // Успехи современной биологии. 1999. Т. 119. № 2. С. 165–177.

5. Tereshchenko V.G., Zuyanov O.V. The method of assessment of relative abundance of commercial fish species generations under conditions of incomplete initial information // Biology of inland waters. 2006. No. 1. P. 88–92.

6. Reshetnikov Yu.S., Tereshchenko V.G. Analysis of the equilibrium state of lake fish community based on its dynamic phase portrait // Biology Bulletin Reviews. 2019. V. 9. No. 4. P. 333–342.

7. Tereshchenko V.G., Khrystenko D.S., Kotovska G.O., Tereshchenko L.I. Characteristics of Stone Moroko population dynamics at different stages of naturalization in lake and steam-type Dnieper reservoirs // Russian Journal of Ecology. 2016. V. 47. No. 7. P. 364–370.

8. Boznak E.I., Zakharov A.B., Tereshchenko V.G. Effect of the increasing intensity of recreational fishing on the fish assemblage of a watercourse in an economic development zone // Inland Water Biology. 2019. V. 12. No. 1. P. 88–95.

9. Pope J.G. An investigation of the accuracy of Virtual Population Analysis // Int. Comm. Northwest Atl. Fish. Res. Bull. 1972. No. 9. P. 65–74.

10. Mortensen E. Population, survival, growth and production of trout *Salmo trutta* in small Danish stream // Oikos. 1977. V. 28. P. 9–15.

11. Tereshchenko V.G., Boznak E.I., Tereshchenko L.I. Dynamic phase portrait: New possibilities of detecting changes in populations // Biosystems Diversity. 2019. V. 27 (4). P. 361–366.

12. Рабазанов Н.И., Бархалов Р.М., Орлов А.М., Маркевич Г.Н., Устарбекова Д.А. Изменчивость морфологических признаков и состояние популяции ручьевых форелей (*Salmo trutta morpha fario*, Linnaeus, 1758) в верховьях рек Сулак и Самур // Теоретическая и прикладная экология. 2020. № 2. С. 89–95.

13. Vašek M., Kubečka J., Čech M., Draščík V., Matěna J., Mrkvička T., Peterka J., Prchalová M. Diel variation in gillnet catches and vertical distribution of pelagic fishes in a stratified European reservoir // Fisheries Research. 2009. V. 96. No. 1. P. 64–69.

14. Karpova E.I., Petr T., Isaev A.I. Reservoir fisheries in the countries of the common wealth of independent states. Rome, 1996. 132 p.

15. Reshetnikov Yu. Changes of the fish community of lake ecosystems in recent conditions // Topical problems of ichthyology. Brno: Czechosl. Acad. Sci., 1981. P. 113–118.

16. Reshetnikov Yu.S., Tereshchenko V.G. Quantitative level of research in fish ecology and errors associated with it // Russian Journal of Ecology. 2017. V. 48. No. 3. P. 233–239.

17. Verbitsky V.B., Tereshchenko V.G. Structural phase diagrams of animal communities in assessment freshwater ecosystem conditions // Hydrobiologia. 1996. V. 322. P. 277–282.

18. Никольский Г.В. Теория динамики стада рыб. М.: Пищевая промышленность, 1974. 447 с.

19. Рикер У.Е. Методы оценки и интерпретации биологических показателей популяций рыб. М.: Пищевая промышленность, 1979. 408 с.

20. Риклефс Р. Основы общей экологии. М.: Мир, 1979. 424 с.

21. Лукин А.В. Основные этапы формирования ихтиофауны и состояние запасов рыб. Состояние запасов леща // Экологические особенности рыб и кормовых организмов Куйбышевского водохранилища. Казань: Изд-во КГУ, 1986. С. 5–9.

22. Цыплаков Э.П. Лещ // Труды Тат. отделения ГосНИОРХ. Вып. XII. Распределение и численность промысловых рыб Куйбышевского водохранилища и обуславливающие их факторы. Казань, 1972. С. 68–113.

23. Шакирова Ф.М., Северов Ю.А. Перест основных промысловых видов рыб Куйбышевского водохранилища в 2008–2009 годах // Сб. науч. трудов «Природа Симбирского Поволжья». Ульяновск, 2009. Вып. 10. С. 233–237.

24. Chen S., Watanabe S. Age dependence of natural mortality coefficient in fish population dynamics // Nippon Suisan Gakkaishi. 1989. V. 55. P. 205–208.

## References

1. Kuibyshev reservoir: environmental aspects of water management / Eds. V.Z. Latypova, O.P. Ermolaev, N.P. Torsuev, V.A. Kuznetsov. Kazan: Publishing House “Foliant”, 2007. 320 p. (in Russian).

2. Kuznetsov V.A. Changes in the ecosystem of the Kuibyshev water-storage basin in the process of its formation // Water resources. 1997. V. 24. No. 2. P. 228–233 (in Russian).

3. Anokhina O.K., Goncharenko K.S., Govorkova L.K. Commercial and biological characteristics of fish, the state of commercial stocks of ODU and VU in the Kuibyshev reservoir at the present stage // Proceedings of the Tatar branch of FGNU “GosNIORH”. Sankt-Peterburg, 2003. No. 13. P. 152–176 (in Russian).

4. Reshetnikov Yu.S., Popova O.A., Kashulin N.A., Lukin A.A., Amundsen P.A., Staldvin F. Assessment of the well-being of the fish part of the water community based on the results of morphopathological analysis of fish // *Uspekhi sovremennoy biologii*. 1999. V. 119. No. 2. P. 165–177 (in Russian).
5. Tereshchenko V.G., Zuyanov O.V. The method of assessment of relative abundance of commercial fish species generations under conditions of incomplete initial information // *Biology of inland waters*. 2006. No. 1. P. 88–92.
6. Reshetnikov Yu.S., Tereshchenko V.G. Analysis of the equilibrium state of lake fish community based on its dynamic phase portrait // *Biology Bulletin Reviews*. 2019. V. 9. No. 4. P. 333–342. doi: 10.1134/S2079086419040066
7. Tereshchenko V.G., Khrystenko D.S., Kotovska G.O., Tereshchenko L.I. Characteristics of Stone Moroko population dynamics at different stages of naturalization in lake- and steam-type Dnieper reservoirs // *Russian Journal of Ecology*. 2016. V. 47. No. 7. P. 364–370. doi: 10.1134/S1067413616030140
8. Boznak E.I., Zakharov A.B., Tereshchenko V.G. Effect of the increasing intensity of recreational fishing on the fish assemblage of a watercourse in an economic development zone // *Inland Water Biology*. 2019. V. 12. No. 1. P. 88–95. doi: 10.1134/S199508291901005X
9. Pope J.G. An investigation of the accuracy of Virtual Population Analysis // *Int. Comm. Northwest Atl. Fish. Res. Bull.* 1972. No. 9. P. 65–74.
10. Mortensen E. Population, survival, growth and production of trout *Salmo trutta* in small Danish stream // *Oikos*. 1977. V. 28. P. 9–15.
11. Tereshchenko V.G., Boznak E.I., Tereshchenko L.I. Dynamic phase portrait: New possibilities of detecting changes in populations // *Biosystems Diversity*. 2019. V. 27 (4). P. 361–366. doi: 10.15421/011948
12. Rabazanov N.I., Barkhalov R.M., Orlov A.M., Markevich G.N., Ustarbekova D.A. 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 // *Theoretical and Applied Ecology*. 2020. No. 2. P. 89–95 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2020-2-089-095
13. Vašek M., Kubečka J., Čech M., Draštík V., Matěna J., Mrkvička T., Peterka J., Prchalová M. Diel variation in gillnet catches and vertical distribution of pelagic fishes in a stratified European reservoir // *Fisheries Research*. 2009. V. 96. No. 1. P. 64–69. doi: 10.1016/j.fishres.2008.09.010
14. Karpova E.I., Petr T., Isaev A.I. Reservoir fisheries in the countries of the commonwealth of independent states. Rome, 1996. 132 p.
15. Reshetnikov Yu. Changes of the fish community of lake ecosystems in recent conditions // *Topical problems of ichthyology*. Brno: Czechosl. Acad. Sci., 1981. P. 113–118.
16. Reshetnikov Yu.S., Tereshchenko V.G. Quantitative level of research in fish ecology and errors associated with it // *Russian Journal of Ecology*. 2017. V. 48. No. 3. P. 233–239. doi: 10.1134/S1067413617030146
17. Verbitsky V.B., Tereshchenko V.G. Structural phase diagrams of animal communities in assessment freshwater ecosystem conditions // *Hydrobiologia*. 1996. V. 322. P. 277–282.
18. Nikolskiy G.V. Fish population dynamics theory. Moskva: Pishchevaya promyshlennost, 1974. 447 p. (in Russian).
19. Riker U.E. Methods of assessment and interpretation of biological indicators of fish populations. Moskva: Pishchevaya promyshlennost, 1979. 408 p. (in Russian).
20. Riklefs R. Foundations of general ecology. Moskva: Mir, 1979. 424 p. (in Russian).
21. Lukin A.V. The main stages of ichthyofauna formation and the state of fish stocks. State of stocks of bream // *Ecological features of fish and food organisms of the Kuibyshev reservoir*. Kazan: Izd-vo KGU, 1986. P. 5–9 (in Russian).
22. Tsyplakov E.P. Bream // *Trudy Tat. GosNIORCH offices*. Issue XII. Distribution and number of commercial fish of the Kuibyshev reservoir and factors contributing to them. Kazan, 1972. P. 68–113 (in Russian).
23. Shakirova F.M., Severov Yu.A. Spawning of main commercial fish species in the Kuybyshev reservoir in 2008–2009 // *Collection of scientific papers “Nature of the Simbirsk Volga region”*. Ulyanovsk, 2009. V. 10. P. 233–237 (in Russian).
24. Chen S., Watanabe S. Age dependence of natural mortality coefficient in fish population dynamics // *Nippon Suisan Gakkaishi*. 1989. V. 55. P. 205–208.



## Экологическая дифференциация синтаксонов лесной растительности Звенигородской биостанции МГУ

©2020. Т. Ю. Браславская<sup>1</sup>, к. б. н., в. н. с., Е. В. Тихонова<sup>1</sup>, к. б. н., в. н. с.,  
Д. В. Сухова<sup>2</sup>, ведущий инженер, Н. Г. Уланова<sup>2</sup>, д. б. н., профессор,  
К. Б. Попова<sup>2</sup>, ассистент, О. В. Чередниченко<sup>2</sup>, к. б. н., доцент,

<sup>1</sup>Центр по проблемам экологии и продуктивности лесов  
Российской академии наук,

117997, Россия, г. Москва, Профсоюзная ул., д. 84/32, стр. 14,

<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,  
119234, Россия, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12,  
e-mail: t-braslavskaya@yandex.ru

С целью выявить в водноледниковом ландшафте центра Русской равнины экологические различия между синтаксонами хвойных и смешанных лесов, относящихся к классам *Carpino-Fagetea* и *Vaccinio-Piceetea*, проанализированы 536 геоботанических описаний, выполненных в 2004–2016 гг. В результате выполнения эколого-флористической классификации описаний (по методу Браун-Бланке) в лесном покрове Звенигородской биостанции установлены 5 ассоциаций (включая 2 субассоциации, 3 варианта, в том числе новый ксеромезофитный вариант *Vaccinium vitis-idaea* зональной субасс. *Rhodobryo-Piceetum caricetosum pilosae* и новый подтаёжный вариант *Asarum europaeum* южнотаёжной субасс. *Melico-Piceetum typicum*) и 1 дериватное сообщество. Были проведены многомерная ординация описаний по сходству/различию флористического состава, фитоиндикация экологического режима при помощи экологических шкал Х. Элленберга и анализ приуроченности (при помощи геоинформационной системы на основе крупномасштабных карт) описаний из разных синтаксонов к экотопам на разных местоположениях в речной долине и с разными характеристиками почв. Результаты ординации и фитоиндикации продемонстрировали, что флористические различия лесов на уровне классов согласованы с закислением почвы и содержанием в ней азота, а на уровне ассоциаций в составе одного и того же класса – с режимом увлажнения. Частотный анализ распределения синтаксонов по экотопам выявил, что леса зонального синтаксона (субасс. *Rhodobryo-Piceetum caricetosum pilosae* вар. *typica*) тяготеют к хорошо гумусированным почвам без оглеения, а леса синтаксона с более северным ареалом (субасс. *Melico-Piceetum typicum* вар. *Asarum europaeum*) – к оглееным почвам. Специфическая приуроченность в связи с гранулометрическим составом почвы для исследованных лесов не выявлена. В обследованном водноледниковом ландшафте центра Русской равнины (подзона смешанных лесов) на местном водоразделе преобладают ксеромезофитные смешанные леса, сочетающие признаки двух классов, но всё же по флористическим критериям относящиеся к неморальному классу *Carpino-Fagetea*.

**Ключевые слова:** гемибореальные леса, эколого-флористическая классификация по Браун-Бланке, многомерная ординация, распределение в водноледниковом ландшафте.

## Ecological differentiation of forest syntaxa at MSU's Zvenigorod Biological Station

© 2020. T. Yu. Braslavskaya<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-7081-0533<sup>?</sup>

E. V. Tikhonova<sup>1</sup> ORCID: 0000-0003-4641-3735<sup>?</sup>, D. V. Sukhova<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-2873-9857<sup>?</sup>

N. G. Ulanova<sup>2</sup> ORCID: 0000-0001-5364-940X<sup>?</sup>, K. B. Popova<sup>2</sup> ORCID: 0000-0001-8501-0686<sup>?</sup>

O. V. Cherednichenko<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-6251-3210<sup>?</sup>

<sup>1</sup>Center for Forest Ecology and Productivity of the Russian Academy of Sciences,  
bldg. 14, 84/32, Profsoyuznaya St., Moscow, Russia, 117997,

<sup>2</sup>Lomonosov Moscow State University,

1–12, Leninskiye Gory, Moscow, Russia, 119234,  
e-mail: t-braslavskaya@yandex.ru

In the fluvio-glacial woodland landscape of the Zvenigorod biological station (located within the mixed forest subzone, in the center of the Russian Plain), in order to identify ecological differences between syntaxa of coniferous and mixed forests referred to the classes *Carpino-Fagetea* and *Vaccinio-Piceetea*, 536 geobotanical relevés collected in 2004–2016 were analyzed. Resulting from ecological-floristic classification (according to the Braun-Blanquet approach), 5 associations were established in this woodland (including 2 subassociations, 3 variants, particularly new

xeromesophytic variant, named *Vaccinium vitis-idaea*, of zonal subass. *Rhodobrya–Piceetum caricetosum pilosae* and new sub-taiga variant named *Asarum europaeum* of south-taiga subass. *Melico–Piceetum typicum*) and 1 derivative community. Multidimensional ordination based on the similarity of floristic composition, phytoindication of the ecological regime using rank scales of H. Ellenberg, and analysis of the syntaxa localization in ecotopes at different positions in the river valley and with different soil characteristics (using a geographic information system based on large-scale maps), were carried out. The results of ordination and phytoindication showed that floristic differences between forest classes are consistent with soil reaction and nitrogen content, and at the level of associations in the same class – with a moisture regime. Frequency analysis of the syntaxa distribution by ecotopes revealed that the forests of the zonal syntaxon (subass. *Rhodobrya–Piceetum caricetosum pilosae* var. *typica*) have a tendency to grow on well-humified soils without gleyzation, whereas the forest syntaxon of the more northern range (subass. *Melico–Piceetum typicum* var. *Asarum europaeum*) do on gleyed soils. The specific accordance of forests studied to the granulometric soil composition has not been revealed. In the surveyed fluvio-glacial woodland landscape, xeromesophytic mixed forests dominate at the local watershed, those combine features of two classes, but basing on floristic criteria have to be referred to the nemoral class *Carpino–Fagetea*.

**Keywords:** hemiboreal forests, Braun-Blanquet classification approach, multidimensional ordination, fluvio-glacial landscape in the center of the Russian Plain.

Центр Русской равнины расположен в подзоне смешанных лесов; зональные лесные сообщества здесь сформированы елью и широколиственными видами деревьев, однако в специфических эдафических условиях – в водноледниковых ландшафтах с бедными песчаными почвами – отмечено широкое распространение хвойных лесов южнотаёжного облика [1]. Многие вопросы классификации лесов этой территории всё ещё остаются темой дискуссий [2], для развития которых необходим экологический анализ данных, полученных в разнообразных географических и ландшафтных условиях. Цель нашей работы – на примере лесного массива Звенигородской биостанции (ЗБС) имени С.Н. Скадовского выявить основные тенденции экологической дифференциации смешанных и хвойных лесов в водноледниковом ландшафте Москворецко-Окской равнины. Задачи работы включали: 1) ординацию лесной растительности по сходству/различию флористического состава сообществ, 2) фитоиндикацию экологического режима в сообществах на основе экологических шкал, 3) эколого-флористическую классификацию лесной растительности, 4) выявление связей между установленными синтаксонами и характеристиками экотопов.

### Объекты и методы исследования

Лесничество ЗБС (715 га) расположено в Одинцовском районе Московской области. Климат – умеренно-континентальный с продолжительной и холодной зимой и умеренно тёплым летом. Территория ЗБС подразделяется на плато местного водораздела (около 600 га; до 192 м н. у. м., до 56 м над уровнем воды в р. Москве), склон долины р. Москвы (около 80 га, включает 3 террасы) и пойму [3, 4]. На местном водоразделе распространены локальные

неглубокие бессточные депрессии (площадью не более 0,5 га) и развита неглубокая овражная система. Почвообразующая порода – флювиогляциальные отложения: песчаные и песчано-галечниковые, а также суглинистые (мощностью 30–80 см), перекрывающие их на востоке территории. На плато водораздела преобладают кислые дерново-подзолистые и подзолистые почвы, а в депрессиях и на участках с водоупорными прослоями суглинков в толще песков – оглеенные дерново-подзолистые или же торфянисто- и торфяно-глеевые почвы. На склоне долины развиты бурые лесные и дерново-подзолистые почвы. На днищах оврагов, прорезающих склон долины и местный водораздел, под влиянием сезонного переувлажнения сформировались перегнойно-глеевые почвы [4, 5]. На плато местного водораздела и склоне долины (включая притеррасную пойму) произрастают хвойные, смешанные и лиственные леса [3].

Анализируемый материал включает 536 геоботанических описаний, которые были выполнены в 2004–2016 гг. (из них 351 – с географической привязкой по GPS-навигатору). Описания выполнены по опубликованной методике [6] на площадках 100–900 м<sup>2</sup>. Классификация описаний (выделение синтаксонов) проведена методом ручной обработки общей таблицы описаний в программе Juice [7]. Критерием значимости различий между выделенными группами описаний служила разница в константности каждого из дифференцирующих видов не менее 40% в двух сравниваемых группах [6]. Ординация описаний по сходству/различию флористического состава проведена методом неметрического многомерного шкалирования (NMDS) на основе меры различия (*measure of discordance*, DC) Я. Подани [8]. Фитоиндикация экологического режима в сообществах проведена на основе

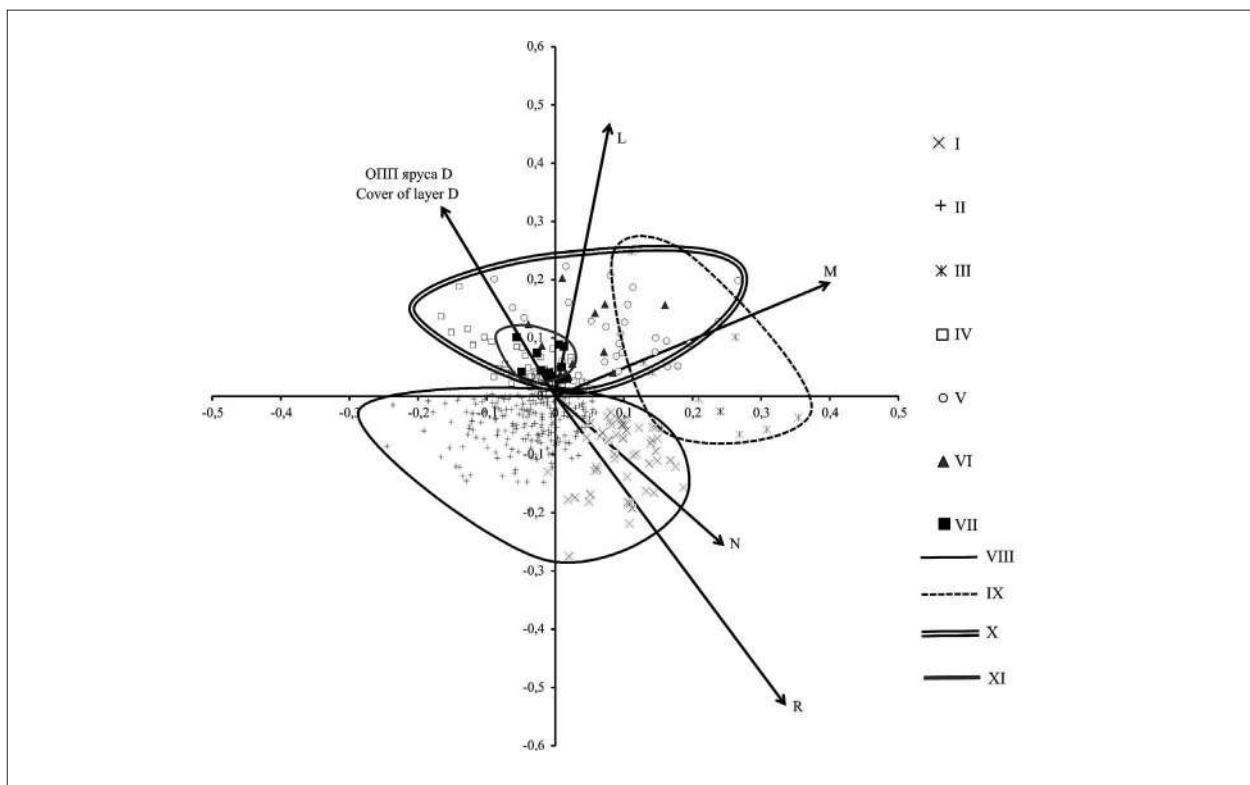
оценок описаний в шкалах Х. Элленберга [9]; варьирование этих оценок отображено на диаграмме NMDS-ординации в форме векторов и проанализировано совместно с результатами ординации. Аналогично отображено в форме вектора на ординационной диаграмме и проанализировано вместе с результатами ординации варьирование покрытия мохово-лишайникового яруса в лесных сообществах. Расчёты координат описаний в осях флористического сходства, оценок в шкалах Элленберга и направлений векторов на ординационной диаграмме выполнены в среде R [10] при помощи программного пакета *vegan-2.4-6* [11].

Для выявления связей между выделенными синтаксонами и характеристиками экотопов было проведено в программе ArcGIS 9.3 пространственное связывание (*overlay*) географических координат 351 геоботанического описания с геопривязанными векторными слоями геоморфологических подразделений речной долины и разностей почвенного по-

крова, созданными на основе топографической карты масштаба 1:50 000 и опубликованной картосхемы территории ЗБС [4] такого же масштаба. Этим способом для описаний каждого синтаксона было установлено соответствие с характеристиками почв (градациями гранулометрического состава, оглеения, оподзоливания, гумусообразования) и позиций в речной долине. Статистическую значимость различий между синтаксонами по частотам анализируемых характеристик оценивали при помощи точного теста Фишера (*Fisher's exact test*) [12]; расчёты выполнены при помощи встроенной функции среды R [10].

### Результаты и обсуждение

На основе проведённой классификации в лесной растительности ЗБС были установлены следующие синтаксоны: *Rhodobryo-Piceetum caricetosum pilosae* var. *typica* (на рисунке и в таблицах 1 и 2: I), *Rh.-Pic. caricetosum*



**Рис.** Экологическая дифференциация лесных сообществ ЗБС по результатам NMDS-ординации.

Деления шкалы на обеих ординационных осях – доли стандартного отклонения ( $\sigma$ ) парных коэффициентов флористического сходства. Расшифровку условных обозначений синтаксонов (I–XI) см. в тексте. Характеристики сообществ (тренды увеличения значений отображены в виде векторов):

ОПП яруса D – общее проективное покрытие мохово-лишайникового яруса; оценки по шкалам Х. Элленберга: М – влажность почвы, L – освещённость, N – богатство почвы азотом, R – реакция почвы  
**Fig.** NMDS-diagram of ecological differentiation of forests communities at Zvenigorod biological station. On both ordination axes scale is presented by fractions of standard deviation ( $\sigma$ ) of paired coefficients of floristic similarity. See the text for denotations of syntaxa (I–XI). Community characteristics (increase trends are presented as vectors): Cov. of layer D – total cover of moss-lichen layer; Ellenberg's values of relevés: M – soil moisture, L – light, N – soil fertility, R – soil reaction

Таблица 1 / Table 1

Число геоботанических описаний при различном оглеении почвы  
The number of geobotanic relevés with various levels of gleyzation

Синтаксон* Syntaxon*	Степени оглеения / Levels of gleyzation			P**
	отсутствует none	слабое weak	среднее или сильное moderate or strong	
Все / All	260	45	46	
I	37	9	0	0,999
II	174	24	20	0,998
III	4	5	0	0,996
IV	21	3	13	0,998
V	6	0	3	0,837
VI	3	0	9	> 0,999
VII	15	4	1	0,627

Примечания: \* – расшифровку обозначений синтаксонов (I–VII) см. в тексте; \*\* – вероятность неслучайного отклонения в распределении описаний синтаксона от распределения всех описаний.

Note: \* – denotations of syntaxa (I–VII) see in the text; \*\* – probability of non-random deviation in distribution of the syntaxon relevés from distribution of all relevés.

Таблица 2 / Table 2

Число геоботанических описаний при различном гумусообразовании в почве  
The number of geobotanic relevés with various levels of humification

Синтаксон* Syntaxon*	Степени гумусообразования Levels of humification			P*****
	отсутствует или слабое** none or weak**	среднее*** moderate***	сильное**** strong****	
Все / All	235	80	36	
I	6	18	22	> 0,999
II	161	48	9	> 0,999
III	4	3	2	0,830
IV	31	6	0	0,964
V	6	3	0	0,253
VI	11	1	0	0,666
VII	16	1	3	0,940

Примечание: \*, \*\*\*\*\* – см. примечания к таблице 1; \*\* – подзолы, а также торфянисто- и торфяно-глеявые почвы; \*\*\* – дерново-подзолистые почвы, \*\*\*\* – бурые лесные, перегнойно-глеявые и дерново-луговые почвы.

Note: \*, \*\*\*\*\* – see explanations in Table 1; \*\* – podzols, peaty and bog gley soils; \*\*\* – soddy-podzolic soils; \*\*\*\* – brown forest, humus gley and soddy-meadow soils.

*pilosae* var. *Vaccinium vitis-idaea* (II), *Alnetum incanae* (III), *Melico-Piceetum typicum* var. *Asarum europaeum* (IV), *Oxalido-Pinetum*, (V), *Sphagno-Piceetum* (VI), дериватное сообщество *Veronica chamaedrys-Salix caprea* (VII); I и II – в составе союза *Quercus-Tilion* (VIII) класса *Carpino-Fagetea*, III – в составе союза *Alnion incanae* (IX) того же класса; IV, VI и VII – в составе союза *Piceion excelsae* (X) класса *Vaccinio-Piceetea*, V – в составе союза *Dicrano-Pinion* (XI) того же класса. NMDS-ординация продемонстрировала (рис.) континуальное варьирование флористического состава лесных сообществ. Путём

сопоставления расположения описаний в ординационном пространстве с оценками экологического режима, полученными на основе шкал X. Элленберга, можно проследить в этом варьировании ряд закономерностей.

Наиболее резко выражена дифференциация по реакции (закислению) почв: максимальную длину в ординационном пространстве имеет вектор оценок по шкале R. Вдоль его направления разграничены класс неморальных (*Carpino-Fagetea* Jakucs ex Passarge 1968: I–III на рисунке) и класс бореальных (*Vaccinio-Piceetea* Br.-Bl. in Br.-Bl. et al. 1939: IV–VII на рис.) лесов, что означает согласо-

ванность между их флористическими различиями и степенью закисления почвы. Хорошо согласована с разграничением этих классов также дифференциация по богатству почв азотом (вектор оценок по шкале N).

В составе каждого из классов достаточно резко дифференцированы мезофитные и мезогигрофитные сообщества. Так, вдоль направления вектора оценок шкалы M (увлажнения почвы) разграничены в классе неморальных лесов – ассоциация *Rhodobryo–Piceetum* Korotkov 1986 (I и II) с асс. *Alnetum incanae* Lüdi 1921 (III), а в классе бореальных лесов – асс. *Sphagno girgensohnii–Piceetum abietis* B. Pol. 1962 (VII) с асс. *Melico nutantis–Piceetum abietis* K.-Lund 1981 (IV) и асс. *Oxalido acetosellae–Pinetum sylvestris* Bulokhov et Shapurko 2010 (V).

Мелколиственные леса дериватного сообщества *Veronica chamaedrys–Salix caprea* (VII), недавно сформировавшиеся на месте вырубок или сообществ, испытавших осветление после гибели древостоя в результате поражения короедом-типографом, разграничены с остальными лесными сообществами вдоль вектора оценок шкалы освещённости L.

Среди связей синтаксонов лесной растительности ЗБС с характеристиками экотопов наиболее интересны значимые связи, выявленные для мезофитных лесов (I, II и IV в табл. 1, 2). Так, зональные в центре Русской равнины елово-широколиственные леса субассоциации *Rhodobryo–Piceetum caricetosum pilosae* var. *typica* [13] проявляют приуроченность выше случайной к хорошо гумусированным почвам без оглеения (I в табл. 1, 2); при этом для них не обнаружена связь с гранулометрическим составом почвы. В водноледниковом ландшафте, где находится ЗБС, эти сообщества распространены преимущественно на террасах склона долины р. Москвы. От них дифференцированы в составе той же субассоциации сосново-еловые леса варианта *Vaccinium vitis-idaea*, которые преобладают на плато водораздела и проявляют повышенную приуроченность к слабо гумусированным (II в табл. 1, 2) супесчаным почвам.

Сосново-еловые и мелколиственно-еловые леса южнотаёжной асс. *Melico nutantis–Piceetum abietis* (на территории ЗБС – вариант *Asarum europaeum*) выявлены только на водоразделе, где они проявляют значимую повышенную приуроченность к средне- и сильнооглеенным почвам (IV в табл. 1, 2) различного гранулометрического состава на

нижних частях склонов в бессточные депрессии и овраги.

Вторичные молодые мелколиственные леса, в формировании которых ведущую роль играл режим освещённости, не демонстрируют значимых связей с характеристиками рельефа и почв.

## Выводы

1. Выделение в составе лесной растительности ЗБС синтаксонов по критериям флористического состава подтверждается дифференциацией по экологическим критериям.

2. В водноледниковом ландшафте, где расположена территория ЗБС, сообщества субасс. *Rhodobryo–Piceetum caricetosum pilosae* var. *typica* (зонального синтаксона в подзоне смешанных лесов центра Русской равнины) значимо тяготеют к сильногумусированным почвам и при этом произрастают преимущественно на склоне речной долины, а не на водоразделе.

3. Для бореальных сообществ субасс. *Melico–Piceetum typicum* var. *Asarum europaeum*, не являющихся зональными в подзоне смешанных лесов, в водноледниковом ландшафте выявлено значимое тяготение к средне- и сильнооглеенным почвам.

*Исследование выполнено в рамках государственного задания ЦЭПЛ РАН (№ АААА-А18-118052400130-7) и МГУ (№ АААА-А16-116021660037-7).*

## Литература

1. Курнаев С.Ф. Лесорастительное районирование СССР. М.: Наука, 1973. 203 с.
2. Морозова О.В. Леса широколиственно-хвойной зоны Европейской России (синтаксономический обзор) // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. Ялта: Типография ФЛП Бражникова Д.А., 2016. № 143. С. 118–125.
3. Пятковская В.П., Барсукова А.В. Растительность Звенигородской биостанции // Природа Звенигородской биологической станции МГУ. Методическое пособие. М.: Изд-во Моск. унив., 1962. Вып. 2. С. 1–63.
4. Смирнова К.М. Почвенный покров Звенигородской биологической станции. М.: Изд-во Московского университета, 1962. 74 с.
5. Копчик Г.Н., Рыжова И.М. Почвы Звенигородской биостанции // Руководство по летней учебной практике студентов-биологов на Звенигородской биостанции им. С.Н. Скадовского. М.: Изд-во Московского университета, 2004. С. 13–55.

6. Braun-Blanquet J. Pflanzensoziologie. Grundzüge der Vegetation-skunde. 3 Aufl. Vienna, New York: Springer; 1964. 865 p.

7. Tichý L. JUICE, software for vegetation classification // *J. Veg. Sci.* 2002. V. 13. P. 451–453.

8. Podani J. A measure of discordance for partially ranked data when presence/absence is also meaningful // *Coenoses*. 1997. V. 12. P. 127–130.

9. Ellenberg H., Weber H.E., Dull R., Wirth V., Werner W., Paulissen D. Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa // *Scripta Geobotanica*. B. 18. Gottingen: Verlag Erich Goltze KG, 1991. 248 p.

10. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2017. [Электронный ресурс] <https://www.R-project.org/> (Дата обращения: 27.04.2018).

11. Oksanen J., Blanchet F.G., Friendly M., Kindt R., Legendre P., McGlenn D., Minchin P.R., O'Hara R.B., Simpson G.L., Solymos P., Stevens M.H.H., Szoecs E., Wagner H. Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-2. 2018. [Электронный ресурс] <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/vegan.pdf> (Дата обращения: 04.06.2018).

12. Crawley M.J. The R Book. Chichester: John Wiley and Sons, 2007. 939 p.

13. Морозова О.В., Семенищенков Ю.А., Тихонова Е.В., Беляева Н.Г., Кожевникова М.В., Черненкова Т.В. Неморально-травяные ельники Европейской России // *Растительность России*. 2017. № 31. С. 33–58.

## References

1. Kurnaev S.F. Forest districts within USSR. Moskva: Nauka, 1973. 203 p. (in Russian).

2. Morozova O.V. The forests of mixed-forest zone of European Russia (syntaxonomical review) // *Sbornik nauchnykh trudov Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada*. Yalta: Tipografia Brazhnikova D.A., 2016. No. 143. P. 118–125 (in Russian).

3. Pyatkovskaya V.P., Barsukova A.V. Vegetation in Zvenigorod biological station // *Nature of the Zvenigorod Biological Station of Moscow State University. Metod-*

*icheskoe posobie*. Moskva: Izdatelstvo Moskovskogo universiteta, 1962. No. 2. P. 1–63 (in Russian).

4. Smirnova K.M. Soils in Zvenigorod biological station. Moskva: Izdatelstvo Moskovskogo universiteta, 1962. 74 p. (in Russian).

5. Koptsik G.N., Ryzhova I.M. Soils in Zvenigorod biological Station // *Rukovodstvo po letney uchebnoy praktike studentov-biologov na Zvenigorodskoy biostantsii imeni S.N. Skadovskogo*. Moskva: Izdatelstvo Moskovskogo universiteta, 2004. P. 13–55 (in Russian).

6. Braun-Blanquet J. Pflanzensoziologie. Grundzüge der Vegetation-skunde. 3 Aufl. Vienna, New York: Springer; 1964. 865 p.

7. Tichý L. JUICE, software for vegetation classification // *J. Veg. Sci.* 2002. V. 13. P. 451–453. doi: 10.1111/j.1654-1103.2002.tb02069.x

8. Podani J. A measure of discordance for partially ranked data when presence/absence is also meaningful // *Coenoses*. 1997. V. 12. P. 127–130.

9. Ellenberg H., Weber H.E., Dull R., Wirth V., Werner W., Paulissen D. Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa // *Scripta Geobotanica*. B. 18. Gottingen: Verlag Erich Goltze KG, 1991. 248 p.

10. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2017. [Internet resource] <https://www.R-project.org/> (Accessed: 27.04.2018).

11. Oksanen J., Blanchet F.G., Friendly M., Kindt R., Legendre P., McGlenn D., Minchin P.R., O'Hara R.B., Simpson G.L., Solymos P., Stevens M.H.H., Szoecs E., Wagner H. Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-2. 2018. [Internet resource] <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/vegan.pdf> (Accessed: 04.06.2018).

12. Crawley M.J. The R Book. Chichester: John Wiley and Sons, 2007. 939 p.

13. Morozova O.V., Semenishchenkov Yu.A., Tikhonova E.V., Belyaeva N.G., Kozhevnikova M.V., Chernenkova T.V. Nemoral herb spruce forests of European Russia // *Rastitelnost Rossii*. 2017. No. 31. P. 33–58 (in Russian).

*Lycopodiella inundata* (L.) Holub (Lycopodiaceae)  
in the Komi Republic (Russian Federation)

© 2020. L. V. Teteryuk<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-9573-7923<sup>1</sup>  
Yu. A. Bobrov<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-2709-7004<sup>2</sup>, B. Yu. Teteryuk<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-7202-9956<sup>2</sup>  
T. I. Marchenko-Vagapova<sup>3</sup> ORCID: 0000-0003-4406-7939<sup>3</sup>  
Yu. V. Golubeva<sup>3</sup> ORCID: 0000-0001-6383-8749<sup>3</sup>, V. A. Kanev<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-6284-0385<sup>1</sup>  
S. N. Plyusnin<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-9342-152X<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biology of Komi Scientific Center of the Ural Branch  
of the Russian Academy of Sciences,  
28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,

<sup>2</sup>Pitirim Sorokin Syktyvkar State University,  
55, Oktyabrskiy Prospekt, Syktyvkar, Russia, 167001,

<sup>3</sup>Institute of Geology of Komi Scientific Center of the Ural Branch  
of the Russian Academy of Sciences,  
54, Pervomayskaya St., Syktyvkar, Russia, 167610,  
e-mail: teteryuk@ib.komisc.ru

*Lycopodiella inundata* expands its areal on the European North-East of Russia. In the subzone of the middle taiga of the Komi Republic in 2017–2018, four local populations of this species were found, associated with anthropogenic ecotopes, poor and acidic sands, or peat, varying in moisture regime. Obligatory satellites of *L. inundata* in plant communities are *Drosera rotundifolia* L. and *Juncus filiformis* L., mosses of the genera *Sphagnum* L. and *Polytrichum* Hedw. Its local populations are small, beyond protection areas of the Komi Republic and so are endangered. The life-form of the *Lycopodiella inundata* sporophyte is a spore variance of perennial plant with annual shoot system. This species prefers vegetative multiplication through natural winter morphological disintegration. For determine the population in the beginning of shoots growth, ramets are recommended to be counted. The paleo-geographic analysis makes it possible to exclude the relic nature of the present locations of *L. inundata* in the European North and allows one to classify the species as an allochthonous element of the flora. In view of the fact that the species is rare and tends to decrease its habitats worldwide, we included *L. inundata* into new edition of the Red Data Book of the Komi Republic with protection status category 3 (Rare). All habitation places of the species are out of specially protected areas of the republic and so are threatened. Limiting factors for this stenotopic species in the Komi Republic are its narrow ecological amplitude, low competitiveness, instability to violations of the hydrological regime (bogging or draining) and overgrowth of biotopes due to natural succession processes.

**Keywords:** *Lycopodiella inundata*, North-East of the European part of Russia, the Komi Republic, flora, rare protected species.

УДК 581.522

*Lycopodiella inundata* (L.) Holub (Lycopodiaceae)  
в Республике Коми (Россия)

© 2020. Л. В. Тетерюк<sup>1</sup>, к. б. н., с. н. с., Ю. А. Бобров<sup>2</sup>, к. б. н., зав. кафедрой,  
Б. Ю. Тетерюк<sup>1</sup>, к. б. н., с. н. с., Т. И. Марченко-Вагапова<sup>3</sup>, к. г.-м. н., с. н. с.,  
Ю. В. Голубева<sup>3</sup>, к. г.-м. н., н. с., В. А. Канев<sup>1</sup>, к. б. н., н. с., С. Н. Плюсин<sup>2</sup>, к. б. н., доцент,

<sup>1</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук,  
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,

<sup>2</sup>Сыктывкарский государственный университет им. П. Сорокина,  
167001, Россия, г. Сыктывкар, Октябрьский пр., д. 55,

<sup>3</sup>Институт геологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук,  
167610, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, д. 54,  
e-mail: teteryuk@ib.komisc.ru

На Европейском Северо-Востоке России происходит расширение ареала *Lycopodiella inundata* (плаунок заливаемый). В подзоне средней тайги Республики Коми в 2017–2018 годах выявлены четыре местонахождения вида. Локальные популяции *L. inundata* приурочены к антропогенным экотопам, бедным и кислым песчаным или торфяным субстратам, условиям переменного увлажнения. Обязательными спутниками вида являются *Drosera rotundifolia* L. и *Juncus filiformis* L., мхи из родов *Sphagnum* L. и *Polytrichum* Hedw. Анализ палеогеографической истории вида позволил отнести его к аллохтонному элементу флоры региона. Из-за редкости *Lycopodiella inundata* в европейской части ареала, мы включили его в новое издание Красной книги Республики Коми с охранным статусом категории 3 (редкий). Спорофит *L. inundata* представляет собой споровый вариант многолетнего растения с однолетней побеговой системой. Размножается вид преимущественно вегетативным путём посредством естественной зимней морфологической дезинтеграции. Все местообитания вида расположены вне сети особо охраняемых природных территорий Республики Коми и находятся под угрозой разрушения. Лимитирующими факторами для вида также являются его узкая экологическая амплитуда, низкая конкурентоспособность, неустойчивость к нарушениям гидрологического режима.

**Ключевые слова:** *Lycopodiella inundata*, Европейский Северо-Восток России, Республика Коми, флора, редкие охраняемые виды растений.

For the last decades, flora of spore plants in the Komi Republic replenished new species. One of them is *Lycopodiella inundata* (L.) Holub (*Lycopodiaceae*). *L. inundata* areal covers Europe (except for its western and southern parts), North America. In the main part of the areal *L. inundata* is a plant of wet, bare, peaty or sandy margins of lakes, streams and marshes. It can rapidly colonize territories disturbed by peat mining, recreation loads, winter flooding [1]. However, it is rare in some parts of its range and is listed as a threatened species [2].

On the territory of Russia, *L. inundata* sporadically inhabits in the European part, the Urals Mountains, in West and East Siberia. In most territory *L. inundata* is a rare species. But, for the last decades there has been a tendency to range expansion [3–13]. *L. inundata* mostly inhabited disturbed places or secondary communities (moderately moist sandy pits, peat fields, mossy wastelands, wet sandy forest edges, sandy or poorly-silt river coasts). Sometimes it can be met along forest roads and electric energy transmission lines, at cutting areas. The species sharply decreases in number after moss cover recovery, intensive growth of trees, shrubs and dwarf shrubs, grassy plants. In spite of its anthropogenic preferences, more than 20 regions of Russia have acknowledged *L. inundata* as a protected plant, including the regions of the North and the Urals [3, 5, 14–20]. The limiting factors for the plant are its low competitive ability, narrow ecological amplitude, disturbed hydrological regime, natural succession processes of vegetation, and forest fires.

On the territory of the Komi Republic, *L. inundata* has been first identified in the Kortkeros District [21]. In the present work the aimed to specify the present distribution of *L. inundata* within the Komi Republic, to identify its ecological and habitat preferences, to

estimate the size of populations (taking into account biomorphological features of the species) and as well as conservations prospects.

### Materials and methods

The study region is situated in the North-East of the European part of Russia, within the Vychegda-Mezen plain, in the middle taiga sub-zone of the Komi Republic. During the field surveys of 2017–2018, the authors discovered and investigated four local populations (LPs) of *L. inundata*. LP 1 (N 61.8498°, E 51.6153°) is an old re-vegetating sandy pit in pine forest situated along the Kortkeros-Madzha auto-road in the Kortkeros District. LP 2 (N 61.9590°, E 50.6061°) is a re-vegetating sandy pit in the outskirts of the Yazel settlements in the Syktyvdinsky District. LP 3 (N 62.6796°, E 51.2948°) is in the outskirts of the Trakt settlement in the Knyazhpogost District. LP 4 (N 60.5557°, E 50.9998°) is a roadside ditch on the skirts of lichen pine forest near the Sedtydor settlement on the left bank of the Sysola River in the Koigorodsky District (Fig.).

Geobotanical description of plant communities with participation of the study species have been made within their natural borders. The bio-morphological features of *L. inundata* are described using the comparative morphological method. Observations on the development of individuals were carried out. The *L. inundata* life-form is described by I.G. Serebryakov's system [22, 23]. For the identified local populations, the area was measured and the number of individuals was calculated. In LP 1 there was laid a transect with accounting area of 10 × 10 cm in size for calculation of density of individuals. Latin names for vascular plants were given according to "The Plant List" [24]. *L. inundata* herbarium samples are maintained in Herbarium of the Institute of



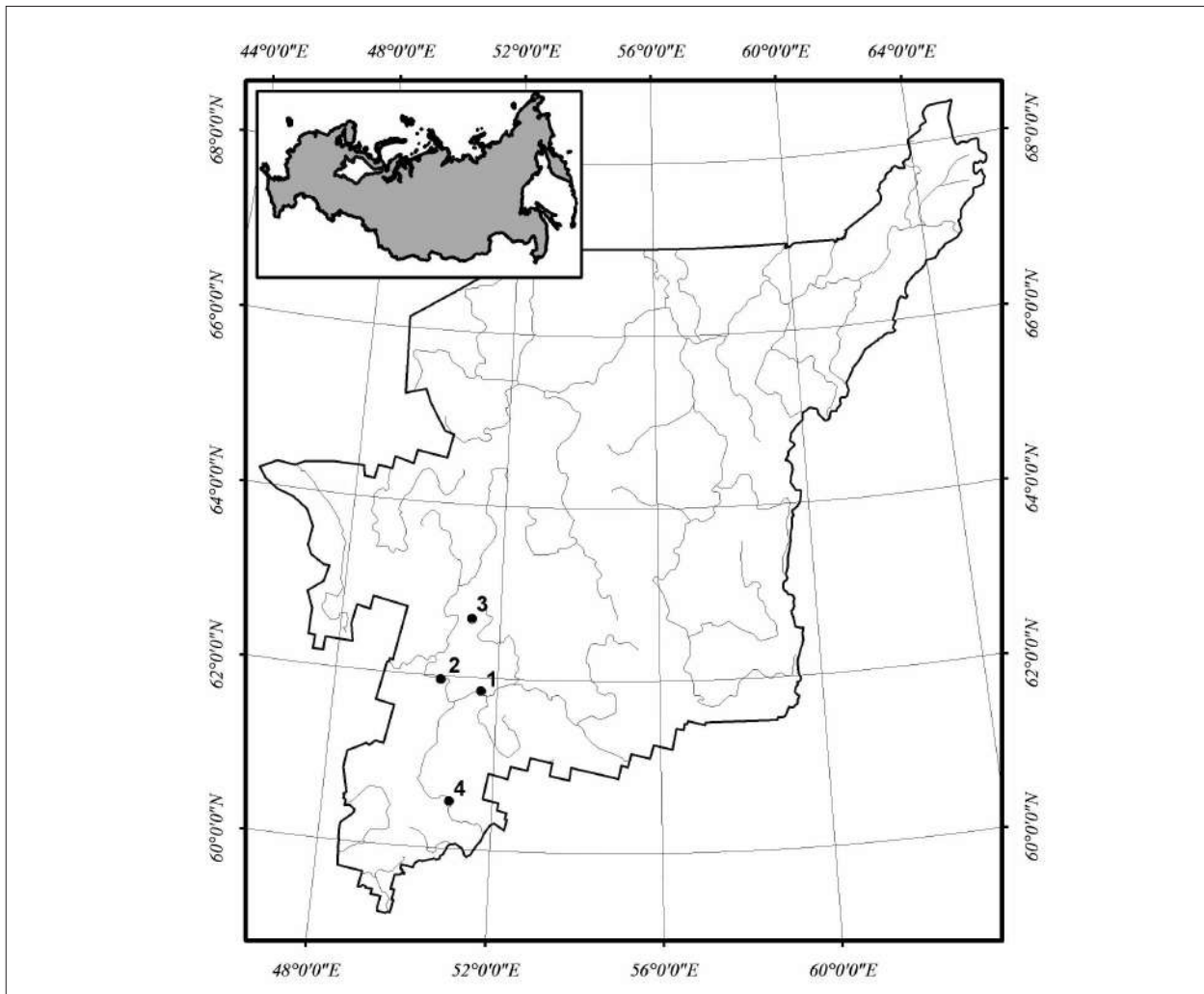


Fig. Location of the local populations (LP) of *Lycopodiella inundata* in the Komi Republic: 1 – LP1, 2 – LP2, 3 – LP3, 4 – LP4

Biology, Komi Science Centre UB RAS (SYKO) and that of the Pitirim Sorokin Syktyvkar State University (SYKT).

For analysis of the paleogeographic history of *L. inundata*, regional stratigraphic schemes of the Pleistocene of European Russia and some regions of Europe were used (according to [25], with some corrections (Table)). The age of the boundaries of the Holocene periods is indicated in radiocarbon years (<sup>14</sup>C years ago) according to the stratigraphic scheme of Khotinsky [26].

### Results and discussion

**The new habitation areas** of *Lycopodiella inundata* located within the Vychegda-Mezen plain, in the south districts of the Komi Republic:

LP 1. Overgrown the sand quarry in pine forest. This local population of *L. inundata* is situated at the bottom of south-west-facing slope with an angle of 45°. The majority of population

inhabits the moist quarry slope bottom which gets overgrown with alone-standing *Alnus incana* (L.) Moench and *Populus tremula* L. representatives. The layer of grasses and dwarf shrubs counts 11 species which includes solitary (Sol. – solitariae) samples of *Trichophorum alpinum* (L.) Pers., *Dactylorhiza maculata* s.l., *Drosera rotundifolia* L., *Empetrum hermaphroditum* Hagerup, *Equisetum arvense* L., *Juncus filiformis* L., *Luzula pilosa* (L.) Willd., *Melampyrum pratense* L., *Oxycoccus microcarpus* Turcz. ex Rupr., and *Vaccinium uliginosum* L. *L. inundata* abundance is Sp. (sparsae). The layer of mosses and lichens is formed of green mosses as *Pleurozium schreberi* (Brid. ex Brid.) Mitt. (Sp.), *Polytrichum strictum* Menzies ex Brid. (Sp.), and *P. commune* Hedw. (Sp.). Population edges partly cover the dry quarry slope bottom, as well as cotton grass-sedge bog at the quarry bottom.

LP 2. Overgrown part of the sand quarry. *L. inundata* inhabits shores of small lakes at the

Table

Glaciations and interglacial periods for some glacial areas in Europe (according to S.M. Shik [26], revised)

Division	Sub-division	Stage	After [27]		European Russia	Belarus	Lithuania	Poland	North Europe	
			Age (Ma)	MIS						
Holocene				1						
Neopleistocene	Upper	4-2	0.11	2-5d	Valday	Poozerie	Nemunas	Vustulan	Weichselian	
		1	0.127	5e	Mikulino	Murava	Merkine	Eemian	Eemian	
	Middle	6	0.1860	6	Moscow	Pripat	Medininkai	Wartanian	Wartanian	
		5	0.242	7	Gorka	?	Snaigupele?	Lubawa	Treene	
		4	0.301	8	Vologda		Zemaitija	Odranian	Drenthe	
		3	0.334	9	Chekalin		?	Zboinian	Domnitz	
		2	0.364	10	Kaluga			Liwecian	Fuhne	
		1	0.427	11	Likhvin	Alexksandria	Butenei	Mazovian	Holsteinian	
		Lower	8	0.474	12	Oka	Berezina	Dainava	Sanian2	Elsterian
	7		0.528		Ikorets?		?	?	Cromerian complex	Noorbergum
					?					
	Muchkap		Beloviezha		Zhidin	Ferdynandovian				
	6		0.568		Don	Yaelda	Dzykija	Sanian 1		Glacial C
	5		0.621		Late Ilyinka	Korchevo	Bine	Malopolonian		Interglacial III
	4		0.659		Setun	Narev	Nalshya	Nidawian		Glacial B
	3		0.712		Early Ilyinka	?	Kamenai	Augostovian		Interglacial II
					Pokrov		Kalviai			
	2		0.760		?		?			Glacial A
	1	0.787	?		?		Interglacial I			
	Eopleistocene	Upper		1.800	Akulovo	Ruzhany	Dau-mantai	Narevian	Dorst	
Lower			2.580		Varyazh					

Note: a question mark (“?”) indicates that the time and name of the period are not defined. Empty cells in the first line indicate that the Holocene is (implied) everywhere.

pit bottom, water-line mineral ground areas. The plant prefers slopes with south-eastern, southern, and south-western expositions. *Populus tremula* and *Salix myrsinifolia* Salisb., sometimes *Salix acutifolia* Willd. are popular tree species. The layer of grasses and dwarf shrubs is poor with total projective cover of 10%. Most abundant (Cop. 1 – Cop. 2 – copiosae) are *Calluna vulgaris* (L.) Hull., *Carex acuta* L., *Drosera rotundifolia*, and *Empetrum hermaphroditum*. The abundance value of Sp. is given to *Antennaria dioica* (L.) Gaertn., *Equisetum fluviatile* L., *Festuca ovina* L., *Juncus filiformis*, and *Lycopodiella inundata*. *Agrostis tenuis* Sibth., *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., *Luzula pilosa*,

*Vaccinium myrtillus* L., *V. vitis-idaea* L., and *Hieracium sp.* have solitary representatives (Sol.). The well-developed mossy-lichen layer is dominated by *Polytrichum commune* (Cop. 2) and *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. (Cop. 1). There are also *Aulacomnium palustre* (Hedw.) Schw gr. (Sp.), *Warnstorfia fluitans* (Hedw.) Loeske in Nitardy (Sp.) and *Cladonia chlorophaea* (Flrke ex Sommerf.) Spreng. s.str. (Sol.), *Cladonia coniocraea* (Flörke) Spreng. (Sol.).

LP 3. Exclusion zone of the linear structure between the gas pipeline strings. The tree layer includes alone-standing young trees of *Betula pubescens* Ehrh., *Populus tremula*, *Pinus sylvestris*, and *Salix phylicifolia* L. Total projec-

tive cover of the grassy-dwarf shrub layer is 30–35%. The layer is dominated by *L. inundata* (Cop. 2–Cop. 1) and *Juncus filiformis* (Cop. 1) and hosts solitary individuals of *Anthoxanthum odoratum* L., *Agrostis tenuis*, *Antennaria dioica*, *Drosera rotundifolia*, *Carex juncella* Th. Fries, *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop, *Dactylorhiza maculata* s.l., *Euphrasia* sp., *Filaginella uliginosa* (L.) Opiz, *Hieracium* sp., *Trifolium pratense* L. (Sol.). Mosses are *Polytrichum commune* (Cop. 3), *Polytrichum juniperinum* Hedw. (Sp.), *Polytrichum piliferum* Hedw. (Sp.), and *Sphagnum russowii* Warnst. (Cop. 1).

LP 4. Overgrown part wet of roadside belt at the edge of lichen pine forest. Plant community takes an area of 140 m<sup>2</sup>. Spots of *Lycopodiella inundata* of 0.5–0.7 m<sup>2</sup> cover mineral ground parts. Tree species are *Pinus sylvestris*, *Betula pubescens*, *Salix phylicifolia*, *S. aurita* L., and *S. myrsinifolia*. Young growth reaches 2 m in height. The layer of grasses and dwarf shrubs counts 15 species with total projective cover of 20%. By abundance grades, *Calluna vulgaris*, *Juncus filiformis*, *Drosera rotundifolia* are Cop. 1, *Lycopodium clavatum* L., *Vaccinium myrtillus*, *V. vitis-idaea*, *V. uliginosum* L., *Carex paupercula* Michx., *C. nigra* (L.) Reichard – Sp., and *Chamaenerion angustifolium*, *Melampyrum pratense*, *Huperzia selago* (L.) Bernh. ex Schrank and C. Mart., *Oxycoccus palustris* Pers. – Sol. The mossy-lichen layer is well-developed (total projective cover of 80%) and consists of *Polytrichum commune* (Cop. 3) and *Sphagnum magellanicum* (Cop. 2).

**Morphology, growth and allocation of counting units.** *Lycopodiella inundata* is a creeping perennial poly-spore plant with annual shoot system. It develops two-type shoots. One type is vegetative shoots with an ascending tip and a lying base like plagiotropic shoots; they form rhizoids. These shoots are thickly covered with linear awl-shaped, smooth-margin sickle-curved leaves with a slightly rounded tip. The other type is spore-bearing orthotropic 2–10-cm high shoots with relatively seldom and protrude leaves. This type of shoots carries cylindrical sporiferous spikelets. Any shoots are annual and die towards the end of vegetation period from proximal end. The tip of vegetative shoot overwinters, starts formation of a new shoot system in summer of the next year, and soon dies. Vegetation proceeds in summer, starts relatively late in contrast with other club-mosses; the plant is summergreen. After several weeks of development, shoot systems of different individuals cover each other's and form a continuous carpet.

We think that *L. inundata* is a spore variance of a typical near-water seed perennial plant with annual shoot system which is sometimes called 'pseudoannual plant of vegetative origin'. The species is vegetative-moving, i. e. it is capable to vegetative multiplication through natural winter morphological disintegration. Countable unit in population studies changes during vegetation season. At the beginning of the growing season, the unit of account is an individual of vegetative origin (ramet). This approach was used when we researched LP 1 in the beginning of summer. Then, as shoot systems get branched, by our opinion, to be better to count vegetative shoot tips because every overwintered tip bears a new individual (ramet). Today, the majority of researchers evaluate the numerical strength of *L. inundata* cenopopulation via area it takes.

**Area and numerical strength of local populations, conservation prospects.** Local populations of *L. inundata* we identified take small areas: LP 1 – 6 m<sup>2</sup>, LP 2 – 6–7 m<sup>2</sup> (including seven localities), LP 3 – 150 m<sup>2</sup>, LP 4 – 6–7 m<sup>2</sup> (nine localities 0.5 m<sup>2</sup> each). Our data correspond with results obtained for Russia. By data regional red data books inform that populations of *L. inundata* normally take an area of 0.5–100 m<sup>2</sup>. Only the Republic of Udmurtia marks through a high number of the species.

Number of *L. inundata* populations are often evaluated using relative attributes "low/high" and giving area they take [10, 28]. This situation exists because it is often difficult to decide upon the countable unit. Examination of LP 1 was performed at the time of regrowth of overwintered tops of last year's shoots. In this period, the use of young individuals of vegetative origin (ramet) as a unit of account was possible. Size of LP 1 was several thousand individuals with density of 850–4000 units/m<sup>2</sup>. The remaining populations were examined later, in the second half of summer, but they were also counted individuals of vegetative origin (ramet). Size of LP 3 (several thousand ramets) is as large as LP 1. LP 2 and LP 4 are small populations (less than 1000 ramets).

In the Komi Republik habitation places of *L. inundata* are well-warmed temporally moistened southern or south-western slopes and poor sands which fully agree with ecological characteristics of species. In the study biotopes, *L. inundata* is accompanied by 35 spore and seed plants, 12 mosses and lichens. Its necessary companions in every community are *Drosera rotundifolia* and *Juncus filiformis*, mosses of the genera *Sphagnum* and *Polytrichum*. Numerous

companions of *L. inundata* in the Komi Republic remain its companions behind the territory of the republic [12–14, 28].

All habitats of *L. inundata* in the Komi Republic we identified as anthropogenic ones. In Russia, this species naturally grows only in several regions – on lake shores in the Arkhangelsk Region [4], in dark-coniferous forests in the Perm Krai [29], in wet peatland forests [30] and in interdunal valleys [12] in the Vologda Region, at pine forests edges in the Kirov Region [34], and in the Khanty-Mansi Autonomous District [18]. In all other cases, the sites of growth of the species are secondary community, which confirms the hypothesis of *L. inundata* resettlement at the present time along the anthropogenically disturbed sites [12–13].

The question of paleogeographic history of *L. inundata* is interesting. For adjacent areas, in particular for Western Siberia, it has been established that *L. inundata* is a relic of the Tertiary Period [13]. However, analysis of the palinological literature in the European North shows that in the most of the studied spores-and-pollen spectra, the *L. inundata* spores were not detected. Their single grains were first found in early Pleistocene sediments, 1800–800 thousand years ago (Eopleistocene), in the Middle Pechora below the Kipievo Village (N 65.6577°, E 54.5036°) [32]. To the north, in the Bolshezemelskaya Tundra (the Nalim-Yu River), a single *L. inundata* spore was found in the Chekalin Interstadial deposits (334–301 thousand years ago) [32]. To the south, in the Vologda and Arkhangelsk regions, *L. inundata* spores was encountered very rarely in the Mikulino Interglacial (127–71 thousand years ago) deposits in pollen zones from the Pas'va and Shenkursk sections sediments in the Vaga River valley (N 61.5843°, E 42.7158°; N 62.1056°, E 42.8996°) and also in zone of the Mikulino Interglacial (section in the Syuma and Pesa Rivers valley) [33]. Holocene sediments (11 thousand years ago – present) from the Chernaya Gorka palsa section located on the Bol'shaya Paypudyna River (N 67.0681°, E 65.3608°), in the Polar Urals, contain single grains of *L. inundata* spores [34]. Here the spores of *L. inundata* occur in deposits of the late Preboreal, Boreal and early Atlantic periods (9500–8000 <sup>14</sup>C) and disappears in overlying sedge peat. However, this site is already located about 10 km east of the boundary between Europe and Asia. Thus, the analysis of the literature makes it possible to exclude the relic nature of the present locations of *L. inundata* in the European North and allows

one to classify the species as an allochthonous element of the flora.

### Conclusion

Thus, our studies allowed specifying distribution of a new spore-bearing species in flora of the Komi Republic, *L. inundata* and identifying the species as an allochthonic flora element. Spores can be transported from neighboring territories due to road building or via migrant wetland or swimming birds. The identified habitats of *L. inundata* are located on poor and acid sands or peats with temporal moisture conditions. Necessary companions of the species in any communities are *Drosera rotundifolia* and *Juncus filiformis*, mosses of the genera *Sphagnum* and *Polytrichum*.

The life-form of the *Lycopodiella inundata* sporophyte is a spore variance of perennial plant with annual shoot system ('annual plant of vegetative origin'). This species prefers vegetative multiplication through natural winter morphological disintegration. For determine the population in the beginning of shoots growth, ramets are recommended to be counted. And with the full growth of shoot systems, the number of vegetative tops of shoots is calculated, which after overwintering give rise to new individuals.

In view of the fact that the species is rare and tends to decrease its habitats worldwide, we included *L. inundata* into new edition of the Red Data Book of the Komi Republic [35] with protection status category 3 (Rare). All habitation places of the species are out of specially protected areas of the republic and so are threatened. Limiting factors for this stenotopic species in the Komi Republic are its narrow ecological amplitude, low competitiveness, instability to violations of the hydrological regime (bogging or draining) and overgrowth of biotopes due to natural succession processes.

*The work was done within the theme "Bio-geological accidents and stratigraphy of the Phanerozoic in the sub-Arctic zone of the Barents Region, the Timan Range, and the western Ural slope" R № AAAA-A17-117121140081-7. The authors thank PhD D.A. Philippov (Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS), A.B. Chzobadze (Vologda State University), L.V. Onishchenko (ZAO Gold Minerals, Syktyvkar).*

### References

1. Preston C.D., Pearman D.A., Dines T.D. New atlas of the British and Irish flora. Oxford: Oxford University press, 2002. 922 p.

2. IUCN – The IUCN Red List of Threatened Species [Internet resource] <http://www.iucnredlist.org>. (Accessed: 10.06.2020).
3. Belkina O.A. *Lycopodiella inundata* (L.) Holub. // Red Data Book of the Murmansk Region / Ed. N.A. Konstantinova. Kemerovo: Asia-print, 2014. P. 333 (in Russian).
4. Kucherov I.B., Puchnina L.V., Razumovskaya A.V. New and rare flora species of vascular plants in the Arkhangelsk Region // Botanical Journal. 2009. V. 94. No. 2. P. 296–302 (in Russian).
5. Muldashev A.A. *Lycopodiella inundata* (L.) Holub. // Red Data Book of the Republic of Bashkortostan. V. 1. Plants and fungi / Ed. B.M. Mirkin. Ufa: MediaPrint, 2011. P. 254 (in Russian).
6. Ivchenko T.G., Kulikov P.V. Findings of rare species of vascular plants in peatlands of the Southern Urals (the Chelyabinsk Region) // Botanical Journal. 2013. V. 98. No. 3. P. 371–382 (in Russian).
7. Naumenko N.I. Flora and vegetation of the Southern Transurals. Kurgan: Kurgan State University, 2008. 512 p. (in Russian).
8. Blagoveshchenskij I.V. *Lycopodiella inundata* (L.) Holub. // Red Data Book of Ulyanovsk Region / Ed. E.A. Artemyeva. Moskva: Izdatelstvo Buki Vedi, 2015. P. 227–228 (in Russian).
9. Sagalaev V.A., Skvortzov A.K., Anfimova M.V., Balyuk T.V., Kantimerova E.N., Matveev D.E. Rare and interesting species of the Nizhegorodski natural Park flora // Povolzhskii ekologicheskii vestnik. 2004. No. 10. P. 46–52 (in Russian).
10. Agafonov V.A., Streltsova T.E. *Lycopodiella inundata* (L.) Holub. // Red Data Book of the Voronezh Region. Voronezh: MODEK, 2011. V. 1. P. 38 (in Russian).
11. Doronina A.Yu. New findings of rare vascular plants in different areas of the Leningrad Region and in Sankt-Petersburg // Annals of the Sankt-Petersburg University. Series 3. Biology. 2016. No. 2. P. 118–126 (in Russian). doi: 10.21638/11701/spbu03.2016.209
12. Chkhobadze A.B., Filippov D.A. *Lycopodiella inundata* and *Selaginella selaginoides* in the Vologda Region // Botanical Journal. 2013. V. 98. No. 4. P. 515–532 (in Russian).
13. Glazunov V.A. Distribution and conservation of *Lycopodiella inundata* (L.) Holub (Lycopodiaceae) in West Siberia // Annals of the Tomsk State University. Biology. 2015. No. 2 (30). P. 35–45 (in Russian). doi: 10.17223/19988591/30/3
14. Prokhorov V.E. *Lycopodiella inundata* (L.) Holub. // Red Data Book of the Republic of Tatarstan (Animals, Plants, Fungi) / Ed. A.A. Nazirov. Kazan: Idel-Press, 2016. P. 563–564 (in Russian).
15. Resolution of the government of the Vologda region 24.02.2015 No. 125 “About the approval of the list (list) of rare and endangered species (intraspecific taxa) of plants and fungi listed in the red book of the Vologda region” [Internet recourse] [https://vologda-oblast.ru/special/dokumenty/zakony\\_i\\_postanovleniya/postanovleniya\\_pravitelstva/393552/](https://vologda-oblast.ru/special/dokumenty/zakony_i_postanovleniya/postanovleniya_pravitelstva/393552/) (Accessed: 03.08.2020). (in Russian).
16. Efimchik E.G. *Lycopodiella inundata* (L.) Holub. // Red Data Book of the Perm Region / Ed. A.I. Shchepel. Perm: Knizhny mir, 2008. P. 170 (in Russian).
17. Ivanenko Yu.A., Naumenko N.I. *Lycopodiella inundata* (L.) Holub. // Red Data Book of the Kurgan Region. Kurgan: Publishing house of Kurgan University, 2012. P. 389 (in Russian).
18. Glazunov V.A. *Lycopodiella inundata* (L.) Holub. // Red Data Book of the Khanty-Mansi Autonomous District – Yugra: Animals, Plants, Fungi / Eds. A.M. Vasin, A.L. Vasina. Ekaterinburg: Basko, 2013. P. 264 (in Russian).
19. Glazunov V.A. *Lycopodiella inundata* (L.) Holub. // Red Data Book of the Yamalo-Nenets Autonomous District: Animals, Plants, Fungi / Eds. S.N. Ektova, D.O. Zamyatin. Ekaterinburg: Basko, 2010. P. 174 (in Russian).
20. Baranova O.G. *Lycopodiella inundata* (L.) Holub. // Red Data Book of the Udmurt Republic / Ed. O.G. Baranova. Cheboksary: Perfektum, 2012. P. 206 (in Russian).
21. Onishchenko L. *Lycopodiella inundata* // Plantarium: Key for plants on-line [Internet resource] <http://www.plantarium.ru/page/image/id/82095.html> (Accessed: 10.06.2020).
22. Serebryakov I.G. Ecological morphology of plants. Live forms of angiosperms and conifers. Moskva: Vysshaya shkola, 1962. 377 p. (in Russian).
23. Serebryakov I.G. Live forms of higher plants and their characteristics // Field geobotany. V. 3. Moskva-Leningrad: Nauka, 1964. P. 146–208 (in Russian).
24. The Plant List. Version 1.1. [Internet resource] <http://www.theplantlist.org>. (Accessed: 10.06.2020).
25. Shik S.M. Some stratigraphy and paleogeography problems of the Quaternary period // Bulletin of Commission on the Quaternary period. 2008. No. 68. P. 40–49 (in Russian).
26. Khotinsky N.A. Holocene of the Northern Eurasia. Moskva: Nauka, 1977. 200 p. (in Russian).
27. Bassinot F., Labeyrie L., Vincent E., Quidelleur X., Shackleton N.J., Lancelot Y. The astronomical theory of climate and the age of the Brunhes-Matuyama magnetic reversal // Earth Planet. Sci. Lett. 1994. V. 126. P. 91–108.
28. Muldashev A.A. New flora findings in Bashkiria // Botanical Journal. 2011. V. 96. P. 654–660 (in Russian).
29. Ovesnov S.A. Flora summary of the Perm Region. Perm: Izdatelstvo Permskogo universiteta, 1997. 252 p. (in Russian).
30. Orlova N.I. Synopsis of the flora of the Vologda region. Vascular plants // Trudy Sankt-Peterburgskogo obshchestva estestvoispytateley. 1993. V. 77. No. 3. 262 p. (in Russian).
31. Tarasova E.M. Flora of the Vyatka Krai. Part 1. Vascular plants. Kirov: Kirovskaya oblastnaya tipografia, 2007. 440 p. (in Russian).

32. Berdovskaya G.N. Palynological description of Pleistocene deposits in the low Pechora River and its importance for stratigraphy : Avtoref. dis. ... kand. geol.-min. nauk. Leningrad: LGU, 1971. 25 p. (in Russian).

33. Devyatova E.I. Natural environment of Late Pleistocene and its impact on human's dissemination in the Severodvinsk basin and in Karelia. Petrozavodsk: Karelia, 1982. 156 p. (in Russian).

34. Jankovska V., Andreev A.A., Panova N.K. Holocene environmental history on the eastern slope of the Polar Ural Mountains, Russia // *Boreas*. 2006. V. 35. P. 650–661. doi: 10.1111/j.1502-3885.2006.tb01171.x

35. Teteryuk L.V., Bobrov Y.A. *Lycopodiella inundata* // Red Data Book of the Komi Republic / Ed. S.V. Degteva. Syktyvkar: Komi respublikanskaya tipografiya, 2019. P. 334 (in Russian).

## Антагонистическая и сорбционная активность моно-, бинарных и трёхвидовых биоплёнок почвенных цианобактерий

© 2020. А. И. Фокина<sup>1</sup>, к. б. н., доцент, С. Г. Скугорева<sup>2</sup>, к. б. н., н. с., Л. И. Домрачева<sup>2, 3</sup>, д. б. н., профессор, в. н. с., А. Л. Ковина<sup>3</sup>, к. б. н., доцент,

<sup>1</sup>Вятский государственный университет, 610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,

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

<sup>3</sup>Вятская государственная сельскохозяйственная академия, 610017, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 133, e-mail: annushka-fokina@mail.ru

Целью данной работы было изучение интенсивности развития *Fischerella muscicola* в моно-, бинарных и трёхвидовых цианобактериальных плёнках, а также определение её антифузариозной и сорбционной активности. Использовали цианобактерии (ЦБ) *Fischerella muscicola* (Thur.) Gom 300, *Nostoc muscorum* (Ag.) Elenk 21 и *N. paludosum* (Kütz.) Elenk 18, а также микромицет *Fusarium culmorum*. Модельный опыт по выявлению характера взаимодействия различных видов ЦБ друг с другом проводили в микрокосмах со стерильным кварцевым песком в чашках Петри. Доказано, что ЦБ *F. muscicola*, как в монокультуре, так и в ассоциациях с другими ЦБ имеет потенциал биопротектора в условиях повышенного содержания в окружающей среде соединений меди, а также в присутствии фузариотоксинов. Мощным противофузариозным действием обладает тройная ассоциация цианобактерий, что отражается в меньшем количестве (в 3,7 раза) пропагул и длине мицелия (в 12,7 раза) гриба, по сравнению с контролем; биомасса ЦБ *F. muscicola* и биоплёнок с её участием обладают высоким биосорбционным потенциалом. Между содержанием гликанов и цитокининов в субстрате и численностью/длиной нитей ЦБ установлена высокая положительная корреляционная связь ( $r = 0,84-0,93$ ), что указывает на роль данных соединений в процессах формирования биоплёнок.

**Ключевые слова:** цианобактерии, биоплёнки, биосорбция, антагонизм, фитопатогены.

## Antagonistic and sorption activity of mono-, binary, and three-species biofilms of soil cyanobacteria

© 2020. A. I. Fokina<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-8265-8882, S. G. Skugoreva<sup>2</sup> ORCID: 0000-0003-2371-4949

L. I. Domracheva<sup>2, 3</sup> ORCID: 0000-0002-7104-3337, A. L. Kovina<sup>3</sup> ORCID: 0000-0003-0503-3402

<sup>1</sup>Vyatka State University,

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

<sup>2</sup>Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of RAS, 28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,

<sup>3</sup>Vyatka State Agricultural Academy, 133, Oktyabrskiy Prospekt, Kirov, Russia, 610017,

e-mail: annushka-fokina@mail.ru

The aim of this work was to study the intensity of development of *Fischerella muscicola* mono-, binary, and three-species cyanobacterial films, as well as to determine its antifusarium and sorption activity. The cyanobacteria *Fischerella muscicola* (Thur.) Gom 300, *Nostoc muscorum* (Ag.) Elenk 21 and *N. paludosum* (Kütz.) Elenk 18, as well as *Fusarium culmorum* micromycetes were used. A model experiment to identify the nature of the interaction of various types of cyanobacteria with each other was carried out in microcosms with sterile quartz sand in Petri dishes. It has been proved that the *F. muscicola* CB, both in monoculture and in associations with other CBs, has a bioprotective potential under conditions of high levels of copper and fusariotoxin compounds in the environment. A triple association of cyanobacteria has a powerful antifusarium effect, which is reflected in a smaller number (3.7 times) of propagules and the length of the mycelium (12.7 times) of the fungus compared to the control; the biomass of the CB *F. muscicola* and biofilms with its participation has a high biosorption potential; between the content of glycans and cytokinins in the substrate and the

number/length of CB strands, a high positive correlation was established ( $r = 0.84-0.93$ ), which indicates the role of these compounds in the processes of biofilm formation.

**Keywords:** cyanobacteria, biofilms, biosorption, antagonism, phytopathogens.

Цианобактерии (ЦБ) – организмы, эволюционно приспособленные к существованию в коллаборациях с другими представителями микробиоты как сапротрофного, так и фототрофного блоков [1]. Цианобактериальные биооплётки (ЦБП) и поверхностные разрастания ЦБ постоянно встречаются в различных типах почв во всех регионах планеты [2]. Значительное количество литературных источников посвящено механизму формирования ЦБП [3], экологической и медицинской значимости ЦБ и их экзометаболических [4], а также практическому использованию моно- и поливидовых ЦБП в биотехнологии [5], в процессах биомониторинга, ремедиации химически и биологически загрязнённой почвы [6, 7] и биосорбционных процессах [2]. В настоящее время ЦБ рассматриваются в качестве потенциальных агентов биоконтроля, поскольку они проявляют антагонистическое действие против многих фитопатогенных микроорганизмов (МО). Антимикробные соединения ЦБ могут подавлять патогенные МО через разрушение цитоплазматической мембраны, ингибирование синтеза белка, активность гидролитических ферментов и т. д. Это, в частности, обеспечивается способностью ЦБ вегетировать в ризосфере при их интродукции в почву и колонизировать части растений [8].

В последние годы возрос интерес исследователей к ЦБ *Fischerella muscicola*, для которой доказана повышенная скорость роста в культуре, высокая антагонистическая активность и способность к синтезу разнообразных биологически активных веществ [9–11].

Целью данной работы было изучение интенсивности развития *Fischerella muscicola* в моно-, бинарных и трёхвидовых цианобактериальных плёнках, а также определение её фузариозной и сорбционной активности.

### Материалы и методы

**Объекты исследования.** В работе использованы альгологически чистые культуры ЦБ: *Fischerella muscicola*, *Nostoc muscorum* и *N. paludosum*, а также микромицет *Fusarium culmorum*, обладающий ярко выраженной патогенной активностью по отношению к злаковым культурам [12], выделенный из почвы транспортной зоны г. Кирова.

**Методика постановки и проведения опыта.** Модельный опыт по выявлению характера взаимодействия различных видов ЦБ друг с другом проводили в микрокосмах со стерильным кварцевым песком в чашках Петри.

**Исследование антагонистической активности цианобактерий по отношению к микромицету *F. culmorum*.** Антагонистическую активность тройных смесей ЦБ проверяли на фитопатогенном грибе *F. culmorum* методом совместного выращивания в микрокосмах. Об антагонистической активности ЦБ судили по снижению длины мицелия и количеству пропагул изучаемого гриба. Для искусственного создания БП использовали гомогенизированные культуры ЦБ, выращенные в течение 30 дней в жидкой питательной среде Громова № 6 без азота [13] с титром (кл./см<sup>3</sup>): *F. muscicola* –  $(8,4 \pm 0,3) \cdot 10^7$ ; *N. muscorum* –  $(1,8 \pm 0,2) \cdot 10^7$ ; *N. paludosum* –  $(2,0 \pm 0,6) \cdot 10^7$ . Культивирование гриба *F. culmorum* проводили на агаризованной среде Чапека [13], в песок засевали его конидии, полученные смывом с газонов гриба, с титром  $10^6$  конидий/см<sup>3</sup> – 10 см<sup>3</sup> на чашку. Далее вносили по 30 см<sup>3</sup> жидкости, содержащей ЦБ: в монокультурах объёмное соотношение суспензии ЦБ и среды Громова № 6 без азота 1:2; в бинарных культурах – 1:1:1; в тройных – по 10 см<sup>3</sup> суспензии каждого вида ЦБ.

Схема опыта по формированию БП включала следующие варианты: *Fischerella muscicola*; *F. muscicola* + *Nostoc muscorum*; *F. muscicola* + *Nostoc paludosum*; *F. muscicola* + *N. muscorum* + *N. paludosum*; *Fusarium culmorum*; *F. culmorum* + тройная ассоциация ЦБ (*F. muscicola* + *N. paludosum* + *N. muscorum*).

В ходе опыта чашки Петри экспонировали в течение 30 сут до достижения в одном из вариантов 100% покрытия песка плёнками ЦБ. В БП определяли численность клеток ЦБ и пропагул гриба методом прямого счёта на мазках в 9-кратной повторности [14]. В этих же вариантах определяли состав экзометаболических в субстрате их произрастания и способность образовавшихся БП сорбировать ионы  $\text{Cu}^{2+}$  из раствора нитрата меди (II).

**Изучение кинетики сорбции ионов  $\text{Cu}^{2+}$  биооплётками.** Перед проведением эксперимента биомассу БП извлекали из чашек Петри, отмывали от песка и питательной среды



дистиллированной водой, высушивали до постоянной массы и измельчали. Измерение содержания  $\text{Cu}^{2+}$  в растворе проводили потенциометрическим методом на иономере «Эксперт-001» с ионоселективным электродом, чувствительным к концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$ . В химический стакан вносили  $50 \text{ см}^3$  раствора нитрата меди(II) с концентрацией  $1 \cdot 10^{-4} \text{ М}$ ,  $10 \text{ см}^3$   $1 \text{ М}$   $\text{KNO}_3$  (раствор с высокой ионной силой), опускали в раствор ионоселективный электрод, рН-электрод и двухключевой электрод сравнения, магнит и вносили навески высушенных и измельчённых БП [15].

Для приёма и обработки данных с иономера «Эксперт-001» использовали программу EXR2PR (ООО «ЭКОНИКС-ЭКСПЕРТ»). При описании сорбции применяли наиболее распространённые модели кинетики: модель псевдо-первого и псевдо-второго порядков, модифицированную модель второго порядка и модель Еловича [15–17]. Значения параметров кинетических моделей сорбции были найдены методом наименьших квадратов при помощи надстройки «Поиск решения» программного пакета Microsoft Office Excel. При подборе модели кинетики сорбции рассчитывали коэффициент детерминации  $r^2$  по формуле:

$$r^2 = 1 - \frac{D_1}{D_2},$$

где  $D_1$  – дисперсия разности экспериментальных и расчётных данных;  $D_2$  – дисперсия экспериментальных данных.

**Исследование состава экзометаболитов микроорганизмов в субстрате.** Для определения качественного и количественного состава экзометаболитов МО в субстрате произрастания готовили водные вытяжки из песка под выросшими ЦБ в массовом соотношении песок:вода, равном 1:5. Экстракцию осуществляли в течение 20 ч, при температуре  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Далее песок отделяли от экстракта центрифугированием. В центрифугате методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определяли качественный и количественный состав экзометаболитов на хроматографе Shimadzu LC-20 серии Prominence с диодно-матричным детектором (Япония). За результат анализа брали среднее двух параллельных измерений, разница между которыми не превышала 5%.

### Результаты и обсуждение

**Антагонистическая активность ЦБ по отношению к *Fusarium culmorum*.** Цианобактерии – микроорганизмы, обладающие высокой скоростью размножения в благоприятных условиях. Совмещение в одном организме способности к оксигенному фотосинтезу и азотфиксации делает их уникальными автотрофами по углероду и азоту и позволяет размножаться на бедных питательными элементами субстратах. Внесение жидких ЦБ культур в такие субстраты, как почва и песок, всегда сопровождается их массовым развитием на поверхности в виде визуально различимых налётов, корочек или БП. Как правило, интенсивность размножения ЦБ на поверхности субстрата после их инокуляции зависит и от первоначального титра клеток и внешних условий (влажность, температура, освещение, кислотность и т. д.).

Результаты эксперимента по формированию БП на кварцевом песке показали, что при снятии опыта численность ЦБ различна при внесении моно-, бинарных и тройных культур, хотя в любом случае достигает очень высоких показателей – в пределах от десятков миллионов до миллиардов клеток ЦБ на  $1 \text{ см}^2$  (табл. 1). Однако при этом плотность цианобактериальных популяций в бинарных и тройных ассоциациях намного выше, чем в моновидовой БП фишереллы. Ранее было установлено,

Таблица 1 / Table 1

Особенности развития цианобактерий в биоплёнках  
Features of the development of cyanobacteria in biofilms

Вариант / Option	Численность, $\cdot 10^7$ кл./ $\text{см}^2$ Number, $\cdot 10^7$ cells/ $\text{cm}^2$	Длина нитей, м/ $\text{см}^2$ Thread length, m/ $\text{cm}^2$
<i>Fischerella muscicola</i>	$4,1 \pm 0,7$	$283,5 \pm 8,6$
<i>F. muscicola</i> + <i>Nostoc muscorum</i>	$18,3 \pm 1,5^*$	$732,4 \pm 58,4^*$
<i>F. muscicola</i> + <i>N. paludosum</i>	$10,7 \pm 1,5$	$429,2 \pm 59,2$
<i>F. muscicola</i> + <i>N. muscorum</i> + <i>N. paludosum</i>	$16,3 \pm 4,0^*$	$650,0 \pm 16,8^*$
<i>F. muscicola</i> + <i>N. muscorum</i> + <i>N. paludosum</i> + <i>F. culmorum</i>	$16,7 \pm 0,6^*$	$668,0 \pm 7,2^*$

Примечание / Note: \* – максимальные показатели численности клеток ЦБ / \* – the maximum numbers of CB cells.

Таблица 2 / Table 2

Влияние цианобактерий на развитие *Fusarium culmorum*  
The influence of cyanobacteria on the development of *Fusarium culmorum*

Вариант / Option	Количество пропагул/см <sup>2</sup> , · 10 <sup>7</sup> The number of propagules/cm <sup>2</sup> , · 10 <sup>7</sup>	Длина мицелия, м/см <sup>2</sup> The length of the mycelium, m/cm <sup>2</sup>
<i>F. culmorum</i>	0,41±0,04	787,2±99,0
<i>F. culmorum</i> + <i>F. muscicola</i> + <i>N. muscorum</i> + <i>N. paludosum</i>	0,11±0,01	62,0 ±7,0

Таблица 3 / Table 3

Коэффициенты детерминации ( $r^2$ ) между экспериментальными и расчётными данными для различных кинетических моделей сорбции  $Cu^{2+}$  / Determination coefficients ( $r^2$ ) between experimental and calculated data for various kinetic models of  $Cu^{2+}$  sorption

Биоплёнка-сорбент $Cu^{2+}$ Biofilm-sorbent $Cu^{2+}$	Коэффициенты детерминации для моделей			
	псевдо-первого порядка pseudo-first order	псевдо-второго порядка pseudo-second order	модифицированной модели второго порядка / second-order modified	Еловича Elovich
<i>F. muscicola</i>	0,91	0,990*	0,991**	0,92
<i>F. culmorum</i>	0,95	0,995*	0,998**	0,989
<i>F. muscicola</i> + <i>N. muscorum</i>	0,96	0,98	0,985*	0,994**
<i>F. muscicola</i> + <i>N. paludosum</i>	0,91	0,98	0,990*	0,995**
<i>F. muscicola</i> + <i>N. paludosum</i> + <i>N. muscorum</i>	0,95	0,994*	0,998**	0,986
<i>F. culmorum</i> + <i>F. muscicola</i> + <i>N. paludosum</i> + <i>N. muscorum</i>	0,988	0,9987*	0,999**	0,990

Примечание: \* – высокие значения, \*\* – максимальные значения.  
Note: \* – high values, \*\* – maximum values.

что в процессе формирования БП наиболее интенсивное размножение *F. muscicola* с плотностью популяций свыше 50 млн клеток/см<sup>2</sup> отмечалось в варианте с тройной ассоциацией, где партнерами фишереллы были мицелиальные эукариотный (микромизет *F. avenaieum*) и прокариотный (актиномицет *Streptomyces wedmorensis*) МО [3].

Использование тройной ассоциации ЦБ не только приводит к интенсификации их размножения, но и служит мощным противофузариозным агентом. При этом количество пропагул фузариума в варианте с тройной ассоциацией ЦБ меньше в 3,7 раза, а суммарная длина мицелия данного фитопатогена – в 12,7 раза, по сравнению с вариантом без ЦБ (табл. 2).

**Характеристика сорбционной способности биоплёнок по отношению к ионам  $Cu^{2+}$ .** Для установления модели, оптимально описывающей сорбцию  $Cu^{2+}$  БП, сравнивали коэффициенты детерминации  $r^2$ , рассчитанные для разных кинетических моделей (табл. 3).

Максимальные и высокие значения ( $r^2 = 0,985–0,999$ ) коэффициента детерминации были определены для модифицированной

модели второго порядка. Ранее [13] было показано, что кинетику сорбции ТМ сухим мицелием *F. culmorum* хорошо описывает именно эта модель.

Модифицированная модель второго порядка предполагает, что химическая реакция обмена лимитирует процесс сорбции [17]. Основные параметры данной модели – кинетический коэффициент ( $k_2$ ) и равновесная удельная масса сорбата ( $a_e$ ). Чем выше  $k_2$  и  $a_e$ , тем выше скорость сорбции и сорбционная ёмкость соответственно.

Максимальным значением кинетического коэффициента, а значит, наибольшей скоростью сорбции  $Cu^{2+}$ , характеризовалась моновидовая БП *F. muscicola* (рис.). Для биоплёнки *F. culmorum* скорость сорбции была в 3,7 раза ниже, по сравнению с *F. muscicola*. При использовании двух- и трёхкомпонентных БП скорость сорбции была ниже в 4,7–14,0 раз, по сравнению с однокомпонентной плёнкой.

Равновесная удельная масса сорбата варьировала в пределах от 1,99 до 5,76 мг  $Cu^{2+}$ /г сорбента (рис.). Высокие значения  $a_e$ , а значит, и сорбционной ёмкости, были рассчитаны

для БП на основе микромицета *F. culmorum* (5,76 мг/г). Сорбционная ёмкость *F. muscicola* (2,48 мг/г) была в 2,3 раза меньше, чем *F. culmorum*. Двухкомпонентные БП обладали более низкой сорбционной ёмкостью по сравнению с *F. muscicola* (на 15–25%). Для трёхкомпонентных БП значения равновесных удельных масс были выше на 23–42%, чем для *F. muscicola*.

Таким образом, сухая биомасса ЦБ *F. muscicola*, обладая высокой скоростью сорбции по отношению к ионам  $\text{Cu}^{2+}$ , может быть весьма перспективным сорбентом для их удаления из загрязнённых сточных вод и почв. Кроме того, данный вид ЦБ может быть использован для создания многовидовых БП, обладающих большой сорбционной ёмкостью к ионам  $\text{Cu}^{2+}$  и другим поллютантам.

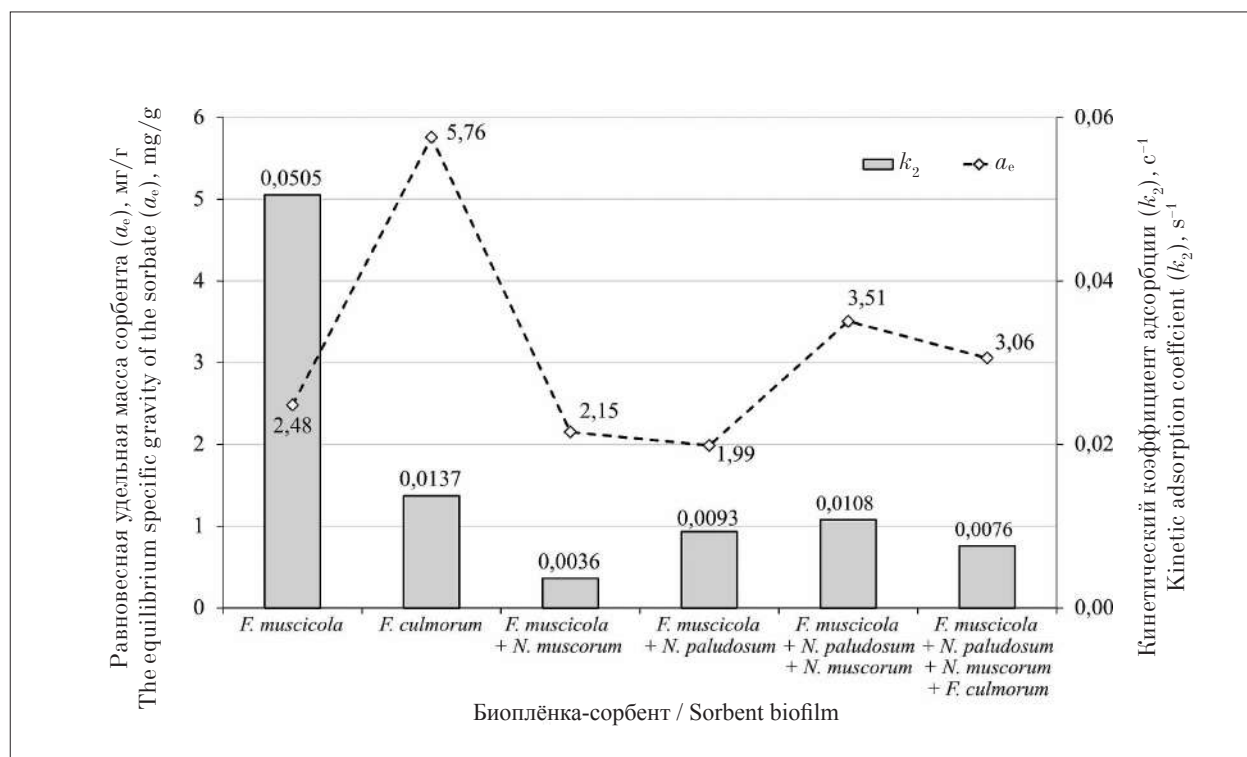
**Содержание экзометаболитов микроорганизмов в субстрате.** Образование двух- и трёхвидовых БП сопровождается увеличением количества гликанов в среде их произрастания (табл. 4), что объяснимо с точки зрения участия последних в механизме формирования матрикса плёнок [18]. Внесение в песок микромицета не влияет на количество гликанов.

Следует отметить, что формирование БП, состоящих из нескольких видов ЦБ, при-

водит к снижению экскреции глутатиона в среду произрастания. Появление в субстрате микромицета *Fusarium culmorum* приводит к возрастанию содержания трипептида, выделяемого МО в субстрат. Вполне вероятно, что выработка глутатиона – ответная реакция ЦБ на окислительный стресс, вызываемый токсинами микромицета.

Образование бинарных и трёхвидовых БП приводит к повышению в субстрате количества гибберелинов (общих), гетероауксинов, цитокининов, по сравнению с содержанием данных веществ в субстрате моновидовых БП. Возможно, что существует связь между накоплением вышеуказанных фитогормонов в субстрате и механизмами воздействия партнеров друг на друга в процессе формирования ЦБП. Образование абсцизовой кислоты снижается. Обнаружены незначительные количества сакситоксина в вариантах, содержащих *N. muscorum*.

Между содержанием гликанов и цитокининов в субстрате и численностью/длиной нитей ЦБ установлена достаточно высокая корреляционная связь ( $r = 0,84–0,93$ ), т. е. чем больше клеток ЦБ, тем больше они вырабатывают данных веществ. Для других экзометаболитов корреляционная связь была статистически не значимой (при  $P = 0,95$ ).



**Рис.** Параметры модифицированной модели второго порядка для описания сорбции  $\text{Cu}^{2+}$  биоплёнками-сорбентами  
**Fig.** Parameters of the modified second-order model to describe the sorption of  $\text{Cu}^{2+}$  by biofilm sorbents

Таблица 4 / Table 4

Концентрация некоторых веществ в водной вытяжке из субстрата произрастания биоплёнок, мкг/см<sup>3</sup> ( $n = 3, P = 0,95, \delta = \pm 5\%$ ) и коэффициенты корреляции между концентрацией веществ и показателями состояния цианобактериальной популяции (численность ЦБ и длина их нитей)  
 The concentration of some substances in the water extract from the biofilm growth substrate,  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$  ( $n = 3, P = 0,95, \delta = \pm 5\%$ ) and the correlation coefficients between the concentration of substances and indicators of the state of the cyanobacterial population (the number of CB and the length of their threads)

Соединение или группа соединений Compound or compound group	Вариант / Option					r (a/b)	
	<i>F. m.</i>	<i>F. m.</i> + <i>N. p.</i>	<i>F. m.</i> + <i>N. m.</i> <i>N. p.</i>	тройная ассоциация ЦБ triple association of CB	тройная ассоциация ЦБ + <i>F. culmorum</i> triple association of CB + <i>F. culmorum</i>	численность ЦБ the number of CB	длина нитей ЦБ filament length
							b
Гликаны общие Glycans	2,07	<u>2,69*</u> 2,14	<u>3,60*</u> 2,00	4,00*	4,07*	0,93*	0,93*
Глутатион Glutathione	0,62	<u>0,10</u> 0,50	<u>0,07</u> 0,39	0,11	0,44	-0,63	-0,56
Цитокинины Cytokinins	0,019	<u>0,18</u> 0,09	<u>0,72</u> 0,11	0,69	0,28	0,84*	0,85*
Гибберелины Gibberelins	0,66	<u>0,83</u> 0,70	<u>1,26</u> 0,62	1,30	1,06	0,57	0,57
Абсцизовая кислота Abscisic acid	1,40	<u>0,61</u> 0,89	<u>1,04</u> 1,00	1,08	1,20	-0,22	-0,10
Гетероауксин Heteroauxin	0,032	<u>0,31</u> 0,15	<u>0,19</u> 0,17	0,29	0,21	0,59	0,48
Сакситоксин Saxitoxin	н/о n/a	н/о n/a	0,001	0,001	0,001	–	–

Примечание: в числителе приведены значения концентраций веществ в вариантах с *F. m.* (*Fischerella muscicola*); в знаменателе – без данной ЦБ; *N. p.* – *Nostoc paludosum*; *N. m.* – *Nostoc muscorum*; н/о – вещество не обнаружено, так как его концентрация менее предела обнаружения метода; \* – высокие значения; r (a/b) – коэффициенты корреляции между концентрацией веществ (a) и показателями состояния цианобактериальной популяции (b – численность ЦБ и длина их нитей).

Note: the numerator shows the concentrations of substances in variants with *F. m.* (*Fischerella muscicola*); in the denominator – without this CB; *N. p.* – *Nostoc paludosum*; *N. m.* – *Nostoc muscorum*; n/a – the substance was not detected, since its concentration is less than the detection limit of the method; \* – high values; r (a/b) – correlation coefficients between the concentration of substances (a) and indicators of the state of the cyanobacterial population (b – the number of CB and the length of their threads).

### Выводы

1. Цианобактерия *F. muscicola* как в монокультуре, так и в ассоциациях с другими ЦБ, имеет потенциал биопротектора в условиях загрязнения окружающей среды соединениями меди и фузариотоксинами. Мощным противofузариозным действием обладает тройная ассоциация ЦБ *F. muscicola* + *N. paludosum* + *N. muscorum*, что отражается в меньших значениях показателей количества (в 3,7 раза) пропагул и длины мицелия (в 12,7 раза) гриба по сравнению с контролем.

2. Наибольшей скоростью сорбции ионов  $\text{Cu}^{2+}$  характеризовалась моновидовая БП на основе *F. muscicola*. Введение в БП других ЦБ

и фузариума уменьшает скорость сорбции до 14 раз. Однако по сравнению с *F. muscicola*, в трёхкомпонентных БП увеличивается такой важнейший параметр сорбции, как её ёмкость. Таким образом, сухая биомасса ЦБ *F. muscicola* и БП с её участием являются эффективными биосорбентами ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , характеризующимися высокими значениями параметров сорбции: скоростью и ёмкостью.

3. Образование двух- и трёхвидовых БП сопровождается увеличением количества гликанов в среде их произрастания. Между содержанием гликанов и цитокининов в субстрате и численностью/длиной нитей ЦБ установлена высокая положительная корреляционная связь ( $r = 0,84-0,93$ ). Об-

разование цианобактериальных БП приводит к повышению в субстрате количества гибберелинов (общих), гетероауксинов и цитокининов.

*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. Pankratova E.M. Formation of the functional features of cyanobacteria along the paths of their conjugate evolution with the biosphere // Theoretical and Applied Ecology. 2010. No. 3. P. 4–11 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2010-3-004-011
2. Patova E.N., Sivkov M.D., Getsen M.V. Metal accumulation by the soil nitrogen-fixing alga *Nostoc commune* in the conditions of the East European tundra // Algologiya. 2000. V. 10. No. 3. P. 250–256 (in Russian).
3. Domracheva L.I., Shirokikh I.G., Tovstik E.V., Skugoreva S.G., Reznik E.N. Formation and assessment of the phyto regulatory potential of multispecies biofilms based on *Fischerella muscicola* // Theoretical and Applied Ecology. 2018. No. 2. P. 117–124 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2018-2-117-124
4. Domracheva L.I., Fokina A.I., Kovina A.L., Ashikhmina T.Ya. Exometabolites of soil cyanobacteria as a survival strategy in natural and technologically disturbed ecosystems // Theoretical and Applied Ecology. 2019. No. 4. P. 15–23 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-4-015-023
5. Chakdar H., Jadhav S., Dhar D., Pabbi S. Potential applications of blue green algae // Journal of Scientific and Industrial Research. January. 2012. V. 71. P. 13–20.
6. Kumar B.N.P., Manaboobi S., Satyam S. Cyanobacteria: a potential natural source for drug discovery and bioremediation // Jr. of Industrial Pollution Control. 2016. No. 32 (2). P. 508–517.
7. Lakhan K., Navneeta B. Enzymatic bioremediation: a smart tool to fight environmental pollutants // Smart Bioremediation Technologies Microbial Enzymes. 2019. P. 99–118. doi: 10.1016/B978-0-12-818307-6.00006-8
8. Swain S.S., Paidasetty S.K., Padhy R.N. Antibacterial antifungal and antimycobacterial compounds from cyanobacteria // Biomed. Pharmacother. 2017. V. 90. P. 760–776. doi: 10.1016/j.biopha.2017.04.030
9. Ahmed B.E., Badaw M.H., Mostafa S.S., Higazy A.M. Human anticancer and antidiabetic activities of the cyanobacterium *Fischerella* sp. BS1-EG isolated from River Nile, Egypt // Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2018. V. 7. No. 1. P. 3473–3485. doi: 10.20546/ijemas.2018.701.409
10. Singh J., Mishra S.K., Dwivedi N., Agrawal N.K. Antibacterial activity of *Fischerella muscicola* NDUPC001 // Journal of Biotechnology and Biochemistry. 2017. V. 3. P. 87–90.
11. Soltani N., Zarrini G., Ghasemi Y., Shokravi S., Baftehchi L. Characterization of a soil cyanobacterium *Fischerella* sp. FS18 under NaCl stress // J. of Biological Sciences. 2007. V. 7. No. 6. P. 934–936.
12. Domracheva L., Trefilova L., Fokina A. *Fusarium*: biological control, sorption capabilities. Germany: Lap. Lambert, 2013. 182 p. (in Russian).
13. Workshop on microbiology: Workshop on Microbiology: Textbook manual / Ed. A.I. Netrusov. Moskva: “Akademiya”, 2005. 608 p. (in Russian).
14. Domracheva L.I. “Flowering” of the soil and patterns of its development. Syktyvkar, 2005. 336 p. (in Russian).
15. Skugoreva S.G., Kantor G.Ya., Domracheva L.I., Kutyavina T.I. Comparative analysis of the effectiveness of the use of sorbents of various nature in relation 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
16. 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
17. 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
18. Pinevich A.V., Kozhenkova E.V., Averina S.G. Biofilms and other prokaryotic consortia. Sankt-Peterburg: KhIMIZDAT, 2018. 264 p. (in Russian).

## Альгоценозы обрастания берегового гидротехнического сооружения в условиях штормовой деятельности (Крым, Чёрное море)

© 2020. И. К. Евстигнеева<sup>1</sup>, к. б. н., с. н. с.,  
 В. П. Евстигнеев<sup>1,2</sup>, к. ф-м. н., в. н. с., И. Н. Танковская<sup>1</sup>, м. н. с.,  
<sup>1</sup>Институт морских биологических исследований  
 имени А. О. Ковалевского РАН,  
 299011, Россия, г. Севастополь, пр. Нахимова, д. 2,  
<sup>2</sup>Севастопольский государственный университет,  
 299053, Россия, г. Севастополь, ул. Университетская, д. 33,  
 e-mail: ikevstigneeva@gmail.com

В обрастании берегового гидротехнического сооружения были обнаружены 38 видов макроводорослей 23 родов, 15 семейств, 14 порядков, трёх отделов (Chlorophyta, Ochrophyta, Rhodophyta), которые соотносятся друг с другом как 2Ch : 1Och : 3Rh. Наибольшим числом видов представлены *Ulva*, *Cladophora*, *Ceramium*, Ulvaceae, Cladophoraceae, Ceramiaceae, Ulvales, Cladophorales, Ceramiales. Установлено, что по направлению от суши к морю снижается таксономическое разнообразие Rhodophyta и его доля в составе альгообрастания, уменьшается среднее число видов и родов в семействе, а также относительное число видов в сопутствующей и олигосапробной группах. В этом же направлении увеличивается среднее число видов Chlorophyta и доля Ochrophyta, средняя фитомасса и её пространственная вариабельность у Rhodophyta, разнообразие содоминантных, ведущих, редких и сезонных видов. После шторма на всех участках и особенно в корневой и центральной частях берегового гидротехнического сооружения увеличивается количество экогрупп с низким видовым разнообразием. Выявлено, что воздействию шторма наиболее подвержены среди признаков – фитомасса, среди отделов – Rhodophyta, среди участков гидротехнического сооружения – верхний горизонт, центральная часть и участок, контактирующий с береговой линией.

**Ключевые слова:** Чёрное море, шторм, гидротехническое сооружение, макроальгообрастание, эколого-таксономический состав, фитомасса.

## Algocenoses of Fouling of Onshore Hydraulic Structures under Conditions of Storm (Crimea, the Black Sea)

© 2020. I. K. Evstigneeva<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-7473-251X,  
 V. P. Evstigneev<sup>1,2</sup> ORCID: 0000-0003-3064-2613, I. N. Tankovskaya<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-4907-0179,  
<sup>1</sup>A. O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Research RAS,  
 2, Nakhimova Prospekt, Sevastopol, Russia, 299011,  
<sup>2</sup>Sevastopol State University,  
 33, Universitetskaya St., Sevastopol, Russia, 299053,  
 e-mail: ikevstigneeva@gmail.com

Ecological-taxonomic composition, occurrence, and abundance of algae in fouling of hydraulic structure jetty after storm are presented. After storm, 38 species of macroalgae of 23 genus, 15 families, 14 orders, 3 divisions (Chlorophyta, Ochrophyta, Rhodophyta) were discovered in the algae fouling. Species ratio of the divisions is presented as 2Ch : 1Och : 3Rh. The dominant Rhodophyta division accounts for 47% of the identified species, 57% of the algae families, and 43% of the orders. Taxonomic proportion of flora is represented as 1 order : 1 family : 2 genus : 3 species. Among the divisions, Ochrophyta has the most simplified ratio of 1:1:1:1. The proportion of orders and families is the same in all three divisions (1:1). *Ulva*, *Cladophora*, *Ceramium*, Ulvaceae, Cladophoraceae, Ceramiaceae, Ulvales, Cladophorales, Ceramiales are represented by the largest number of species. The coverage, species and ecological composition of algae at different distances from the shore and the water surface are determined. In a seaward direction, the taxonomic diversity of Rhodophyta and its fraction in the floristic composition of fouling of onshore hydraulic structures lessen, as well as the average number of species and genus in family decreases, the relative number of species in associate and oligosaprobic groups reduces. Meanwhile, the average number of Chlorophyta species and share of Ochrophyta, Rhodophyta average phytomass and its variability, diversity of codominant, dominant, rare and seasonal species decrease in the same direction. The number of ecological groups with poor species diversity rises after the storm in all areas, particularly in the

root and central part of the hydraulic structure. The negative effect of storm is mostly resulted in decreasing amount of phytomass mostly near the water surface. Phytomass has been determined to be affected by storm to a greater extent than other characteristics, Rhodophyta is the most vulnerable division, whereas the most affected by storm parts of the hydraulic structure are upper sea level (0–0.5 m from the water surface), central part of the structure (20 meters from the shore) and the sector touching the shore.

**Keywords:** the Black Sea, storm, hydraulic structures, macroalgae fouling, ecologo-taxonomic composition, biomass.

Одним из принципов, определяющих эффективность береговых гидротехнических сооружений (ГТС), является их универсальность [1]. Она проявляется в том, что помимо обеспечения защиты от волнового воздействия, сама их конструкция становится местом размножения и функционирования гидробионтов. Научно регламентированное создание ГТС может способствовать стабилизации биоразнообразия, повышению биопродуктивности и улучшению экологической обстановки прибрежных вод.

Сообщество обрастания представляет собой упрощённую модель донных биоценозов [2, 3] и играет ключевую роль в трансформации вещества и энергии водных экосистем. Гидротехнические сооружения становятся новым местообитанием для морских прибрежных видов, что является потенциальным вкладом в восстановление и сохранение морского биоразнообразия [4]. Сообщества обрастания могут стать биоиндикаторами при мониторинге окружающей среды [5]. В Чёрном море распространёнными обрастателями берегозащитных конструкций являются макроводоросли с высокими продукционными и регенерационными свойствами. Тем не менее макрофлора береговых ГТС в Чёрном море остаётся малоизученной также, как и степень её устойчивости под действием внешних факторов, к которым, в частности, относятся штормовые волны. В мировой практике исследования влияния шторма на обрастание в прибрежной зоне носят фрагментарный характер, а для Чёрного моря они почти не проводились [6, 7]. Отсюда целью работы стало исследование структурно-функциональных особенностей и пространственной изменчивости альгообрастания ГТС в до- и послештормовой периоды с оценкой его трансформации под действием ветро-волнового фактора. Цель работы определила задачи: изучить эколого-таксономический состав, пропорции флоры и экологических групп, встречаемость и обилие альгообрастания ГТС в бухте Круглая, оценить его состояние на разном расстоянии от берега и поверхности воды. Анализ данных в период относительно устойчивых гидрометеорологических условий (до шторма) был представлен авторами ранее [8].

теорологических условий (до шторма) был представлен авторами ранее [8].

### Материалы и методы

Гидробиотическая съёмка производилась на ГТС (буна) в прибрежье одной из крупных севастопольских бухт – бухты Круглая (рис.) в период 1–18 апреля 2011 г. Гидротехническое сооружение расположено перпендикулярно берегу и представляет собой сплошную прямоугольную призму из бетона [9]. Его стенки вертикально ориентированы, имеют шероховатую поверхность без крупных трещин. Наибольшая глубина моря у ГТС составляет 2,5 м.

За период съёмки были отмечены два штормовых события – 8–10 и 15–17 апреля. В эти дни по данным стандартных наблюдений на близлежащей морской береговой станции Росгидромета (МГ Херсонесский маяк) высота волн достигала 2,0–2,5 м и сопровождалась ветром со средней скоростью 8–10 м/с и порывами 14–17 м/с. Преобладающими направлениями распространения волн были юг и юго-запад. В отдельных случаях были зафиксированы волны высотой 1,5–2,0 м, перемещавшиеся по наиболее волноопасным для данного ГТС направлениям – запад и северо-запад. Для этого региона волны такой градации высот не являются редкостью в отличие от других участков Крымского побережья [10]. С 1954 по 2017 гг. их повторяемость составила 8,6%, при этом чуть менее трети из них приходилось на западное и северо-западное направления.

Отбор проб проводили с боковой грани буны скребком с площадью захвата 0,1 м<sup>2</sup>. Станции отбора проб находились на разном расстоянии от берега (корневой, центральный, мористый участки ГТС) и от поверхности воды (верхний горизонт высотой от 0 до 0,5 м, нижний – от 0,5 до 1 м). Каждый горизонт делили на 21 площадку. Участки включали по 7 площадок с каждого горизонта (рис.).

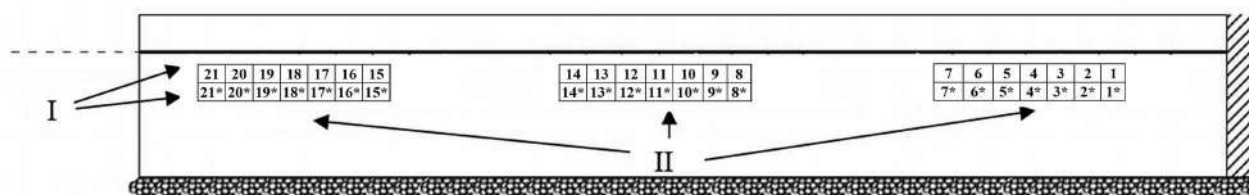
В работе применена отечественная классификация отделов Chlorophyta (Ch), Ochrophyta (Och) и Rhodophyta (Rh) [11, 12] с учётом



(a)



(b)



(c)

**Рис.** Район и объект исследования: (a) участок бухты Круглая с буной и направление распространения волн; (b) вид ГТС (буна), (c) схема расположения станций отбора проб, где I – горизонты 0–0,5 м и 0,5–1,0 м; II – участки ГТС; 1–21, 1\*–21\* – номера станций  
**Fig. 1.** Study area and object of research: (a) area of Kruglaya (“Round”) Bay with spur dike and direction of wave propagation; (b) view of hydraulic structure (spur dike), (c) layout of sample drawing stations: I – 0–0.5 m and 0.5–1.0 m layers, II – sections of hydraulic structure, 1–21, 1\*–21\* – numbers of the stations

номенклатурных изменений [13]. При анализе структуры альгообрастания применяли коэффициенты общности видов Жаккара ( $K_j$ , %) и их встречаемости ( $R_j$ , %), индекс Шеннона ( $H$ ) [14, 15]. Для оценки таксономической структуры определяли флористические спектры и «пропорции флоры» [16, 17]. По сырой фитомассе видов выделяли малозначимые и второстепенные виды, доминанты и содоминанты [15]. На основе данных о встречаемости виды распределяли по группам постоянства [15]. При экологическом анализе учитывали классификацию водорослей А.А. Калугиной-Гутник [12].

Для описания изменчивости характеристик определяли их среднее значение и доверительный интервал, а по коэффициенту вариации ( $C_v$ , %) и на основе шкалы Г.Н. Зайцева оценивали тип изменчивости признаков [18].

### Результаты и обсуждение

**Общая характеристика альгофлоры обрастания после шторма.** Альгофлора после шторма была представлена 38 видами макроводорослей 23 родов, 15 семейств, 14 порядков отделов, соотносящихся друг с другом как 2Ch : 1Och : 3Rh. Общая пропорция таксонов выглядела как 1 порядок : 1 семейство :

2 рода : 3 вида. В таблице 1 представлены данные о ведущих надвидовых таксонах и их ранговых местах. Первое место занято тремя таксонами, два из которых относятся к Rh.

Обрастание включало виды 12 экологических групп из 13 известных для черноморского фитобентоса [12]. Половина их и более относилась к морским, ведущим, однолетним водорослям. В сапробной части синхронно доминировали олиго- и мезосапробионты. Ch был представлен всеми группами, среди Och не было редких и однолетних видов, среди Rh – солоноватоводных.

Большинство видов до и после шторма одновременно встречались в обрастании обоих горизонтов и только четверть проявляли избирательность. Случайные виды были более характерны для верхнего горизонта, на нижнем же они синхронно доминировали с добавочными. Добавочных и случайных видов было много в корневой части, исключительно случайных – в центральной, всех категорий и в равной мере – в мористой.

Сравнение с результатами съёмки до шторма не выявило существенных изменений альгообрастания. Общий таксономический состав, ключевые экогруппы, тенденции пространственных вариаций ряда показателей сохраняются, демонстрируя устойчивость



обрастания к действию волн высотой менее 2 м. Результаты таксономического анализа свидетельствуют об однородности обрастания ГТС на разных горизонтах и незначительном нарушении её на участках, находящихся на разном расстоянии от берега.

Тем не менее, полученные данные позволяют установить влияние шторма на состав и фитомассу обрастания на горизонтах и разных участках ГТС.

**Изменения альгофлоры обрастания на горизонтах.** После шторма обрастание верхнего горизонта состояло из 33 видов водорослей. По видовому разнообразию и вкладу в структуру ценоза отделы распределялись в порядке: Rh→Ch→Och. Таксономическая пропорция Och была самой упрощённой среди отделов. Высоким числом видов отличались *Ulva*, *Cladophora*, *Ceramium* и соответствующие им надродовые таксоны. Общее число видов на верхнем горизонте и у входящих в него Ch и Rh варьировало в пределах «верхней» нормы, изменчивость же состава Och была выше. Среднее число видов в отделах и его доля в ценозе возрастали в направлении Och → Ch → Rh. Состав обрастания нижнего горизонта во многом напоминал таковой верхнего. Однако здесь была выше видовая насыщенность всех таксонов, четверо больше добавочных видов, меньше постоянных и случайных.

После шторма изменения в большей мере коснулись верхнего горизонта, а среди отделов – Rh. Без изменений или почти без них оставались число видов Ch и Och, общее число видов на нижнем горизонте, средняя встречаемость видов Ch на всех горизонтах. Сходство обрастания ( $K_j$ ) на станциях нижнего горизонта было выше за счёт отсутствия здесь существенных преобразований.

**Изменения альгофлоры обрастания на разных участках ГТС.** В корневой части ГТС обнаружены 33 вида, большинство которых относились к *Ulva*, *Cladophora*, *Ceramium* и соответствующим надродовым таксонам.

Встречаемость видов варьировала широко (7–100%) с максимумом у *Gelidium crinale* (Hare ex Turner) Gaillon. Здесь обитали виды всех групп постоянства, среди которых господствовали добавочная и случайная. Вблизи берега преобладали ведущие, однолетние, морские виды, олиго- и мезосапробионты.

Число видов в центральной части было ниже, чем на других участках. Пропорция отделов здесь и вблизи берега различалась, видовой состав совпадал лишь на 40%. В центральной части Rh был таксономически беднее, хотя его видовой состав напоминал таковой в корневой на 70%. Меньшим оказалось и среднее число видов, но с тем же типом изменчивости. Здесь и у берега преобладали одни и те же экогруппы, но место морской группы занято солоноватоводно-морской.

На мористом участке ГТС обитали 26 видов макроводорослей. Видовая пропорция отделов совпадала с подобной в корневой части, число надвидовых таксонов у Ch на трёх участках было равным. Таксономическая структура Och сохраняла свою упрощённость, у других отделов она была одинаково сложнее. Состав ведущих таксонов и пропорции флоры на всех участках почти совпадали. Обрастание мористой и двух других участков имело 65% общих видов. Отмечено равномерное распределение видов по группам постоянства, наибольшее среднее число видов Ch и Och, преобладание ведущих, однолетних, мезосапробиальных, солоноватоводно-морских, морских видов.

В целом, обрастание всех участков имело сходный таксономический состав, одинаковые пропорции флоры, базовые таксоны и вклад Ch в видовую структуру, низкое видовое разнообразие Och, отмечено совпадение пропорций таксонов и качественная тождественность базовых из них у Rh, доминирование одних и тех же экогрупп.

Данные, полученные до и после шторма, позволили установить ход изменений обрастания на разном удалении от берега. Так,

Таблица 1 / Table 1

Флористический спектр ведущих надвидовых таксонов в альгообрастании гидротехнического сооружения / Floristic spectrum of leading superspecies taxa of algae fouling of hydraulic structure

Роды / Genus				Семейства / Family				Порядки / Order			
название name	N*, ед. units	N, %	ранг rank	название name	N, ед. units	N, %	ранг rank	название name	N, ед. units	N, %	ранг rank
<i>Ulva</i>	4	11	2	Ulvaceae	4	11	3	Ulvales	4	11	3
<i>Cladophora</i>	5	13	1	Cladophoraceae	8	21	2	Cladophorales	8	21	2
<i>Ceramium</i>	4	11	2	Ceramiales	11	29	1	Ceramiales	11	29	1

Примечание: N\* – число видов (единицы и % общего числа идентифицированных видов).  
Note: N\* – number of species (units and % of general number of the species identified).

минимумы большинства параметров таксономической структуры, видового разнообразия приходились на обрастание корневого и центрального участков ГТС, испытывающих наибольшее воздействие штормовой волны. Обычно скорость движения воды при разбивании волны вдвое превосходит скорость без него. В штормовых условиях скорости могут отличаться на порядок (до 25 м/с) [19]. До шторма областью минимумов многих показателей была мористая часть.

После шторма возникают различия базовых экогрупп между отделами и у одного и того же из них, но на разных частях ГТС. Это обеспечивает устойчивость обрастания за счёт «конгенерического гомотаксиса», позволяющего системе реагировать на возмущение путём смены одних функциональных единиц другими, сохраняя при этом свою стабильность [20].

**Изменения в пространственном распределении фитомассы.** Средняя фитомасса обрастания верхнего горизонта составляла

$393 \pm 118$  г/м<sup>2</sup>. Её основная часть приходилась на долю Rh (табл. 2). Вклад других отделов был мал, вариабельность их фитомассы являлась очень высокой. Главным продуцентом на верхнем горизонте был *G. crinale*, второе место занимал *Ceramium secundatum* Lyngb. Здесь отсутствовали абсолютные доминанты и содоминировали *Ceramium virgatum* Roth и *Cystoseira crinita* Duby.

Негативность шторма чаще проявлялась в снижении фитомассы (потери чуть более 60%), особенно на верхнем горизонте, испытывающем основную нагрузку при разбивании волн. Шторм изменил локацию крайних значений абсолютной и относительной фитомассы, усилил её изменчивость. Величина индекса Н (2,3–2,6) вблизи берега и на обоих горизонтах указывала на послештормовую неоднородность обрастания. При этом *G. crinale* не утрачивает роль организующего элемента сообщества и сохраняет уровень вклада в продукцию. Его содоминантами остаются *C. virga-*

Таблица 2 / Table 2

Фитомасса (В, г/м<sup>2</sup>) и её вариабельность в обрастании после шторма  
Phytomass (В, g/m<sup>2</sup>) and its variability in fouling after storm

Показатель Parameter	Горизонты / Horizon		Участки / Section		
	верхний upper	нижний lower	корневой root	центральный central	мористый offshore
Chlorophyta					
Общая средняя В/доля (%) Total mean В/fraction (%)	6,0±5/1,5	9,5±7/5,2	2,9±1,7/1,1	12,3±12,1/4,8	7,8±4,9
C <sub>v</sub> общей В C <sub>v</sub> of total В	211	176	112	187	120
Ochrophyta					
Общая средняя В/доля (%) Total mean В/ fraction (%)	31,1±56/7,9	25,0±2,4/13,7	76,9±84,5/29,6	1,5±1,5/0,6	4,4±1,9
C <sub>v</sub> общей В C <sub>v</sub> of total В	415	205	210	196	83
Rhodophyta					
Общая средняя В/доля (%) Total mean В/fraction (%)	356,0±112/90,6	147,5±72/81,1	180,3±87/69,3/	243,0±139,6/94,6	430,5±116,1/97
C <sub>v</sub> общей В C <sub>v</sub> of total В	74	113	92	110	52
Фитоценоз (Phytocenosis)					
Общая средняя В/C <sub>v</sub> Total mean В/C <sub>v</sub>	393,1±118/71	182,0±79/89	260,1 ± 120/89	256,8±144/107	442,7±117/50

*tum*, *C. secundatum* и *C. crinita*. После шторма возрастают доля второстепенных видов (до 12%) и разнообразие доминантов. На нижнем горизонте доля субдоминантов уменьшается, а доминантов увеличивается.

### Заключение

Экспериментально показано, что весенний шторм не приводит к радикальным перестройкам альгообрастания берегового ГТС. Уровень некоторых показателей после шторма остаётся прежним или увеличивается. Разрушение одних комплексов взаимосвязанных видов замещается появлением других, при этом организующим элементом остаётся один и тот же вид (*G. crinale*). Как правило, сохраняются таксономический состав, пропорции флоры, базовые таксоны и экогруппы, а также тенденции пространственных изменений ряда показателей. Наиболее «уязвимыми» в условиях шторма оказываются водоросли верхнего горизонта, центральной и корневой частей ГТС, среди показателей – фитомасса. Часть установленных фактов служит иллюстрацией естественного адаптивного отклика обрастания на не самый сильный шторм. Очевидно, что это действие будет наиболее ярко проявляться в условиях конкретного шторма, что требует дополнительных гидробиологических исследований. Пополнение базовых данных позволит в дальнейшем обеспечить требование современного подхода к изучению экологии сообществ, предполагающего интеграцию и совместную обработку больших массивов наблюдений [21].

*Работа выполнена в рамках госзадания ФИЦ «ИнБИОМ им. А.О. Ковалевского РАН» № АААА-А18-118021350003-6, а также при поддержке РФФИ и г. Севастополь в рамках проекта № 18-45-920072.*

### Литература

1. Николаевский М.Ю., Горгуца Р.Ю., Субботин М.В. Экологическая оценка морских внешних оградительных сооружений // Гидротехника XXI век. 2012. № 2 (9). С. 34–39.
2. Левенец И.Р., Гордеева З.В. Состав макроводорослей обрастания причалов и судов в северо-западной части Японского и южной части Охотского моря // Вестник КрасГАУ. 2017. № 41. С. 197–202.
3. Капков В.И., Шошина Е.В., Беленикина О.А. Биоремедиация морских прибрежных экосистем: использование искусственных рифов // Вестник МГТУ. 2016. Т. 19. № 1/2. С. 286–295.

4. García-Gómez J.C., Guerra-García J.M., Espinosa F., Maestre M.J., Rivera-Ingraham G., Fa D., González A.R., Ruiz-Tabares A., López-Fé C.M. Artificial marine micro-reserves networks (AMMRNs): an innovative approach to conserve marine littoral biodiversity and protect endangered species // J. Mar. Ecol. 2015. V. 36. P. 259–277.
5. Drakard V.F., Lanfranco S., Schembri P.J. Macroalgal fouling communities as indicators of environmental change: potential applications for water quality monitoring // J. Mar. Biol. Assoc. UK. 2018. V. 98 (7). P. 1581–1588.
6. Evstigneeva I.K., Tankovskaya I.N. Structure and dynamics of macrophyte fouling of a hydraulic structure (Black Sea) // Power Technology and Engineering. 2019. V. 53 (1). P. 14–22.
7. Полонский А.Б., Гринцов В.А. Влияние шторма на структуру зооценоза, видовой состав и численность беспозвоночных у юго-западного побережья Крыма // Доповіді Національної академії наук України. 2013. № 8. С. 168–175.
8. Евстигнеева И.К., Танковская И.Н., Евстигнеев В.П. Альгоценозы обрастания искусственных рифов в условиях штормовой деятельности (Крым, Чёрное море) // Факторы устойчивости растений в экстремальных природных условиях и техногенной среде: Матер. Всерос. научн. конф. Иркутск: СИФИБР СО РАН, 2013. С. 315–318.
9. Проектирование морских берегозащитных сооружений: СП 32-103-97. М.: Корпорация «Трансстрой», 1998. 141 с.
10. Евстигнеев В.П., Наумова В.А., Воскресенская Е.Н., Евстигнеев М.П., Любарев Е.П. Ветроволновые условия прибрежной зоны Азово-Черноморского региона. Севастополь: ИПТС, 2017. 320 с.
11. Зинова А.Д. Определитель зелёных, бурых и красных водорослей южных морей СССР. М.–Л.: Изд-во «Наука», 1967. 397 с.
12. Калугина-Гутник А.А. Фитобентос Чёрного моря. Киев: Наукова думка, 1975. 248 с.
13. Guiry M.D., Guiry G.M. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway [Электронный ресурс] <http://www.algaebase.org> (Дата обращения: 21.11.2018).
14. Wilhm J.L. Use of biomass units in shannon's formula // Ecology. 1968. V. 49. No. 1. P. 153–156.
15. Розенберг Г.С. Количественные методы экологии и гидробиологии // Сб. научн. трудов, посвящ. памяти А.И. Баканова. Тольятти: СамНИЦ РАН, 2005. 404 с.
16. Толмачёв А.И. Методы сравнительной флористики и проблемы флорогенеза. Новосибирск: изд-во «Наука», Сибирское отделение, 1986. 192 с.
17. Шмидт В.М. Статистические методы в сравнительной флористике. Л.: Изд-во ЛГУ, 1980. 176 с.
18. Зайцев Г.Н. Математика в экспериментальной ботанике. М.: Наука. 1990. 296 с.
19. Denny M., Gaylord B. The mechanics of wave-swept algae // J. Exper. Biol. 2002. V. 205. P. 1355–1362.

20. Уиттекер Р. Сообщества и экосистемы. М.: Прогресс, 1980. 227 с.

21. Шитиков В.К., Зинченко Т.Д. Многомерный статистический анализ экологических сообществ (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2019. № 1. С. 5–11.

### References

1. Nikolaevskiy M.Y., Gorgutsa R.Y., Subbotin M.V. Ecological assessment of the sea external protection structures // *Gidrotehnika XXI vek.* 2012. No. 2 (9). P. 34–39 (in Russian).

2. Levenets I.R., Gordeeva Z.V. The composition of macroalgae fouling of quays and vessels in the north-west part of the Sea of Japan and the southern part of the Sea of Okhotsk // *Vestnik KrasSAU.* 2017. No. 11. P. 197–202 (in Russian).

3. Kapkov V.I., Shoshina E.V., Belenikina O.A. Bioremediation of the marine coastal ecosystems: application of the artificial reefs // *Vestnik MSTU.* 2016. V. 19. No. 1/2. P. 286–295 (in Russian).

4. García-Gómez J.C., Guerra-García J.M., Espinosa F., Maestre M.J., Rivera-Ingraham G., Fa D., González A.R., Ruiz-Tabares A., López-Fé C.M. Artificial marine micro-reserves networks (AMMRNs): an innovative approach to conserve marine littoral biodiversity and protect endangered species // *J. Mar. Ecol.* 2015. V. 36. P. 259–277. doi: 10.1111/maec.12167

5. Drakard V.F., Lanfranco S., Schembri P.J. Macroalgal fouling communities as indicators of environmental change: potential applications for water quality monitoring // *J. Mar. Biol. Assoc. UK.* 2018. V. 98 (7). P. 1581–1588. doi: 10.1017/S0025315417001102

6. Evstigneeva I.K., Tankovskaya I.N. Structure and dynamics of macrophyte fouling of a hydraulic structure (Black Sea) // *Power Technology and Engineering.* 2019. V. 53 (1). P. 14–22. doi: 10.1007/s10749-019-01027-7

7. Polonskiy A.B., Grintsov V.A. Storm impact on the zoocenosis structure, species composition, and number of invertebrates on the south-west coast of Crimea // *Dopovidi Natsionalnoi akademii nauk Ukraini.* 2013. No. 8. P. 168–175 (in Russian).

8. Evstigneeva I.K., Tankovskaya I.N., Evstigneev V.P. Allogeneses of artificial reefs fouling under the conditions of storm (Crimea, the Black Sea) // *The factors of plants resistance under extreme natural conditions and technogenic environment: All-Russian scientific conference proceedings.* Irkutsk: SIPPB SB RAS, 2013. P. 315–331 (in Russian).

9. Engineering sea defence works: SP 32-103-97. Moskva: Korporatsiya “Transstroy”, 1998. 141 p. (in Russian).

10. Evstigneev V.P., Naumova V.A., Voskresenskaya E.N., Evstigneev M.P., Lyubarets E.P. Wind and wave conditions of the coastal zone of the Azov-Black Sea region. Sevastopol: IPTS, 2017. 320 p. (in Russian).

11. Zinova A.D. Detector of green, brown and red algae of the southern seas of the USSR. Moskva: Nauka, 1967. 397 p. (in Russian).

12. Kalugina-Gutnik A.A. Phytobentos of the Black Sea. Kiev: Naukova dumka, 1975. 248 p. (in Russian).

13. Guiry M.D., Guiry G.M. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway [Internet resource] <http://www.algaebase.org> (Accessed: 21.11.2018).

14. Wilhm J.L. Use of biomass units in shannon’s formula // *Ecology.* 1968. V. 49. No. 1. P. 153–156. doi: 10.2307/1933573

15. Rozenberg G.S. Quantative methods in Ecology and Hydrobiology // *Sbornik nauchnyh trudov, posvyaschennyh pamyati A.I. Bakanova.* Tolyatti: SamSC RAS, 2005. 404 p. (in Russian).

16. Tolmachev A.I. Methods of comparative floristics and problems of florogenesis. Novosibirsk: Nauka, Sibirskoe otdelenie, 1986. 192 p. (in Russian).

17. Shmidt V.M. Statistical methods in comparative floristics. Leningrad: Izdatelstvo LGU, 1980. 176 p. (in Russian).

18. Zaytsev G.N. Mathematics in experimental botany. Moskva: Nauka, 1990. 296 p. (in Russian).

19. Denny M., Gaylord B. The mechanics of wave-swept algae // *J. Exper. Biol.* 2002. V. 205. P. 1355–1362.

20. Witteker R. Communities and ecosystems. Moskva: Progress, 1980. 227 p. (in Russian).

21. Shitikov V.K., Zinchenko T.D. Multivariate statistical analysis of ecological communities (review) // *Theoretical and Applied Ecology.* 2019. No. 1. P. 5–11 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-1-005-011

## Исследование и экологическая оценка сложного компоста

© 2020. Л. В. Бойцова<sup>1</sup>, к. б. н., с. н. с.,

К. Г. Моисеев<sup>1</sup>, к. с.-х. н., в. н. с., зав. лабораторией,

В. Н. Пищик<sup>1,2</sup>, к. б. н., с. н. с., Е. Г. Зинчук<sup>1</sup>, н. с.,

Ю. В. Хомяков<sup>1</sup>, к. б. н., в. н. с., зав. лабораторией,

<sup>1</sup>Агрофизический научно-исследовательский институт,

195220, Россия, г. Санкт-Петербург, Гражданский просп., д. 14,

<sup>2</sup>ФГБНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии,

196608, Россия, г. Санкт-Петербург, Пушкин-8, шоссе Подбельского, д. 3,

e-mail: larisa30.05@mail.ru

Представлены результаты комплексной оценки качества и безопасности сложного компоста на основе листового опада и почвогрунта. Листовой опад компостировался отдельно (сложный компост), а также с добавлением почвообразующей породы – супеси, торфа и песка (почвогрунт). В качестве контроля отобрана нативная почва (урбанозём). Контроль токсичности грунтов осуществляли химическими и биологическими (биоиндикации и биотестирования) методами. Установлено увеличение количества представителей отрядов *Julida* sp. и *Geophilomorpha* в сложном компосте, по сравнению с нативной почвой. Отмечено уменьшение числа особей *Armadillidium vulgare* в сложном компосте, по сравнению с нативной почвой, что является признаком неблагоприятного химического и физического состояния компоста. В качестве тест-объектов выбраны растения: огурцы (*Cucumis sativus*), томаты (*Solanum lycopersicum*), редис (*Raphanus sativus*), кресс-салат (*Lepidium sativum*). На листьях огурца наблюдался хлороз, что может быть вызвано значением pH почвогрунта, переизбытком в нём меди и цинка. Выявлены возбудители фитоспороза (оомицет – *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) и ризоктиниоза (*Rhizoctonia solani* (J.G. Kühn)) томатов. Фитотест показал ингибирование прорастания семян редиса и кресс-салата в исследуемых субстратах.

Содержание гумуса во всех изученных объектах относится к высокому уровню, однако, обогащённость гумуса азотом низкая. Концентрация кадмия в исследованных субстратах превышает ОДК в 7–10 раз, меди и свинца в 2–4 раза. Ртуть в данных субстратах не обнаружена. Изученный сложный компост не рекомендуется использовать для выращивания овощных культур без проведения мероприятий по уменьшению общей токсичности. Компост и почвогрунт могут быть использованы в качестве субстрата для газона и выращивания декоративных культур.

**Ключевые слова:** токсичность, сложный компост, почвогрунт, биоиндикация, биотестирование.

## Research and environmental assessment of complex yard compost

© 2020. L. V. Boitsova<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-7852-3918<sup>1</sup> К. G. Moiseev<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-3068-0372<sup>1</sup>

V. N. Pishchik<sup>1,2</sup> ORCID: 0000-0001-6422-4837<sup>1,2</sup> E. G. Zinchuk<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-9208-3306<sup>1</sup>

Yu. V. Khomyakov<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-9149-3247<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Agrophysical Research Institute,

14, Grazhdansky Prospekt, St. Petersburg, Russia, 195220,

<sup>2</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology,

3, Podbelsky Shosse, Saint-Petersburg-Pushkin, Russia, 196608,

e-mail: larisa30.05@mail.ru

The problem of environmentally safe disposal of a large amount of leaf litter generated every year in urban parks and squares is relevant. In this regard, the toxicity of complex yard compost on the basis of leaf litter, as well as ground with addition of yard compost, is assessed. In this paper, three types of substrates were studied: complex yard compost, soil-ground and native soil. Yard compost by 50% consisted of leaf litter. The soil-ground consisted of 40% of composting products of yard compost, 25% of soil-forming rock (sandy loam), 20% of greenhouse recoil including peat, 15% of building sand. The native soil (urban soil) was studied as a control. Soil toxicity control was carried out by chemical and biological methods (a bioindication, and a bioassay). The species diversity and abundance of the mesofauna in the studied substrates was studied. An increase in the number of representatives of *Julida* sp. and *Geophilomorpha* in complex compost, compared with native soil was found. The abundance of *Eisenia fetida* in the compost was 40 pieces per m<sup>2</sup>; in native soil this species was not found. The number of *Eiseniella tetraedra* is not large and amounted to 7–12 pieces per m<sup>2</sup> in compost, but exceeded their number in native soil by 3–4 times. *Cucumis sativus*, *Solanum lycopersicum*,

*Raphanus sativus*, *Lepidium sativum* were selected as test objects. A phytotest was performed on seed germination of *Raphanus sativus* and *Lepidium sativum*. The species diversity of pathogenic fungi has been analyzed. The inhibition of seed germination in the studied substrates was noted. Chemical analysis showed that the concentration of Cd in the studied substrates exceeds the permissible concentration approximately by 7–10 times, Cu and Pb by 2–4 times. Hg was not found in these substrates. The studied complex compost is not recommended to grow vegetables without taking measures to reduce the overall toxicity. Compost and soil-ground on its basis can be used as a substrate for lawn and cultivation of ornamental crops.

**Keywords:** toxicity, complex compost, soil, bioindication, bioassay.

Проблема экологически безопасной утилизации большого количества листового опада является актуальной в парках и скверах городов. Листовой опад включает в себя небольшое количество твёрдых отходов бытового и строительного происхождения [1]. Для утилизации листового опада используют метод анаэробного компостирования. Компост по своим полезным свойствам несколько не уступает навозу, а иногда и превосходит его [2]. Однако сложный компост может содержать высокотоксичные органические соединения, например, оксид этилена, инсектицид хлордан [3, 4], являться фитотоксичным [5], всегда содержит тяжёлые металлы (ТМ) в высоких концентрациях [6, 7]. Необходимо контролировать содержание ТМ в сложном компосте, который в дальнейшем планируется использовать в сельском хозяйстве. Химический анализ позволяет количественно оценить валовое содержание ТМ по нормам ориентировочно допустимых концентраций (ОДК). По ГОСТ 17.4.1.02–8 к сильно опасным токсикантам относятся As, Cd, Hg, Se, Pb, Zn, к умеренно опасным – Co, Ni, Mo, Cu, Sb, Cr. Степень загрязнения почв ТМ (в данной работе кобальт и хром), для которых не разработаны ОДК, оценивают по эмпирической зависимости:  $ОДК = (3-5) \times \text{фон}$ . Однако, фитотоксичность ТМ определяется не только их концентрацией в субстрате, она является интегральным показателем результата влияния физических и физико-химических параметров среды [8, 9]. В частности, высокая плотность сложения компоста усиливает эффект отравления растений оксидом этилена на фоне высокого содержания ТМ [10].

Внесение компоста в почву при сельскохозяйственном использовании увеличивает численность особей некоторых видов мезофауны, появляются новые виды, а нативные виды мезофауны исчезают, меняются трофические цепочки. Видовой состав и количественные изменения мезофауны является индикатором экологического состояния сложных компостов и почв [11].

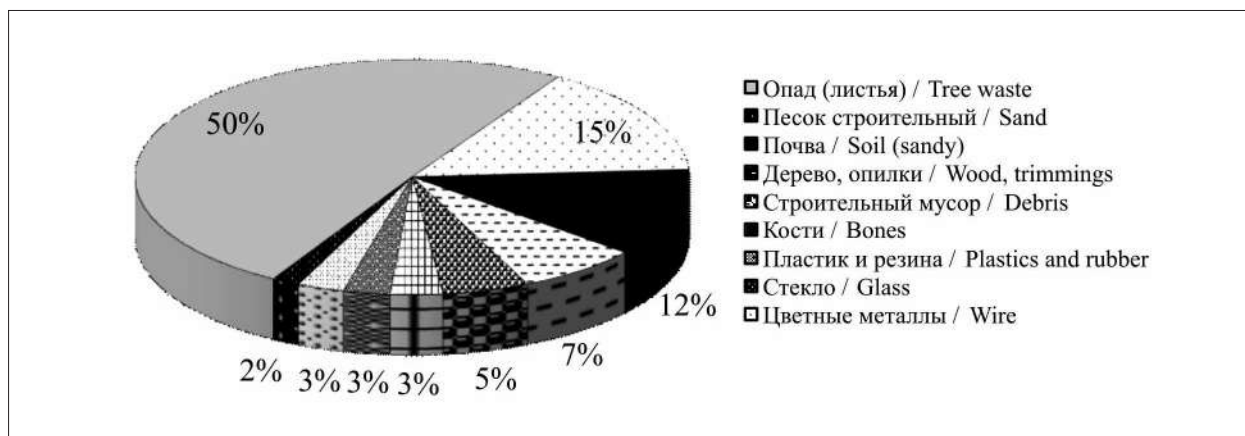
Цель исследования состояла в определении токсичности и фитотоксичности сложного компоста и почвогрунта на его основе.

### Объекты и методы

На территории Агрофизического института (г. Санкт-Петербург) находится сквер, типичный для городской черты. Древесная растительность сквера представлена в основном клёном остролистным (*Acer platanoides*), имеются незначительные посадки тополя белого и чёрного (*Populus alba*, *Populus nigra*), дуба черешчатого (*Quercus robur*), декоративных кустарников, ели голубой (*Picea pungens*). Травянистая растительность состоит из злаковых (Gramineae) газонных трав. Листовой опад, собранный с площади сквера, использовали в качестве основы для получения сложного компоста. Состав сложного компоста (СК) на основе листового опада и почвогрунта (ПГ) на его основе представлен на рисунке. Листовой опад компостировался отдельно и совместно с почвообразующей породой (водноледниковая супесь) по технологии низкого уровня [12]. В результате компостирования получили ПГ, который включал в себя 40% продуктов компостирования СК, 25% почвообразующей породы, 20% грунт, используемый в теплице на основе торфа, 15% строительного песка. Отбор проб СК, ПГ и нативной почвы (НП) (в качестве фона) проведён методом конверта по ГОСТ 17.4.4.02-84, в пятикратной повторности. Концентрация соединений ТМ определялась методом атомно-абсорбционной спектроскопии по ГОСТ 22001-87.

Определение общего органического углерода ( $C_{total}$ ) осуществлялось методом Тюрина, общего азота ( $N_{total}$ ) методом Кьельдаля, нитратного азота при помощи ионоселективных электродов [13]. Проведены фенологические наблюдения за развитием индикаторных организмов. В работе использовали прямую биоиндикацию (учёт количества особей одного вида).

Определение токсичности СК и ПГ проводилось также методами фитотестирования.



**Рис.** Состав сложного компоста  
**Fig.** The composition of the composite compost

В качестве тест-объектов выбраны растения: огурцы (*Cucumis sativus*), томаты (*Solanum lycopersicum*), редис (*Raphanus sativus*), кресс-салат (*Lepidium sativum*). Огурцы являются общепринятыми индикаторными растениями [14], реагирующими на тот или иной загрязнитель хлорозом листьев. Томаты в качестве индикаторных растений выбраны из-за их реакции на присутствие фитопатогенных грибов, вызывающих такие заболевания, как корневые гнили, фитоспороз, фузариоз [15]. Микробиологическое сообщество оценивали высевом на диагностические среды методом ИМС (инициированного микробного сообщества) [16].

Количество осадков за период апрель – сентябрь 2016 г. составило 570 мм, среднемесячная температура летнего периода – 17,5 °С.

### Результаты и обсуждение

В таблице 1 приведена численность отдельных представителей мезофауны на 1 м<sup>2</sup> площади в исследуемых объектах.

Сложный компост (СК) и его смеси являются кормовой базой и благоприятной средой обитания для представителей отрядов *Julida* sp. и *Geophilomorpha*, об этом говорит, в среднем, шестикратное превышение их численности, по сравнению с нативной почвой (табл. 1). Численность *Eisenia fetida*, выпущенных в компост в начале сезона, при нормальных условиях, через месяц, должна составлять 120–160 особей на 1 м<sup>2</sup> [17]. В исследуемом СК их количество в 3–4 раза меньше, численность *Eiseniella tetraedra* также не велика. Вероятными причинами этого являются: избыточное засоление

**Таблица 1 / Table 1**  
Содержание в компосте и контроле почвенной фауны (экз./м<sup>2</sup>)  
Content in compost and control of soil fauna (ex./m<sup>2</sup>)

Почвенная мезофауна (экз./м <sup>2</sup> ) Soil mesofauna (ex./m <sup>2</sup> )		Сложный компост Complex compost	Контроль Control	
Arthropoda	<i>Lithobius forficatus</i>	5–6	1	
	<i>Julida</i> sp.	24–36	4–5	
	<i>Geophilomorpha</i>	4–5	1	
	<i>Armadillidium vulgare</i>	1	7–10	
Mollusca	<i>Helix aspersa</i>	25	7–10	
Annelida	подстилочные bedding worms	<i>Eiseniella tetraedra</i>	7–12	2–3
		<i>Eisenia fetida</i>	40	0
	почвенные soil worms	<i>Lumbricus terrestris</i> Lin	3	2
	энхитреиды Enchytraeidae	<i>Enchytraeus albidus</i>	34	0

Примечание: \* контроль – участок 18 м<sup>2</sup> под деревьями.  
Note: \* a control – a plot of 18 m<sup>2</sup> under the trees.

компоста гололёдными реагентами, сильное загрязнение ТМ, активность представителей отряда *Geophilomorpha*, уничтожающих молодых червей.

Представители ракообразных – *Armadillidium vulgare* практически отсутствуют в СК и, напротив, в большом количестве живут на контрольном участке. Мокрицы, как все раки, чувствительны к незначительному загрязнению среды обитания. Поэтому превышение численности мокриц в НП в 7 раз, по сравнению с СК, является показателем неблагоприятного химического, а возможно, и физического состояния компоста.

Среди микромицетов доминировали – *Penicillium aurantiogriseum* (Dierckx) и *Aspergillus ustus* (Bainier, Thom), среди бактерий доминировали *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp. и *Sarcina* sp.

Качество компостов оценивают, используя значения рН, содержание органического вещества и нитратного азота, отношение С/Н. Оптимальными для компостируемых органических отходов являются: рН = 5,0–8,0 ед., содержание органического вещества не менее 40–60%, отношение С/Н – 20–40 [18]. Высокие значения рН городских почв, в данном случае НП (табл. 2), по сравнению с естественными, связывают с приносом водными и ветровыми потоками гололёдных реагентов – хлоридов кальция и натрия. Причиной высокой щёлочности почв может являться высвобождение кальция под действием кислотных осадков из известковых материалов, которые используют в городском хозяйстве [19]. Более низкие значения кислотности у СК и ПГ можно объяснить меньшим временем и объёмом воздействия на них реагентов антропогенного происхождения, способствующих увеличению значений рН.

Содержание гумуса во всех изученных субстратах относится к высокому уровню, од-

нако, обогащённость гумуса азотом относится к низкому уровню [20]. Высокое значение С/Н, вероятно, связано с накоплением неспецифических органических загрязнителей в составе органического вещества почвы, низкое  $N_{total}$  в компосте при высоком содержании  $C_{total}$  можно объяснить недостатком растительных остатков с узким отношением С/Н [21]. Известно, что при отношении С/Н больше 20, бактерии, разлагающие компост, усиленно потребляют азот, а высшие растения испытывают его недостаток, что визуальнo проявляется в хлорозе листьев [22]. Содержание нитратного азота в НП очень низкое (табл. 2), в СК высокое, здесь не требуется дополнительного внесения минерального азота, в ПГ превышает ПДК в 2 с лишним раза.

Концентрация цинка в СК превышает ОДК в 16 раз, в контроле в четыре раза (табл. 3). Концентрация кадмия в исследованных субстратах превышает ОДК в 7–10 раз, меди и свинца в 2–4 раза, причём концентрация меди выше в СК, а свинца в НП, что говорит о загрязнении почв города свинцом из других источников. Содержание никеля и мышьяка в исследованных субстратах превышает ОДК незначительно, загрязнение ртутью и хромом полностью отсутствует. В субстратах, содержащих органические вещества или гумус, урон, наносимый среде ТМ, меньше, чем в водной среде или воздухе. Например, свинец в почве практически полностью связывается, образуя органоминеральные комплексы [23].

Растения огурца подверглись хлорозу, происходило скручивание листьев и их гибель. В данном случае основными причинами возникновения неинфекционного хлороза листьев огурца может быть высокое значение рН почвогрунта, переизбыток в нём меди и цинка (табл. 2, 3). Томаты в начале июля подверглись поражению грибковыми заболеваниями,

Таблица 2 / Table 2

Химические параметры сложного компоста, почвогрунта и нативной почвы  
Chemical parameters of complex compost, soil and native soil

Параметр Parameter	Компост Compost	Почвогрунт Soil	Нативная почва Native soil
$N_{total}$ , %	0,66	0,46	0,21
$N-NO_3$ , мг/кг / mg/kg	91,2	278,0	2,8
$C_{total}$ , %	26,0	8,8	6,0
Гумус / Humus, %	44,8	15,3	10,3
С/Н	39,5	19,3	28,5
$pH_{H_2O}$	6,60	7,01	7,20
$pH_{KCl}$	6,80	6,60	7,00



Таблица 3 / Table 3

Концентрация тяжёлых металлов (кислоторастворимая форма) в сложном компосте, почвогрунте и контроле, мг/кг / The concentration of heavy metals (acid-soluble form) in complex compost, soil and control, mg/kg

Тяжёлый металл Heavy metal	Компост Complex compost	Почвогрунт Soil	Контроль Control
Cu	69,0	121,6	81,1
Pb	66,8	103,6	124,6
Zn	414,4	885,4	269,4
Cd	3,45	4,82	4,67
Ni	23,4	28,6	26,9
Cr	19,6	29,4	25,0
Co	8,48	11,8	10,5
Ag	0,56	3,13	3,77

в основном фитоспорозом: возбудитель – оомицет *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, и ризоктиниозом: возбудитель – *Rhizoctonia solani* (J.G. Kühn) [24]. Несмотря на обработки фундазолом и бордосской смесью к окончанию месяца наблюдалась их массовая гибель. Фитотестом определено ингибирование прорастания семян редиса на 40% и кресс-салата на 30%, по сравнению с контролем. Токсичными считаются те почвогрунты, которые ингибируют прорастание семян или развитие проростков и корней на 30% и более в сравнении с контролем.

### Выводы

По результатам биоиндикационных тестов и исследований загрязнение компоста ТМ является критичным. Методы биотестирования почв, почвогрунтов и компостов подтверждают результаты химического анализа.

Использование сложного компоста возможно в теплицах после его разбавления нетоксичным грунтом и при принятии дополнительных мер по его обеззараживанию. Почвогрунт также должен быть подвергнут обеззараживанию и только после этого его можно использовать в качестве почвенного слоя под газон.

### Литература

- García-Palacios P., Handa I.T., McKie B.G., Frainer A., Hättenschwiler S. The importance of litter traits and decomposers for litter decomposition: a comparison of aquatic and terrestrial ecosystems within and across biomes // *Functional Ecology*. 2016. V. 30. No. 5. P. 819–829.
- Баширов В.Д., Левин Е.В., Сагитов Р.Ф., Алямов И.Д., Гулак М.З. Современные технологии сепарирования и переработки твёрдых бытовых отходов //

Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2014. № 3. С. 77–80.

- Barral M.T., Paradelo R. A review on the use of phytotoxicity as a compost quality indicator // *Global Science Books. Dynamic Soil, Dynamic Plant*. 2011. No. 5 (Special Issue 2). P. 36–44.
- Strom P.F. Pesticides in yard waste compost // *Compost Science & Utilization*. 2000. V. 8. No. 1. P. 54–60.
- Chatterjee N., Flury M., Hinman C., Cogger C.G. Chemical and physical characteristics of compost leachates. A Review. Washington: Washington State University, 2013. 54 p.
- Mladenov M. Chemical composition of different types of compost // *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*. 2018. V. 53. No. 4. P. 712–716.
- Déportes A., Benoit-Guyod J.-L., Zmirou D. Hazard to man and the environment posed by the use of urban waste compost: a review // *Science of The Total Environment*. 1995. V. 172. No. 2–3. P. 197–222.
- Oleszczuk P. Phytotoxicity of municipal sewage sludge composts related to physico-chemical properties, PAHs and heavy metals // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2008. V. 69. No. 3. P. 496–505.
- Dai L., Ren J., Ling T., Wei B., Wang G. Chemical speciation and phytoavailability of Cr, Ni, Zn and Cu in loess amended with attapulgite-stabilized sewage sludge // *Environmental Pollutants and Bioavailability*. 2019. V. 31. No. 1. P. 112–119.
- Водяницкий Ю.Н. Природные и техногенные соединения тяжёлых металлов в почвах // *Почвоведение*. 2014. № 4. С. 420–432.
- George P.B.L., Keith A.M., Creer S., Barrett G.L., Lebron I., Emmett B.A., Robinson D.A., Jones D.L. Evaluation of mesofauna communities as soil quality indicators in a national level monitoring programme // *Soil Biology & Biochemistry*. 2017. V. 115 P. 537–546.
- Малахов В.М., Гриценко А.Г., Дружинин С.В. Городские отходы в России: состояние, проблемы, пути решения // *Экология. Серия аналитических обзоров мировой литературы*. 2012. № 98. С. 1–126.

13. Растворова О.Г., Андреев Д.П., Гагарина Э.И., Касаткина Г.А., Федорова Н.Н. Химический анализ почв. СПб.: Изд-во СПбГУ, 1995. 264 с.

14. Aparicio J.D., Garcia-Velasco N., Urionabarrenetxea E., Soto Álvarez A., Polti M.A. Evaluation of the effectiveness of a bioremediation process in experimental soils polluted with chromium and lindane // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2019. V. 181. P. 255–263.

15. Compendium of tomato diseases and pests. Second edition / Eds. J.B. Jones, T.A. Zitter, T.M. Momol, S.A. Miller. The American Phytopathological Society, 2014. 140 p.

16. Гузев В.С., Бондаренко Н.Г., Бызов Б.А. Структура инициированного микробного сообщества как интегральный метод оценки микробиологического состояния почв // *Микробиология*. 1980. Т. 49. Вып. 1. С. 134–140.

17. Гришко Ю.В., Моисеев К.Г. Вермикомпост – адаптивное органическое удобрение и его влияние на продуктивность растений картофеля // *Агроэкологические функции органического вещества почв и использование органических удобрений и биоресурсов в ландшафтном земледелии*. М.: Изд-во Россельхозакадемии, 2004. С. 466–471.

18. Неклюдов А.Д., Федотов Г.Н., Иванкин А.Н. Интенсификация процесса компостирования при помощи аэробных микроорганизмов (Обзор) // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2008. Т. 44. № 1. С. 9–23.

19. Diatta J.B., Grzebisz W., Wiatrowska K. Competitivity, selectivity, and heavy metals-induced alkaline cation displacement in soils // *Soil Sci. and Plant Nutr.* 2004. V. 50. No. 6. P. 899–908.

20. Орлов Д.С., Бирюкова О.Н., Розанова М.С. Дополнительные показатели гумусного состояния почв и их генетических горизонтов // *Почвоведение*. 2004. № 8. С. 918–926.

21. Уфимцева М.Д., Терехина Н.В., Абакумов Е.В. Физико-химическая характеристика урбанозёмов Центрального района Санкт-Петербурга // *Вестник СПбГУ. Сер. 7*. 2011. Вып. 4. С. 85–97.

22. Липчак И.Ф., Воронов Ю.В. Охрана окружающей среды. Учебное пособие. М.: Стройиздат, 1988. 191 с.

23. Wiczorek J., Baran A., Urbański K., Mazurek R., Klimowicz-Pawlas A. Assessment of the pollution and ecological risk of lead and cadmium in soils // *Environ Geochem Health*. 2018. V. 40 (6). P. 2325–2342.

24. Рудаков В.О., Рудаков О.Л. Природа почвенных фитотоксикозов и проблема защиты растений // *АГРО XXI*. 2009. № 1–3. С. 14–16.

2. Bashirov V.D., Levin E.V., Sagitov R.F., Alyamov I.D., Gulak M.Z. Modern technologies of separation and processing of solid household waste // *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2014. No. 3. P. 77–80 (in Russian).

3. Barral M.T., Paradelo R. A review on the use of phytotoxicity as a compost quality indicator // *Global Science Books. Dynamic Soil, Dynamic Plant*. 2011. No. 5 (Special Issue 2). P. 36–44.

4. Strom P.F. Pesticides in yard waste compost // *Compost Science & Utilization*. 2000. V. 8. No. 1. P. 54–60. doi: 10.1080/1065657X.2000.10701750

5. Chatterjee N., Flury M., Hinman C., Cogger C.G. Chemical and physical characteristics of compost leachates. A Review. Washington: Washington State University, 2013. 54 p.

6. Mladenov M. Chemical composition of different types of compost // *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*. 2018. V. 53. No. 4. P. 712–716.

7. Déportes A., Benoit-Guyod J-L., Zmirou D. Hazard to man and the environment posed by the use of urban waste compost: a review // *Science of The Total Environment*. 1995. V. 172. No. 2–3. P. 197–222. doi:10.1016/0048-9697(95)04808-1

8. Oleszczuk P. Phytotoxicity of municipal sewage sludge composts related to physico-chemical properties, PAHs and heavy metals // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2008. V. 69. No. 3. P. 496–505. doi: 10.1016/j.ecoenv.2007.0

9. Dai L., Ren J., Ling T., Wei B., Wang G. Chemical speciation and phytoavailability of Cr, Ni, Zn and Cu in loess amended with attapulgite-stabilized sewage sludge // *Environmental Pollutants and Bioavailability*. 2019. V. 31. No. 1. P. 112–119. doi: 10.1080/26395940.2019.1588076

10. Vodyanitskiy Yu.N. Natural and technogenic compounds of heavy metals in soils // *Pochvovedenie*. 2014. No. 4. P. 420–432 (in Russian).

11. George P.B.L., Keith A.M., Creer S., Barrett G.L., Lebron I., Emmett B.A., Robinson D.A., Jones D.L. Evaluation of mesofauna communities as soil quality indicators in a national level monitoring programme // *Soil Biology & Biochemistry*. 2017. V. 115 P. 537–546. doi:10.1016/j.soilbio.2017.09.022

12. Malakhov V.M., Gritsenko A.G., Druzhinin S.V. Municipal waste in Russia: state, problems, solutions // *Ekologiya. Seriya analiticheskikh obzorov mirovoy literatury*. 2012. No. 98. P. 1–126 (in Russian).

13. Rastvorova O.G., Andreev D.P., Gagarina E.I., Kasatkina G.A., Fedorova N.N. Chemical analysis of soil. Sankt-Peterburg: Izdatelstvo Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo universiteta, 1995. 264 p. (in Russian).

14. Aparicio J.D., Garcia-Velasco N., Urionabarrenetxea E., Soto Álvarez A., Polti M.A. Evaluation of the effectiveness of a bioremediation process in experimental soils polluted with chromium and lindane // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2019. V. 181. P. 255–263. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.06.019

## References

1. García-Palacios P., Handa I.T., McKie B.G., Frainer A., Hättenschwiler S. The importance of litter traits and decomposers for litter decomposition: a comparison of aquatic and terrestrial ecosystems within and across biomes // *Functional Ecology*. 2016. V. 30. No. 5. P. 819–829. doi: 10.1111/1365-2435.12589

15. Compendium of tomato diseases and pests. Second edition / Eds. J.B. Jones, T.A. Zitter, T.M. Momol, S.A. Miller. The American Phytopathological Society, 2014. 140 p. doi: 10.1094/9780890544341
16. Guzev V.S., Bondarenko N.G., Byzov B.A. The structure of the initiated microbial community as an integral method for assessing the microbiological state of the soil // *Mikrobiologiya*. 1980. V. 49. No. 1. P. 134–140 (in Russian).
17. Grishko Yu.V., Moiseev K.G. Vermicompost – adaptive organic fertilizer and its impact on the productivity of potato plants // *Agroecological functions of soil organic matter and the use of organic fertilizers and bioresources in landscape farming*. Moskva: Izdatelstvo Rosselkhozakademii, 2004. P. 466–471 (in Russian).
18. Neklyudov A.D., Fedotov G.N., Ivankin A.N. Intensification of the composting process using aerobic microorganisms (Review) // *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2008. V. 44. No. 1. P. 9–23 (in Russian).
19. Diatta J.B., Grzebisz W., Wiatrowska K. Competitiveness, selectivity, and heavy metals-induced alkaline cation displacement in soils // *Soil Sci. and Plant Nutr.* 2004. V. 50. No. 6. P. 899–908.
20. Orlov D.S., Biryukova O.N., Rozanova M.S. Additional indicators of soil humus status and their genetic horizons // *Pochvovedenie*. 2004. No. 8. P. 918–926 (in Russian).
21. Ufimtseva M.D., Terekhina N.V., Abakumov E.V. Physico-chemical characteristics of urban areas of the Central District of St. Petersburg // *Vestnik SPGU*. 2011. Ser. 7. V. 4. P. 85–97 (in Russian).
22. Lipchak I.F., Voronov Yu.V. Environmental protection. Tutorial. Moskva: Stroyizdat, 1988. 191 p. (in Russian).
23. Wiczorek J., Baran A., Urbański K., Mazurek R., Klimowicz-Pawlas A. Assessment of the pollution and ecological risk of lead and cadmium in soils // *Environ Geochem Health*. 2018. V. 40 (6). P. 2325–2342. doi: 10.1007/s10653-018-0100-5
24. Rudakov V.O., Rudakov O.L. The nature of soil phytotoxicosis and the problem of plant protection // *AGRO XXI*. 2009. No. 1–3. P. 14–16 (in Russian).

## Сравнительная оценка методов расчёта адаптивных реакций зерновых культур

© 2020. Л. В. Волкова, к. б. н., зав. лабораторией,  
И. Н. Щенникова, д. с.-х. н., член-корр. РАН, зав. лабораторией,  
Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока  
имени Н. В. Рудницкого,  
610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, д. 166 а,  
e-mail: volkovkirov@mail.ru

Возделывание адаптивных сортов зерновых культур является основным принципом экологически чистого земледелия, позволяя снизить воздействие негативных антропогенных факторов на окружающую среду и обеспечить население экологически безопасной продукцией. В результате многолетнего изучения сортов яровой пшеницы и ячменя в условиях Волго-Вятского региона выявлена степень модификационной (39,2–55,1%) и генотипической (16,4–18,0%) изменчивости урожайности. Сорта ячменя характеризовались более высокой средней урожайностью (3,60–5,50 т/га) и реакцией на условия года (коэффициент вариации 25,2%), чем сорта пшеницы (2,62–3,71 т/га; 19,7%). В целях разработки региональной стратегии селекции на экологическую устойчивость проведена сравнительная оценка нескольких методов расчёта адаптивных реакций. В результате наиболее информативными оказались «показатель уровня и стабильности сорта» (ПУСС), «коэффициент вариации генотипа на среду» ( $V$ , %), «пластичность» ( $b_1$ ), «фенотипическая стабильность» ( $S$ , %). Урожайность ячменя достоверно положительно коррелировала с критериями гомеостатичности, у пшеницы – с показателями пластичности. Системный подход к анализу адаптивных реакций позволил выделить высокоурожайные и экологически устойчивые сорта пшеницы (У-80, Т-79, П-57, Награда) и ячменя (Белгородский 100, 346-09, 52-12).

**Ключевые слова:** яровая пшеница, ячмень, сорт, урожайность, адаптивность, метод оценки.

## Comparative evaluation of methods for calculating adaptive responses of cereals

© 2020. L. V. Volkova ORCID: 0000-0002-0837-8425\*  
I. N. Shchennikova ORCID: 0000-0002-5143-9246\*  
Federal Agricultural Research Center of North-East named N. V. Rudnitsky,  
166 a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,  
e-mail: volkovkirov@mail.ru

The cultivation of adaptive varieties of grain crops is the main principle of organic agriculture, allowing to reduce the impact of negative anthropogenic factors on the environment and provide the population with environmentally friendly products. As a result of many years of study of spring wheat and barley varieties in the Volga-Vyatka region, the degree of modification (39.2–55.1%) and genotypic (16.4–18.0%) yield variability was revealed. Barley varieties were characterized by a higher average yields (3.60–5.50 ton/ha) and a reaction to the conditions of the year (coefficient of variation 25.2%) than wheat cultivars (2.62–3.71 ton/ha; 19.7%). In order to develop a regional strategy of breeding for environmental sustainability, a comparative assessment of several methods of calculating adaptive reactions was carried out. As a result, the most informative were the “indicator of cultivar level and stability” (PUSS), as well as the widely used “genotype variation coefficient on medium” ( $V$ , %), “plasticity” ( $b_1$ ), and “phenotypic stability” ( $S$ , %). Barley yield capacity was significantly positively correlated with homeostasis; high productivity in wheat was associated with increased plasticity. A systematic approach to the analysis of adaptive reactions has highlighted high-yield and environmentally sustainable cultivars of wheat (U-80, T-79, P-57, Nagrada) and barley (Belgorodsky 100, 346-09, 52-12).

**Keywords:** spring wheat, barley, cultivar, yield capacity, adaptability, evaluation method.

Имеющиеся прогнозы изменения климата представляют собой противоречивую картину. Почти полное согласие достигнуто только в вопросе глобального потепления, но сценарии будущего состояния климата и возможной реакции агроэкосистем весьма неопределённые [1, 2]. В этой связи одной из важнейших задач селекции является создание адаптивных, т. е. способных обеспечивать высокую и устойчивую продуктивность в различных условиях среды, сортов [3–6]. Внедрение их в сельскохозяйственное производство позволит стабилизировать урожайность при изменении тепловых, световых, водных ресурсов и плодородия почвы, а также при возможной изменчивости состава вредителей, болезней, сорных растений [7, 8].

Следует различать адаптацию географическую, которая предполагает приспособленность к большему разнообразию эдафических условий, но урожайность при этом лимитирована средними значениями, и сезонную, при которой эдафическая устойчивость может быть достаточно специфичной, но сорта и гибриды, приспособленные к конкретным условиям, могут обеспечивать максимальную потенциальную урожайность [9, 10]. Считают, что особый приоритет должна получить селекция на устойчивость к контрастным погодным условиям с учётом специфической приспособленности сортов к доминирующим стрессовым факторам конкретного региона. Всё это предопределяет особую актуальность разработки региональных селекционных программ экологической направленности [11].

Настоящее исследование ориентировано на изучение сезонной адаптации сортов яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и ячменя (*Hordeum vulgare* L.) в Волго-Вятском регионе в контрастные по гидротермическим условиям годы. Оценка адаптивного потенциала сортов была сделана на основе многолетних данных урожайности по ряду показателей, характеризующих пластичность, стабильность и гомеостатичность. Использование нескольких методов оценки позволило всесторонне изучить сорта и выделить наиболее информативные параметры для использования в рамках экологической селекции зерновых культур в условиях Волго-Вятского региона.

Цель исследований – определить степень изменчивости урожайности районированных и перспективных сортов яровой пшеницы и ячменя, выделить экологически устойчивые сорта, на основе сравнительной оценки методов расчёта адаптивных реакций дать

рекомендации к использованию наиболее объективных параметров.

### Объекты и методы

Исследования проводились в 2017–2019 гг. в ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока (г. Киров) в рамках конкурсного сортоиспытания. В качестве материала для изучения использовали сорта и перспективные номера селекции ФАНЦ Северо-Востока яровой мягкой пшеницы (13 генотипов) и ярового ячменя (17 генотипов). Почва опытного участка типичная для региона (дерново-подзолистая среднесуглинистая), рН = 4,8–5,2 ед.; содержание гумуса – 2,0%, фосфора – 190 мг/кг почвы, калия – 130 мг/кг, азота – 110 мг/кг. Погодные условия в годы проведения исследований существенно различались по температурному режиму и количеству осадков. Вегетационный период 2017 г. характеризовался избыточным увлажнением, 2018 г. – благоприятным сочетанием тепла и влаги, 2019 г. – недостатком эффективных температур и избытком осадков.

Статистическую обработку данных проводили с использованием корреляционного и двухфакторного дисперсионного анализов [12]. Вклад факторов в формирование урожайности определяли по [13]. Отзывчивость сортов на изменение внешних условий среды (коэффициент регрессии –  $b_i$ ) определяли по [14]. Гомеостатичность оценивали по параметрам «гомеостаз» (НОМ), «селекционная ценность сорта» ( $S_c$ ) [15], индекс стабильности (ИС) [16]. Комплексный показатель уровня стабильности сорта (ПУСС) определяли согласно [17]. Фенотипическую стабильность сортов определяли по коэффициенту вариации эквивалентов ( $W_i$ ) [18] и отклонению от линии регрессии ( $S\%$ ) [14]. Коэффициент мультипликативности (КМ) вычисляли по [19].

### Результаты и обсуждение

Количественная оценка многих характеристик адаптивности базируется на статистическом анализе фенотипической изменчивости урожайности и является правомерной только в том случае, когда доказаны значимость влияния экологических условий на проявление признака. Влияние на урожайность факторов «год», «генотип», а также их взаимодействие было достоверным для обеих культур, причём большую часть изменчивости (39,2–55,1%) обуславливали метеорологические условия

вегетационного периода, меньшую – вклад генотипа (16,4–18,0%). Средняя урожайность изучаемого набора сортов пшеницы в разрезе «годы» варьировала в пределах от 2,42 до 3,45 т/га, ячменя – от 3,86 до 5,76 т/га, что характеризует ячмень как культуру, потенциально более урожайную и менее требовательную к условиям произрастания.

Наиболее простым и доступным показателем, позволяющим судить о потенциале онтогенетической адаптации (норме реакции), и при этом обеспечивающим сравнимость результатов у разных видов растений, является коэффициент вариации. Коэффициенты вариации урожайности ( $V$ ), вычисленные для каждого сорта по данным за три года, указывают на фенотипическую изменчивость признака, обусловленную экологическими факторами. Как один из методов оценки адаптивных реакций, коэффициент вариации обладает как положительными (независимая оценка каждого генотипа), так и отрицательными (не обеспечивает информацией о характере ответа на среду) сторонами. В целом изучаемые номера ячменя характеризовались более выраженной реакцией на условия года, чем пшеницы. Согласно шкалы [12], сорта разделены на группы со средней ( $V = 10–20\%$ ) и значительной ( $V > 20\%$ ) изменчивостью, выделены сорта с наименьшей вариабельностью урожая (табл.).

Коэффициент вариации использовали также для определения межсортовой вариабельности ( $V_c$ ) изучаемых параметров адаптивности яровой пшеницы и ячменя. Чем шире размах значений в данном наборе сортов, тем выше дифференцирующая способность метода и тем точнее отбор нужных генотипов.

У яровой пшеницы показатель  $V_c$  урожайности в анализируемые годы находился в пределах 8,2–16,3%, при этом наблюдалась тенденция его увеличения с возрастанием общего уровня урожайности (коэффициент детерминации  $r^2 = 0,79$ ), т. е. генотипические различия сильнее проявлялись в лучших условиях выращивания. У ячменя значение  $V_c$  изменялось от 10,5 до 19,1%, но связи со средним уровнем урожайности не выявлено ( $r^2 = 0,18$ ). Максимальную среднюю урожайность за 2017–2019 гг. с достоверным превышением над стандартом формировали селекционные номера пшеницы У-80, ячменя – 346-09. В наших исследованиях отмечена достаточно сильная амплитуда изменчивости коэффициента вариации урожайности, следовательно, его высокая информативность.

Уровень изменчивости или модифицируемости признака, позволяющий генотипу приспособляться к разным условиям среды, принято называть пластичностью. При оценке пластичности широкое распространение получил метод [14], разделяющий взаимодействие «генотип–среда» на две части: линейную реакцию сорта на среду ( $b_i$ ) и нелинейные отклонения от линии регрессии ( $S\%$ ). К пластичным ( $b_i > 1$ ) относят сорта интенсивного типа, хорошо реагирующие на высокий агрофон. Слабые и сильные отклонения от линии регрессии, выраженные через параметр  $S\%$ , соответствуют высокой и низкой фенотипической стабильности сортов. К достоинствам данного метода можно отнести универсальность его применения и возможность оценивать достоверность различий генотипов по значимости отклонения от общей линии регрессии. Недостатками являются трудоёмкость, длительность исследований и необходимость иметь большой набор сортов для изучения. Кроме того, коэффициент регрессии отражает отзывчивость на среду конкретного набора генотипов, что обуславливает слабую сопоставимость результатов с данными других авторов и невозможность прогнозировать уровень пластичности на ранних стадиях селекции [8, 20]. Существенным недостатком данного метода является и его зависимость от среднего значения признака [21], т. е. более урожайные сорта имеют и больший коэффициент регрессии («эффект шкалы»).

В наших исследованиях, согласно методике [14], к экстенсивным генотипам, обладающим достоверно низкой пластичностью ( $b_i < 1$ ), можно отнести пшеницу Награда, П-57 и Т-79. Сорта с показателем  $b_i$ , значимо превышающим единицу, не выявлено. Относительно высокой отзывчивостью на условия среды среди сортов пшеницы характеризовались стандарт Маргарита, У-80, Т-66 ( $b_i = 1,26–1,80$ ). Достоверно высокой пластичностью отличались генотипы ячменя Эколог, Форвард и селекционный номер 168-12 ( $b_i = 1,03–1,40$ ).

В качестве меры пластичности сорта, кроме коэффициента регрессии признака ( $b_i$ ), предлагается использовать коэффициент мультипликативности (КМ) [19], показывающий, во сколько раз в данном интервале экологического ряда возрос уровень признака. Однако, по [22, 23], КМ от сорта к сорту изменяется слабо, что затрудняет оценку адаптивных реакций. Наши результаты подтвердили справедливость данного утверждения: КМ

Таблица / Table

Параметры экологической устойчивости сортов зерновых культур, 2017–2019 г.  
Environmental sustainability parameters for cereal varieties, 2017–2019

Показатель Sign	Культура Crop	Диапазон значений Range of values	$V_c$	$r$	Экологически устойчивые сорта / Environmentally sustainable varieties
Урожайность (т/га) Yield capacity (ton/ha)	пшеница wheat	2,62–3,71	10,8	–	У-80, Т-66, Т-79
	ячмень barley	3,60–5,50	10,6	–	346-09, 52-12, Белгородский 100 Belgorodskiy 100
Коэффициент вариации Coefficient of variation ( $V$ , %)	пшеница wheat	11,2–29,6	29,2	0,63*	П-57, Клара, Награда Klara, Nagrada
	ячмень barley	16,0–35,7	20,3	-0,57*	346-09, 52-12, Белгородский 100 Belgorodsky 100
Пластичность Plasticity ( $b_i$ )	пшеница wheat	0,43–1,80	39,1	0,82*	У-80, Т-66, Маргарита / Margarita
	ячмень barley	0,13–1,42	30,8	0,06	168-12, Эколог, Форвард Ecolog, Forward
Коэффициент мультипликативности (КМ) Coefficient of multiplicativity (CM)	пшеница wheat	1,57–2,50	15,3	0,67*	У-80, Т-66, Маргарита / Margarita
	ячмень barley	1,15–2,52	16,5	-0,21	45-13, 168-12, Форсаж / Forsazh
Фенотипическая стабильность Phenotypic stability ( $S\%$ )	пшеница wheat	0,15–17,27	71,2	-0,03	Т-79, П-57, Награда / Nagrada
	ячмень barley	0,02–24,91	103,2	-0,02	288-12, 52-12, Форвард / Forward
Экваленты по Wricke Wricke's ecovalents ( $W_i$ )	пшеница wheat	0,71–17,28	50,6	-0,01	Т-79, У-28, Баженка / Bazhenka
	ячмень barley	0,65–34,36	97,8	-0,14	Форвард / Forward, 52-12, 29-11
Гомеостатичность Homeostaticity (НОМ)	пшеница wheat	12,5–25,6	27,7	-0,29	П-57, Т-79, Клара / Klara
	ячмень barley	11,9–34,4	31,3	0,81*	346-09, 52-12, Белгородский 100 Belgorodskiy 100
Селекционная ценность сорта Cultivar breeding value ( $S_c$ )	пшеница wheat	1,78–2,61	10,4	0,31	Т-79, П-57, Награда / Nagrada
	ячмень barley	2,3–4,0	17,0	0,91*	346-09, 52-12, Белгородский 100 Belgorodskiy 100
Уровень стабильности урожайности (ПУСС) Level of stability in yield capacity (PUSS)	пшеница wheat	80–174	26,4	0,09	Т-79, П-57, Награда / Nagrada
	ячмень barley	33–127	41,6	0,86*	346-09, 52-12, Белгородский 100 Belgorodskiy 100
Индекс стабильности (ИС) Stability index (IS)	пшеница wheat	12,5–25,6	27,7	-0,29	П-57, Т-79, Клара / Klara
	ячмень barley	11,9–34,4	31,3	0,81*	346-09, 52-12, Белгородский 100 Belgorodskiy 100

Примечание:  $V_c$  – межсортовая вариабельность средних трёхлетних значений (число наблюдений для яровой пшеницы  $n = 13$ , ячменя  $n = 17$ );  $r$  – коэффициенты парной корреляции между критериями адаптивности и урожайностью; \* – достоверно при  $P \geq 0,95$ .

Note:  $V_c$  – inter-cultivar variability of average three-year values (number of observations for spring wheat  $n = 13$ , barley  $n = 17$ );  $r$  – coefficients of paired correlation between adaptive criteria and yield capacity; \* – significantly at  $P \geq 0.95$ .

у сортов варьировал в небольших пределах в сравнении с показателем  $b_i$ .

На яровой пшенице был отмечен «эффект шкалы» для всех характеристик пластичности, о чём свидетельствует достоверность парных корреляций ( $r$ ) между средним уровнем урожайности и показателями  $V$ ,  $b_i$  и КМ (табл.). Необходимо отметить и очень высокую сходимость критериев пластичности между собой как у пшеницы, так и у ячменя ( $r = 0,62-0,97$ ; достоверно при  $P \geq 0,95$ ), из которых, по нашим расчётам, наилучшей информативностью обладает показатель  $b_i$ , поскольку имеет наибольшую межсортовую вариабельность и возможность оценивать достоверность различий генотипов.

Достаточно ценную информацию несёт показатель фенотипической стабильности сорта ( $S\%$ ), который, во-первых, не зависел от урожайности у обеих культур, во-вторых, имел очень высокую дифференцирующую способность. По [20], данный показатель может служить для оценки предсказуемости ответа генотипа на среду. Можно предполагать, что для сортов с низким  $S\%$  прогноз урожайности при изменении метеоусловий или разработке агротехнических мероприятий будет более точным, что особенно актуально при переходе на современные цифровые технологии в сельском хозяйстве.

Термин «экологическая валентность» ( $W_i$ ) означает способность в разных экологических условиях сохранять определённый уровень продуктивности [18]. Чем выше показатель  $W_i$  (доля дисперсии, которая приходится на сорт, в общей дисперсии взаимодействия «генотип–среда»), тем меньше экологическая стабильность сорта. Значения  $W_i$ , рассчитанные для определённого набора сортов в конкретных условиях, служат скорее для их сравнительной характеристики, чем для объективной оценки, поскольку могут быть не сопоставимы с данными, полученными в других условиях. В наших исследованиях обнаружена очень высокая согласованность оценок  $S\%$  и  $W_i$  ( $r = 0,82-0,97$ , достоверно при  $P \geq 0,95$ ). Исходя из анализа, выделены номера с высокой экологической стабильностью ( $W_i < 2,5$ ; очень слабые отклонения от регрессии): Т-79 (пшеница); Форвард, 52-12, 29-11 (ячмень).

Большой интерес представляют методы оценки гомеостаза как способности организма стабилизировать реакции и противостоять стрессам. Согласно [15], генотипы с высоким гомеостазом (НОМ) и высоким показателем селекционной ценности ( $S_c$ ) слабо реагируют

на ухудшение условий и хорошо отзываются на их улучшение. Индекс стабильности (ИС), полностью идентичен НОМ, и тесно связан с  $S_c$  ( $r = 0,78-0,95$ , достоверно при  $P \geq 0,95$ ).

Показатель уровня стабильности сорта (ПУСС) [17], характеризует одновременно уровень и стабильность урожайности по отношению к стандарту, что, на наш взгляд, также является мерой оценки гомеостаза. Все выше-названные критерии (НОМ,  $S_c$ , ПУСС) тесно коррелируют между собой ( $r = 0,92-0,99$ ), но более удобен в использовании показатель ПУСС, так как он предполагает сравнение со стандартом и обладает более высокой информативностью.

Для ведения целенаправленной селекции важно знать согласованность между уровнем урожайности и критериями адаптивности. По нашим данным, высокоурожайные сорта ячменя могли быть как высоко, так и низко пластичными, но характеризовались высокими показателями гомеостаза. Сортам пшеницы, формирующим высокую урожайность, соответствовал более высокий уровень реакции на среду.

## Заключение

За 2017–2019 гг. исследований в условиях Волго-Вятского региона урожайность яровой пшеницы и ячменя на 16,4–18,0% была обусловлена генотипом, и на 39,2–55,1% – метеорологическими условиями вегетационного периода, что подчёркивает важность исследований на экологическую устойчивость новых сортов. Для сортов ячменя была характерна более высокая средняя урожайность (3,60–5,50 т/га) и более выраженная реакция на условия года (коэффициент вариации 25,2%), чем для сортов пшеницы (соответственно 2,62–3,71 т/га; 19,7%). Для выявления агрономически ценных генотипов из многих методов оценки адаптивных реакций наиболее информативными оказались ПУСС, коэффициент вариации генотипа на среду ( $V$ ), показатели пластичности и стабильности ( $b_i$  и  $S\%$ ). Урожайность ячменя была достоверно положительно связана с критериями гомеостаза, в отличие от пшеницы, у которой высокая продуктивность была связана с повышенной пластичностью. Высоко отзывчивые генотипы ячменя, как правило, имели пониженную фенотипическую стабильность. Системный подход к анализу адаптивного потенциала позволил выделить генотипы пшеницы: Т-79 (высокоурожайный сорт с вы-



сокой фенотипической стабильностью); У-80 (высокоурожайный интенсивный сорт с низкой фенотипической стабильностью); П-57, Награда (экстенсивные сорта с минимальным откликом на среду). Среди генотипов ячменя следует выделить Белгородский 100, 346-09, 52-12, сочетающие высокую урожайность и высокие показатели гомеостаза.

## Литература

1. Образцов А.С. Потенциальная продуктивность культурных растений. М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2001. 504 с.
2. Зеленская Н.Н. Отклик целостной экосистемы на потепление климата // Теоретическая и прикладная экология. 2017. № 2. С. 44–49.
3. Куркова И.В., Кузнецова А.С., Терехин М.В. Параметры экологической пластичности сортов сортообразцов ярового ячменя Амурской селекции // Вестник Новосибирского аграрного университета. 2015. № 3 (36). С. 19–24.
4. Лисицын Е.М., Шихова Л.Н., Овсянкина А.В. Эдафические стрессовые факторы северо-востока европейской России и проблемы селекции растений // Сельскохозяйственная биология. 2004. № 3. С. 42–60.
5. Des Marais D.L., Hernandez K.M., Juenger T.E. Genotype-by-environment interaction and plasticity: Exploring genomic responses of plants to the abiotic environment // Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics. 2013. V. 44. P. 5–29.
6. Dockter C., Hansson M. Improving barley culm robustness for secured crop yield in a changing climate // Journal of Experimental Botany. 2015. V. 66. No. 12. P. 3499–3509.
7. Потанин В.Г., Алейников А.Ф., Стёпочкин П.И. Новый подход к оценке экологической пластичности сортов растений // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2014. Т. 18. № 3. С. 548–552.
8. Бочарникова О.Г., Шишляников Я.И., Шевченко В.Е. Биоклиматическая адаптация сортов озимой тритикале в каменной степи // Вестник Мичуринского ГАУ. 2019. № 1. С. 64–67.
9. Жученко А.А. Адаптивное растениеводство (эколого-генетические основы). Теория и практика. В трёх томах. М.: Агрорус, 2008. Т. 1. 814 с.
10. Thakur P., Prasad L.C., Prasad R., Omprakash, Chandra K., Rashmi K. Stability analysis for yield and related traits over four environments in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Plant Archives. 2019. V. 19. No. 2. P. 3541–3545.
11. Гончаренко А.А. Экологическая устойчивость сортов зерновых культур и задачи селекции // Зерновое хозяйство России. 2016. № 3. С. 31–37.
12. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М.: Колос, 1979. 416 с.

13. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. М.: Колос, 1969. 256 с.
14. Eberhart S.A., Russel W.A. Stability parameters for comparing varieties // Crop. Sci. 1966. V. 6. No 1. P. 36–40.
15. Хангильдин В.В. Параметры оценки гомеостатичности сортов и селекционных линий в испытаниях колосовых культур // Научно-технический бюллетень Всесоюзного селекционно-генетического института. Одесса. 1986. № 2 (60). С. 36–41.
16. Удачин Р.А., Головченко А.П. Методика оценки экологической пластичности сортов пшеницы // Селекция и семеноводство. 1990. № 5. С. 2–6.
17. Неттевич Э.Д., Моргун А.И., Максименко М.И. Повышение эффективности отбора яровой пшеницы на стабильность урожайности и качества зерна // Вестник сельскохозяйственной науки. 1985. № 1. С. 66–73.
18. Wrike G.Z. Pflanzenzüchtung. 1962. V. 47. No. 1. P. 92–96.
19. Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Экологическая селекция растений. Мн.: Тэналогия, 1997. 372 с.
20. Кильчевский А.В. Экологическая организация селекционного процесса // Экологическая генетика культурных растений: Материалы школы молодых ученых. Краснодар: РАСХН, Всесоюзный научно-исследовательский институт риса, 2005. С. 40–55.
21. Balcha A. Genotype by environment interaction for grain yield and association among stability parameters in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // American Journal of Plant Sciences. 2020. V. 11. No. 1. P. 1–10.
22. Бебякин В.М., Кедрова Л.И., Кериватова Т.Б. Адаптивность: методические подходы, методы и критерии её оценки // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2005. № 7. С. 4–9.
23. Бебякин В.М., Кулеватова Т.Б., Старичкова Н.И. Методические подходы, методы и критерии оценки адаптивности растений // Известия Саратовского университета. 2005. Т. 5. Сер. Химия. Биология. Экология. Вып. 2. С. 69–71.

## References

1. Obraztsov A.S. Potential productivity of crop plants. Moskva: Rosinformagrotekh, 2001. 504 p. (in Russian).
2. Zelenskaya N.N. The response of a holistic ecosystem to climate warming // Theoretical and Applied Ecology. 2017. No. 2. P. 44–49 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2017-2-044-049
3. Kurkova I.V., Kuznetsova A.S., Terekhin M.V. Parameters of ecological plasticity of cultivars and cultivar samples of spring barley of the Amur breeding // Vestnik Novosibirskogo agrarnogo universiteta. 2015. No. 3 (36). P. 19–24 (in Russian).
4. Lisitsyn E.M., Shikhova L.N., Ovsyankina A.V. Edaphic stressful factors of north-east european part of russia and the problems of plant // Selskokhozyaystvennaya biologiya. 2004. No. 3. P. 42–60 (in Russian).

5. Des Marais D.L., Hernandez K.M., Juenger T.E. Genotype-by-environment interaction and plasticity: Exploring genomic responses of plants to the abiotic environment // *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 2013. V. 44. P. 5–29. doi: 10.1146/annurev-ecolsys-110512-1358067
6. Dockter C., Hansson M. Improving barley culm robustness for secured crop yield in a changing climate // *Journal of Experimental Botany*. 2015. V. 66. No. 12. P. 3499–3509. doi: 10.1093/jxb/eru521
7. Potanin V.G., Aleynikov A.F., Stepochkin P.I. A new approach to estimation of the ecological plasticity of plant varieties. 2014. V. 18. No. 3. P. 548–552 (in Russian).
8. Bocharnikova O.G., Shishlyannikov Ya.I., Shevchenko V.E. Bioclimatic adaptation of winter triticale cultivars in Stone Steppe // *Vestnik Michurinskogo GAU*. 2019. No. 1. P. 64–67 (in Russian).
9. Zhuchenko A.A. Adaptive crop production (ecological-genetic foundations). Theory and practice. In three volumes. Moskva: Agrorus, 2008. V. 1. 814 p. (in Russian).
10. Thakur P., Prasad L.C., Prasad R., Omprakash, Chandra K., Rashmi K. Stability analysis for yield and related traits over four environments in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Plant Archives*. 2019. V. 19. No. 2. P. 3544–3545.
11. Goncharenko A.A. Ecological stability of grain crop varieties and tasks of breeding // *Zernovoe khozyaystvo Rossii*. 2016. No. 3. P. 31–37 (in Russian).
12. Dospekhov B.A. Method of field experiment. Moskva: Kolos, 1981. 336 p. (in Russian).
13. Plokhinskiy N.A. Manual on biometrics for zootechnics. Moskva: Kolos, 1969. 256 p. (in Russian).
14. Eberhart S.A., Russel W.A. Stability parameters for comparing varieties // *Crop. Sci.* 1966. V. 6. No. 1. P. 36–40.
15. Khangildin V.V. Parameters of assessment of homeostateness of cultivars and selection lines in tests of cereal crops // *Nauchno-tehnicheskiy byulleten Vsesoyuznogo selektsionno-geneticheskogo goinstituta*. 1986. No. 2 (60). P. 36–41 (in Russian).
16. Udachin R.A., Golovchenko A.P. Methodology of assessment of ecological plasticity of wheat cultivars // *Selektsiya i semenovodstvo*. 1990. No. 5. P. 2–6 (in Russian).
17. Nettevich E.D., Morgunov A.I., Maksimenko M.I. Increasing the efficiency of selection of spring wheat for stability of yield and grain quality // *Vestnik selskokhozyaystvennoy nauki*. 1985. No. 1. P. 66–73 (in Russian).
18. Wrike G.Z. *Pflanzenzüchtung*. 1962. V. 47. No. 1. P. 92–96 (in Deutsch).
19. Kilchevskiy A.V., Khotyleva L.V. Ecological plant breeding. Minsk: Тэхналогія, 1997. 372 p. (in Russian).
20. Kilchevsky A.V. Ecological organization of breeding process // *Ecological genetics of cultural plants: Materialy shkoly molodykh uchenykh*. Krasnodar: RASKHN, All-Union Rice Research Institute, 2005. P. 40–55 (in Russian).
21. Balcha A. Genotype by environment interaction for grain yield and association among stability parameters in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // *American Journal of Plant Sciences*. 2020. V. 11. No. 1. P. 1–10. doi: 10.4236/ajps.2020.111001
22. Bebyakin V.M., Kedrova L.I., Kerivatova T.B. Adaptability: methodological approaches, methods and criteria of its assessment // *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*. 2005. No. 7. P. 4–9 (in Russian).
23. Bebyakin V.M., Kulevatova T.B., Starichkova N.I. Methodological approaches, methods and criteria for assessing plant adaptability // *Izvestiya Saratovskogo universiteta*. 2005. V. 5. Seriya Chemistry. Biology. Ecology. No. 2. P. 69–71 (in Russian).

## Оптимизация полевых севооборотов, как фактор сохранения почвенного плодородия и экологизации земледелия

© 2020. Л. М. Козлова, д. с.-х. н., в. н. с.,  
Е. Н. Носкова, к. с.-х. н., н. с.,  
Ф. А. Попов, к. с.-х. н., с. н. с.,

Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого,  
610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, д. 166а,  
e-mail: zemledele\_niish@mail.ru

Одно из главных условий экологического земледелия – внедрение биологизированных полевых севооборотов. В длительном стационарном опыте (1982–2017 гг.) по изучению различных видов полевых севооборотов в условиях Кировской области исследованы биологическая активность почвы (методом разложения льняных полотен), токсичность почвы (методом проростков), продуктивность севооборотов. Установлено, что на дерново-подзолистой среднесуглинистой почве деятельность целлюлозоразлагающих микроорганизмов (МО) зависит от климатических условий вегетационного периода, вида севооборота, предшествующей культуры, содержания органического вещества и агрофизических свойств почвы. В специализированных зерновых севооборотах деятельность целлюлозоразлагающих МО была достоверно ниже, чем в севооборотах с 50%-ным насыщением бобовыми культурами, сидеральными парами, внесением органических удобрений. Разложение целлюлозы под бобовыми и пропашными культурами оценивалось по шкале от «сильного» до «очень сильного». Токсичность почвы повышалась в зерновых севооборотах, по сравнению с зернотравяными и плодосменными, превышая 20%. В биологизированных севооборотах при внесении органических удобрений почва была не токсична (0–6%). Самый низкий процент токсичности отмечен в почве чистого и сидерального паров. Продуктивность севооборотов зависела от систем удобрений и состава культур и в среднем по севооборотам была на высоком уровне – 4,26–5,69 тыс. кормовых единиц.

**Ключевые слова:** севообороты, плодосмен, биологическая активность, токсичность почвы, органические удобрения, сельскохозяйственные культуры.

## Optimization of field crop rotations as a factor of soil fertility preservation and greening of agriculture

© 2020. L. M. Kozlova ORCID: 0000-0002-6363-0996\*  
E. N. Noskova ORCID: 0000-0002-4685-7865\*  
F. A. Popov ORCID: 0000-0002-9801-3453\*

Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky,  
166a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,  
e-mail: zemledele\_niish@mail.ru

One of the main conditions of ecological farming is the introduction of biologized field crop rotations. In a long-term stationary experiment (1982–2017) on the study of various types of field crop rotations in the conditions of the Kirov region, the biological activity of the soil (by the method of linen decomposition), soil toxicity (by the seedlings method), productivity of crop rotations were studied. It has been found that on sod-podzolic middle loamy soil the activity of cellulose-decomposing microorganisms depends on the weather conditions of the growing season, the type of crop rotation, the precursor, the content of organic matter, the agrophysical properties of the soil. Enhancement of biological activity of soil and reduction of its phytotoxicity is possible due to reduction of doses of mineral fertilizers, application of all types of organic fertilizers, ploughing of root and stubble residues of crops, grain straw, aftergrowth of perennial legumes. In specialized grain crop rotations, the activity of cellulose-decomposing microorganisms was significantly lower than in crop rotations with 50% saturation with leguminous crops, green-manure fallows, and application of organic fertilizers. Fiber degradation under legumes and tilled crops was evaluated on the scale as from ‘strong’ to ‘very strong’. In grain crop rotations soil toxicity increased in compare with grain-grass and field crop rotations, exceeding 20%. Soil was not toxic (0–6%) in biologized crop rotations when applying organic fertilizers. The lowest percentage of toxicity was observed in the soil of pure and green-manure fallows. Crop rotation productivity depended on fertilizer systems and crop composition and had a high level: 4.26–5.69 thousand fodder units.

**Keywords:** crop rotation, rotation cropping system, biological activity, soil toxicity, organic fertilizers, agricultural crops.

В соответствии со стратегией научно-технологического развития Российской Федерации к аграрному производству предъявляются современные требования, где наряду с ресурсо- и энергосбережением, увеличением производительности труда, рентабельности производства сельскохозяйственной продукции, большое значение придаётся экологической безопасности агротехнологий [1].

При развитии органического сельского хозяйства биологизация земледелия будет переходным этапом для производства органической продукции по российским и международным стандартам. Органическое сельское хозяйство ориентировано на научно-обоснованное чередование культур как основного фактора биологизации, на минимизацию обработки почвы и на снижение использования пестицидов и синтетических удобрений [2].

В настоящее время следует пересмотреть роль специализированных севооборотов, уточнить в структуре посевных площадей наличие чистых паров, многолетних трав, технических культур. В условиях адаптивного земледелия Евро-Северо-Восточного региона чистые пары следует заменить сборными (занятое, сидеральные), насыщать севообороты бобовыми травами, зернобобовыми, крестоцветными культурами [3].

На почвенное микробное сообщество большое влияние оказывает применение органических и минеральных удобрений. Большой интерес в этом плане представляют результаты многолетних исследований в длительных стационарных опытах, когда выявляемые эффекты аккумулируются во времени на фоне изменения факторов окружающей среды в конкретной почвенно-климатической зоне [4, 5].

Цель исследований – совершенствование в соответствии с экологическими принципами систем полевых севооборотов, при использовании различных факторов биологизации, способствующих сохранению и повышению плодородия дерново-подзолистых почв Северо-Востока европейской части России.

### Материалы и методы

Исследования проводились в длительном стационарном опыте на дерново-подзолистой среднесуглинистой почве ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока. Опыт по изучению полевых севооборотов заложен в 1976 г. Было изучено 16 схем шестипольных и 12 схем восьмипольных севооборотов, на рассмотрение взято

шесть наиболее контрастных севооборотов (схемы севооборотов представлены в таблице). Изучалось влияние специализированных зерновых севооборотов, севооборотов с различными видами паров и различным насыщением бобовыми культурами при органической системе удобрений с применением биологических средств защиты растений на агрофизические, биологические показатели почвенного плодородия, фитосанитарное состояние посевов и урожайность культур. Химические средства защиты не применялись.

Изученные севообороты (1982–2017 гг.) размещены на всех полях в пространстве и во времени. Повторность четырёхкратная в пространстве, размещение делянок систематическое, общая площадь делянки 154 м<sup>2</sup>.

Влажность, плотность почвы, количество растительных остатков и общий гумус определяли по методикам [6]. Целлюлозную активность почвы определяли методом «аппликаций», по разложению в ней льняного полотна [7]. Полученные результаты оценивали по шкале [8]: разложение < 10% – очень слабая активность, 10–30% – слабая, 30–50% – средняя, 50–80% – сильная, > 80% – очень сильная. Токсичность почвы определяли при помощи растительного теста по «методу проростков» [7].

### Результаты и обсуждение

Севообороты и предшественники оказывают многогранное влияние на сложные биохимические процессы, протекающие в почве, на взаимодействие растений и почвенных микроорганизмов (МО) и их деятельность.

Считается, что достаточно достоверную картину общей биологической активности почвы показывает интенсивность распада в ней клетчатки (целлюлозная активность). Но, так как активность целлюлозоразлагающих МО зависит от доступных питательных элементов, то можно считать, что степень распада льняной ткани отражает «напряжённость хода микробиологических процессов вообще» [9].

При определении биологической активности в специализированных севооборотах (I, II), где зерновые занимают в структуре 50,0 и 84,3%, установлено, что достоверных различий между севооборотами не отмечалось (табл.). Но в разрезе по культурам следует отметить, что интенсивность распада клетчатки в слое 0–20 см под разными культурами различалась. Под клеверами II-го г. п. активность целлюлозоразлагающих МО снижалась

Таблица / Table  
 Влияние чередования культур на биологические показатели плодородия и продуктивности севооборотов  
 Effects of crop rotation on biological parameters of soil fertility and crop rotation productivity

Севообороты / Минеральные и органические удобрения, д. в. Crop rotation / Mineral and organic fertilizers, acting matter	Разложение льняного полотна, % Decomposition of linen, %	Токсич- ность, % Toxicity, %	Общий гумус, % Total humus, %	Продуктивность севооборота, корм. ед. тыс. Productivity of crop rotation, Fodder units, thousand
I севооборот: 1. Пар занятый (вика+овёс) 2. Озимая рожь 3. Ячмень с подсевом клевера 4. Клевер I г.п. 5. Клевер II г.п. 6. Яровая пшеница / N <sub>65</sub> P <sub>100</sub> K <sub>30</sub>	31,8	17,3	1,67	4,73
I crop rotation: 1. Seeded fallow (vetch+oats) 2. Winter rye 3. Barley with clover undersow 4. Clover of first year of use 5. Clover of second year of use 6. Spring wheat				
II севооборот: 1. Ячмень 2. Озимая рожь с подсевом клевера 3. Клевер I г.п. 4. Озимая рожь 5. Овёс 6. Яровая пшеница / N <sub>85</sub> P <sub>100</sub> K <sub>55</sub>	35,7	20,7	1,69	5,05
II crop rotation: 1. Barley 2. Winter rye with clover undersow 3. Clover of first year of use 4. Winter rye 5. Oats 6. Spring wheat				
III севооборот: 1. Клевер I г.п. 2. Клевер II г.п. 3. Озимая рожь 4. Яровая пшеница 5. Вика+овёс 6. Ячмень с подсевом клевера / N <sub>30</sub> P <sub>30</sub> K <sub>30</sub> + 5 т/га	49,6	3,8	1,72	4,72
III crop rotation: 1. Clover of first year of use 2. Clover of second year of use 3. Winter rye 4. Spring wheat 5. Vetch+oats 6. Barley with clover undersow				
IV севооборот: 1. Пар занятый (вика+овёс) 2. Озимая рожь 3. Ячмень 4. Картофель 5. Озимая рожь 6. Овёс / N <sub>90</sub> P <sub>90</sub> K <sub>90</sub> + 15 т/га	47,2	3,5	1,65	5,69
IV crop rotation: 1. Seeded fallow (vetch+oats) 2. Winter rye 3. Barley 4. Potato 5. Winter rye 6. Oats				
V севооборот: 1. Пар чистый 2. Озимая рожь 3. Ячмень с подсевом клевера 4. Клевер I г.п. 5. Яровая пшеница 6. Овёс / N <sub>30</sub> P <sub>30</sub> K <sub>30</sub> + 5 т/га	31,6	14,3	1,89	3,96
V crop rotation: 1. Pure fallow 2. Winter rye 3. Barley with clover undersow 4. Clover of first year of use 5. Spring wheat 6. Oats				
VI севооборот: 1. Пар сидеральный (пелюшка+овёс) 2. Озимая рожь 3. Яровая пшеница с подсевом клевера 4. Клевер I г.п. 5. Картофель 6. Ячмень / N <sub>30</sub> P <sub>30</sub> K <sub>30</sub>	36,8	14,2	1,75	4,26
VI crop rotation: 1. Green manure fallow (field pea+oats) 2. Winter rye 3. Spring wheat with clover undersow 4. Clover of first year of use 5. Potato 6. Barley				
HCP <sub>05</sub> / LSD <sub>05</sub>	11,22	2,74	0,09	0,74

(17,9–20,0%) по сравнению с зерновыми культурами, что объясняется иссушением почвы и повышением её плотности. Разложение льняной ткани под озимой рожью после лучшего предшественника клевера повышалось до 40,0–58,9%, причём распад ткани интенсивнее шёл после клеверов 1-го г. п., за счёт более быстрого разложения молодых корне-стерневых остатков (КСО). При размещении озимой ржи после зернового предшественника (ячмень) биологическая активность была значительно ниже – 25,5–33,5% ( $НСР_{05} = 9,1$ ). Деятельность целлюлозоразлагающих МО усиливалась и под пшеницей, посеянной после клевера II-го г. п. – 47,0% и выше на 9,8–18,1%, чем при размещении её после озимой ржи ( $НСР_{05} = 7,2$ ). Под ячменём разложение льняного полотна снижалось на 17,6–18,6% в севооборотах с высоким насыщением (84,3%) зерновыми, наибольший процент разложения (44,1%) отмечен в севообороте, где доля зерновых снижалась до 50% ( $НСР_{05} = 12,6$ ).

Введение в шестипольный (III) севооборот 50% бобовых культур (два поля клевера, вико-овсяная смесь на зернофураж) и внесение навоза увеличивало процент разложения льняной ткани до 49,6% (в среднем по севообороту). Разложение ткани под озимой рожью повышалось при размещении после клевера II-го г. п. (до 77,0%), это выше на 17,3%, чем после пара, занятого вико-овсяной смесью, на 15,7% – чем по сидеральному пару и на 25,0% – чем по картофелю ( $НСР_{05} = 14,7$ ). Высокая активность целлюлозоразлагающих МО отмечена под вико-овсом на зерно – 55,6%.

Регулировать интенсивность биологических процессов в почве можно более эффективно в плодосменных (культуры из разных биологических групп) севооборотах. Поэтому зернопропашной севооборот (IV), который отвечает всем принципам плодосмена при внесении органических удобрений (15 т/га), улучшает условия аэрации в почве, благодаря периодическим междурядным обработкам под картофелем, и повышает биогенность почвы. Максимальная интенсивность разложения полотна под картофелем по годам колебалась от 66,6 до 82,0%. Интенсивность разложения целлюлозы оценивалась по шкале [8] от «сильной» до «очень сильной».

Введение в севообороты чистого пара способствует «оздоровлению почвы», улучшению жизненной среды растений. Для разложения растительных остатков и детоксикации почвы достаточно одного парового поля в севообороте. Органические удобрения, внесённые

в чистом пару, являются важным фактором воздействия на активность почвенных МО и направленность почвенно-биологических процессов [10]. Внесение навоза в чистом пару в севообороте (V) положительно сказалось на озимой ржи. Разложение льняной ткани было выше на 8,0–20,0%, чем при размещении озимой ржи по занятым парам.

Разложение ткани значительно повышалось в севообороте (VI) с сидеральным паром, пропашной культурой и клевером 1-го г. п. (36,8%). По годам распад ткани в этом севообороте был выше на 9,5–15,7%. Активность целлюлозоразлагающих МО возрастала под озимой рожью после сидерального (вико-овсяная смесь) пара на 11,2–26,6%, по сравнению с другими предшественниками ( $НСР_{05} = 11,0$ ). Степень распада полотна под зерновыми культурами оценивалась от «слабой» до «средней». Высокую степень убыли льняного полотна отмечали также под картофелем (39,1–59,7%), что объясняется быстрым разложением корневых остатков этой культуры при лучших агрофизических (низкой плотности, лучшей водопроницаемости) условиях, обусловленных междурядными обработками. В среднем за ротацию в севооборотах, в структуре которых различный процент зерновых, бобовых и пропашных культур, разложение льняного полотна оценивалось «средней степенью».

Разложение целлюлозы значительно зависело и от влияния метеорологических условий. На целлюлозолитические процессы сдерживающее действие оказывали понижение температуры ( $r = -0,70$ ) и количество атмосферных осадков ( $r = -0,80$ ). Во влажные годы при выпадении осадков в количестве 113–150% от нормы при сумме среднемесячной температуры выше среднемноголетней на 1,0–2,5 °C под посевами бобовых культур ткань распадалась на 43,5–79,4, под картофелем – 59,7–82,0, в чистом пару – 27,6–45,3, под зерновыми – 45,9–51,1%. В сухие и холодные вегетационные периоды процент разложения полотна был в 1,5–2,0 раза ниже.

Наши исследования показали, что на дерново-подзолистых почвах при влажности почвы 11–14% разложение целлюлозы происходит очень медленно. Высокая корреляционная зависимость целлюлозоразлагающих процессов от наличия влаги в почве выявлена в зерновых севооборотах (I, II) в период всходов яровых зерновых культур и в середине вегетации  $r = 0,88$  и  $0,89$ . Зависимость же от плотности почвы была только в начале

вегетации и перед уборкой культур –  $r = -0,70$  и  $-0,61$ . К началу уборки зерновых культур почва уплотняется до  $1,45–1,47$  г/см<sup>3</sup> и, даже при достаточной влажности, деятельность МО снижается.

В севооборотах, насыщенных бобовыми травами, зернобобовыми культурами и органическими удобрениями (III, IV, V, VI), отмечается меньшая («слабая» и «средняя») зависимость степени разложения полотно от влажности и плотности почвы (при 5% уровне значимости). В почву поступает достаточно много органического вещества, что усиливает работу МО и влияние погодных факторов менее существенно.

При определении токсичности почвы (по длине проростков) во всех изученных севооборотах отмечали, что под зерновыми культурами токсичность возрастала по сравнению с бобовыми культурами, особенно под яровой пшеницей (20–33%), ячменём (20–30%), озимой рожью (21–30%), то есть почва в зерновых специализированных севооборотах была токсичной. Токсичными считаются почвы, если гибель проростков составляет более 20%. Только под овсом, который обладает фитосанитарными свойствами, этот показатель не превышал 16–17%. В севооборотах, где два поля было занято клеверами (I), токсичность была ниже на 3,4% ( $НСР_{05} = 2,74$ ), чем в севообороте (II) с клевером одного года использования. Введение узкоспециализированных зерновых севооборотов являлось причиной увеличения токсичности почвы, которую можно устранить введением в структуру севооборотов бобовых культур как фактора снижения почвоутомления.

Определение токсичности почвы в севооборотах с бобовыми культурами и внесением органических удобрений показало, что почва была не токсична (в среднем не превышала 6,0%). Под бобовыми культурами и озимой рожью, предшественниками которой они были, в большинстве лет гибель и угнетение проростков отсутствовали. В среднем по севооборотам достоверное снижение токсичности наблюдали в севообороте с бобовыми культурами (III) и в зернопропашном (IV) ( $НСР_{05} = 2,74$ ).

В севооборотах с чистым (V) и сидеральным (VI) парами почва была не токсичной, т.е. снижение всхожести семян и угнетение проростков не превышало 20%. Самый низкий процент токсичности 6,0–6,7% отмечали в чистом и сидеральном парах.

Фитотоксичность коррелировала с условиями вегетационного периода. В сухие годы

проявление токсичности было более сильным, превышая допустимые 20%. В зерновых севооборотах отрицательная корреляционная зависимость токсичности от влажности усиливается к концу вегетации  $r = -0,84$ , в начале и середине вегетации зависимость «средняя»  $r = 0,46–0,47$ . В биологизированных севооборотах, насыщенных органическим веществом, «слабая» и «средняя» зависимость отмечалась в разные ротации в середине вегетационного периода и перед уборкой ( $r = -0,17–0,54$ ). Следует отметить, что к концу ротации севооборотов видна тенденция уменьшения токсичности почвы, это подтверждает, что научно обоснованное чередование культур улучшает биологические процессы в почве.

На изучаемых дерново-подзолистых почвах не было достоверной корреляционной зависимости целлюлозоразлагающих организмов от содержания в почве растительных остатков и количества гумуса в почве [11], что объясняется тем, что в процессе разложения органического вещества участвуют и другие группы МО. Исследователи [12, 13] утверждают, что тесные корреляционные связи возникают между содержанием гумуса и широким кругом МО.

На урожайность культур и продуктивность севооборотов влияли система удобрений и чередование культур. Высокое насыщение зерновыми культурами (до 83,4%) повышало продуктивность севооборотов на 4,5–7,2% за счёт ячменя, самой урожайной культуры в наших условиях. При введении в севооборот бобовых культур до 50% и внесении невысоких доз удобрений (III) не происходит снижения продуктивности в сравнении с подобным чередованием при высокой степени удобренности (I). Плодосменные севообороты (IV, VI) как при органоминеральной, так и при минеральной системах удобрения обеспечивали высокий выход кормовых единиц, которые выражают общую питательную ценность сельскохозяйственных культур и являются главным показателем эффективности севооборотов. Замена чистого пара занятыми и сидеральными парами увеличивала продуктивность севооборотов на 10,6–43,7%. Размещение культур по лучшим предшественникам дополнительно даёт до 30% кормовых единиц.

### Заключение

В результате исследований, выполненных в длительном стационарном опыте (более 30 лет) на дерново-подзолистой среднесугли-

нистой почве, установлено, что экологическая система ведения земледелия основывается, в первую очередь, на внедрении плодосменных севооборотов, в составе которых культуры из разных биологических групп. Усиление биологической активности почвы и снижение её фитотоксичности возможно за счёт снижения доз минеральных удобрений, внесения всех видов органических удобрений, запахивания корневых и стерневых остатков культур, соломы зерновых, отавы многолетних бобовых трав. Интенсивность разложения льняных полотен усиливалась после бобовых предшественников. В севооборотах с высоким насыщением зерновыми деятельность целлюлозо-разлагающих МО была достоверно ниже, чем в севооборотах с бобовыми культурами при внесении 5–15 т/га органических удобрений. При введении в севообороты сидеральных и пропашных культур биологическая активность повышалась. Степень разложения целлюлозы под культурами оценивалась по шкале [8] от «сильной» до «очень сильной». Токсичность почвы возрастала, превышая 20% с увеличением в севооборотах доли зерновых культур. Высокое насыщение севооборотов бобовыми культурами (до 50%), введение сидеральных паров и внесение навоза способствовали снижению или полному устранению токсичности почвы.

Таким образом, наиболее достоверные результаты по влиянию различных агротехнических приёмов (в том числе севооборотов) на показатели плодородия почвы и продуктивность культур можно получить в многолетних исследованиях (не менее 20 лет). Поэтому на основе сформированной базы данных необходимо в дальнейших исследованиях уделить внимание качественным и количественным показателям в системе «почва – растение», что будет способствовать поддержанию фитосанитарного состояния почвы на экологическом уровне, сохранению и повышению плодородия почвы.

### Литература

1. Завалин А.А. Оптимизация минерального питания и продуктивности растений при использовании биопрепаратов и удобрений // Достижения науки и техники АПК. 2015. № 5. С. 19–23.
2. Галеев Р.Ф., Шашкова О.Н. Оценка действия приёмов биологизации и химизации на продуктивность кормового севооборота в лесостепи Западной Сибири // Достижения науки и техники АПК. 2019. Т. 33. № 10. С. 22–25.

3. Козлова Л.М. Севооборот как элемент ресурсосберегающих технологий возделывания сельскохозяйственных культур в адаптивно-ландшафтном земледелии // Ресурсосберегающие технологии возделывания зерновых культур. Германия, Саарбрюккен: LAP, 2017. С. 106–115.

4. Cruz A.F., Hamel C., Hanson K., Selles F., Zentner R.P. Thirty-seven years of soil nitrogen and phosphorus fertility management shapes the structure and function of the soil microbial community in a Brown Chernozem // Plant Soil. 2009. V. 315. P. 173–184.

5. Sun D., Bi Q., Li K., Dai P., Yu Y., Zhou W., Jin C. Significance of temperature and water availability for soil phosphorus transformation and microbial community composition as affected by fertilizer sources // Biology and fertility of soils. 2018. V. 54. No. 2. P. 229–241.

6. Сафонов А.Ф., Стратонович М.В. Практикум по земледелию с почвоведением. М.: Агропромиздат, 1990. 208 с.

7. Опытное дело в полеводстве. М.: Россельхозиздат, 1982. 190 с.

8. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во МГУ, 1991. 304 с.

9. Мишустин Е.Н., Емцев В.П. Микробиология. М.: Колос, 1970. 193 с.

10. Лыков А.М., Еськов А.И., Новиков М.Н. Органическое вещество пахотных почв Нечерноземья (актуальность и состояние проблемы, рабочие гипотезы исследований, сопряжённость агрономических и экологических функций, динамика в агроценозах, принципы моделирования и технологии воспроизводства). М.: Россельхозакадемия, ГНУ ВНИПТИОУ, 2004. 630 с.

11. Козлова Л.М. Продуктивность и баланс основных питательных элементов в севооборотах при различных уровнях интенсификации // Достижения науки и техники АПК. 2019. Т. 33. № 1. С. 6–9.

12. Carballas M., Reisinger O., Kilbertus G. Microflora y materia organica reconocible en suelos de Praderia. III. Estaciones mesofilas. Conclusiones generales // Anales de edafologia y agrobiologia. 1984. V. 42. No. 9–10. P. 1499–1508.

13. Завьялова Н.Е., Широких И.Г., Ямалтдинова В.Р. Микробиологическое состояние дерново-подзолистой почвы Предуралья при длительном применении органических и минеральных удобрений // Теоретическая и прикладная экология. 2020. № 1. С. 151–159.

### References

1. Zavalin A.A. Optimization of mineral nutrition and productivity of plants using biopreparations and fertilizers // Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2015. No. 5. P. 19–23 (in Russian).
2. Galeev R.F., Shashkova O.N. Assessment of the action of biologization and chemization techniques on



productivity of fodder crop rotation in forest steppe of Western Siberia // *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*. 2019. V. 33. No. 10. P. 22–25 (in Russian). doi: 10.24411/0235-2451-2019-11005

3. Kozlova L.M. Crop rotation as an element of resource-saving crop cultivation technologies in adaptive and landscape farming // *Resursoberegayushchie tekhnologii vozdeleyvaniya zernovykh kul'tur*. Germany, Saarbrücken: LAP, 2017. P. 106–115 (in Russian).

4. Cruz A.F., Hamel C., Hanson K., Selles F., Zentner R.P. Thirty-seven years of soil nitrogen and phosphorus fertility management shapes the structure and function of the soil microbial community in a Brown Chernozem // *Plant Soil*. 2009. V. 315. P. 173–184. doi: 10.1007/s11104-008-9742-x

5. Sun D., Bi Q., Li K., Dai P., Yu Y., Zhou W., Jin C. Significance of temperature and water availability for soil phosphorus transformation and microbial community composition as affected by fertilizer sources // *Biology and fertility of soils*. 2018. V. 54. No. 2. P. 229–241. doi: 10.1007/s00374-017-1252-7

6. Safonov A.F., Stratonovich M.V. Practical works on crop farming with soil science. Moskva: Agropromizdat, 1990. 208 p. (in Russian).

7. Experiment work in field-crop cultivation. Moskva: Rosselkhozizdat, 1982. 190 p. (in Russian).

8. Zvyagintsev D.G. Methods of soil microbiology and biochemistry. Moskva: MGU, 1991. 304 p. (in Russian).

9. Mishustin E.N., Emtsev V.P. Microbiology. Moskva: Kolos, 1970. 193 p. (in Russian).

10. Lykov A.M., Yeskov A.I., Novikov M.N. Organic substance of arable soils of Nezerzhoye (relevance and state of the problem, working hypotheses of research, conjugation of agronomic and ecological functions, dynamics in agrocenoses, principles of modeling and reproduction technology). Moskva: Rosselkhozakademia, GNU VNIPTIOU, 2004. 630 p. (in Russian).

11. Kozlova L.M. Productivity and balance of basic nutrients in crop rotation at various levels of intensification // *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*. 2019. V. 33. No. 1. P. 6–9 (in Russian). doi: 10/24411/0235-2451-2019-10102

12. Carballas M., Reisinger O., Kilbertus G. Microflora y materia organica reconocible en suelos de Praderia. III. Estaciones mesofilas. Conclusiones generales // *Anales de edafologia y agrobiologia*. 1984. V. 42. No. 9–10. P. 1499–1508.

13. Zavyalova N.E., Shirokikh I.G., Yamaltdinova V.R. Microbiological status of the Pre-Urals sod-podzolic soil with long-term use of organic and mineral fertilizers // *Theoretical and Applied Ecology*. 2020. No. 1. P. 151–159 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2020-1-151-159

## Агроэкологическое обоснование применения микроэлементных удобрений при возделывании яровой пшеницы

© 2020. В. И. Лазарев, д. с.-х. н., профессор, зам. директора, Ж. Н. Минченко, м. н. с., А. Я. Башкатов, с. н. с., Курский федеральный аграрный научный центр, 305021, Россия, г. Курск, ул. Карла Маркса, д. 70б, e-mail: vla190353@yandex.ru

В результате проведённых в 2017–2019 гг. исследований установлена высокая эффективность и экологическая целесообразность применения комплексных удобрений с микроэлементами Аквадон–Микро, МикроФид Комплекс и Новоферт на посевах яровой мягкой пшеницы на чернозёмных почвах Курской области. Обработка семян комплексными удобрениями с микроэлементами в сочетании с двукратным опрыскиванием посевов в фазе «кущение» и фазе «начало выхода в трубку» повышала урожайность яровой пшеницы на 0,57–0,75 т/га, или 14,7–19,4%, содержание сырой клейковины в зерне – на 1,8–2,0%, в сравнении с контролем. Лучшие экономические показатели при возделывании яровой пшеницы обеспечивало применение комплексного удобрения с микроэлементами Аквадон–Микро. Обработка семян (2,0 л/т) и двукратная обработка посевов в фазе кушения (2,0 л/га) и фазе начала выхода в трубку (2,0 л/га) увеличивала стоимость валовой продукции на 7500 руб./га, величину условно чистого дохода на 6170,0 руб./га, уровень рентабельности – на 22,2%, способствовала снижению себестоимости 1 т зерна на 626,86 руб. Экономическая эффективность комплексных удобрений с микроэлементами Новоферт и МикроФид Комплекс при аналогичных способах внесения была практически равной и несколько ниже эффективности микроэлементного удобрения Аквадон–Микро: стоимость валовой продукции от их использования повышалась на 5700–5800 руб./га, величина условно чистого дохода – на 4942–4770 руб./га, уровень рентабельности – на 18,9–17,9%, при снижении себестоимости 1 т зерна на 541,62–513,93 руб.

**Ключевые слова:** микроэлементные удобрения, МикроФид Комплекс, Аквадон–Микро, Новоферт, яровая мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.), урожайность, содержание клейковины, экономическая эффективность.

## Agroecological justification for the use of complex micronutrient-enriched fertilizers in the cultivation of spring soft wheat

© 2020. V. I. Lazarev ORCID: 0000-0002-2931-8560  
J. N. Minchenko ORCID: 0000-0003-4352-6013  
A. Ya. Bashkatov ORCID: 0000-0002-9340-0622  
Kursk Federal Agrarian Scientific Center,  
70, Karla Marksa St., Kursk, Russia, 305021,  
e-mail: vla190353@yandex.ru

According to the studies conducted in 2017–2019, the use of complex micronutrient-enriched fertilizers such as Aquadon–Micro, MicroFeed Complex and Novofert on spring soft wheat crops on chernozem soils of the Kursk region has been proved to be highly effective and environmentally desirable. Seed treatment with complex micronutrient-enriched fertilizers in combination with two-time spraying of crops during the “Tillering” phase and the “Beginning of Erect Growth” phase has increased the yield of spring wheat by 0.57–0.75 ton/ha, or 14.7–19.4%, and the content of crude gluten in the grain by 1.8–2.0% compared with the control. The highest increase of economical indexes in cultivation of spring wheat has been achieved through the effective use of complex fertilizer Aquadon–Micro. Seed treatment (2.0 L/ton) and two–time spraying of crops during the “Tillering” phase (2.0 L/ha) and the “Beginning of Erect Growth” phase (2.0 L/ha) has increased the cost of gross output by 7500 rub/ha, the net income by 6170.0 rub/ha and the profitability by 22.2%. It has also helped to reduce the cost price of 1 ton of grain by 626.86 rub. The economic efficiency of complex fertilizers Novofert and MicroFeed Complex applied in the same way has been proved to be slightly lower than the effectiveness of the Aquadon–Micro fertilizer: the cost of gross output has enhanced by 5700–5800 rub/ha, the net income by 4942–4770 rub/ha, the profitability by 18.9–17.9%. The cost price reduction of 1 ton of grain was 541.62–513.93 rubles.

**Keywords:** micronutrient-enriched fertilizers, MicroFeed Complex, Aquadon–Micro, Novofert, spring soft wheat (*Triticum aestivum* L.), crop yield, crop capacity, gluten content, economic efficiency.

Одним из основных направлений современного аграрного производства является переход на экологически безопасные и экономически обоснованные технологии возделывания сельскохозяйственных культур, позволяющие повысить урожайность и качество продукции и одновременно снизить загрязнение окружающей среды [1–3]. Это требует значительных изменений применяемых технологий в сторону биологизации (экологизации) и ресурсосбережения, с использованием биологических средств защиты растений, регуляторов роста и комплексных удобрений с микроэлементами в хелатной форме [4–6]. Важную роль в современных технологиях возделывания сельскохозяйственных культур, наряду с макроудобрениями (азотными, фосфорными, калийными), играют микроэлементные удобрения (борные, молибденовые, медные, цинковые и др.) [7–9]. Микроэлементы изменяют биохимическую направленность обмена веществ в растениях, связанную с активностью ферментов, повышают устойчивость к болезням, увеличивают урожайность и улучшают качество продукции [10–12].

Исследованиями целого ряда авторов [13, 14] установлено, что дефицит микроэлементов в почве препятствует получению максимального эффекта от применения основных минеральных удобрений, приводит к нарушению важнейших биологических процессов в организме растения.

Анализ содержания основных микроэлементов в почвах Курской области показал, что они имеют низкую обеспеченность подвижными формами бора, меди, цинка, марганца. Наименее обеспечены подвижными микроэлементами серые лесные почвы всех подтипов, имеющие лёгкий гранулометрический состав и низкое содержание гумуса. По данным агрохимического обследования пахотные почвы хозяйств 1-го агропочвенного района Курской области с низким содержанием подвижных форм бора составляют 38%, меди – 58%, марганца – 87% и цинка – 97% от обследованной пашни [15]. Общей закономерностью в распределении микроэлементов в почвенном покрове области является повышение их содержания от почв северо-западных районов к почвам юго-восточных районов.

В настоящее время различными фирмами выпускается целый ряд таких удобрений (Аквадон–Микро, Новоферт, МикроФид и др.), в состав которых, помимо основных макроэлементов, входят микроэлементы в легкоусвояемой (хелатной) форме. Однако

данных по эффективности их применения в конкретных почвенно-климатических условиях и влиянию на экологическое состояние окружающей среды явно недостаточно.

В связи с этим, основная цель настоящего исследования заключалась в научном обосновании и экспериментальном подтверждении целесообразности использования комплексных удобрений с микроэлементами для оптимизации продукционного процесса агрофитоценозов яровой мягкой пшеницы, определении их влияния на рост и развитие растений, урожайность и качество зерна в условиях чернозёмных почв Курской области.

### Объекты и методы

Исследования проводились в стационарном опыте лаборатории технологии возделывания полевых культур и экологической оценки земель ФГБНУ «Курский ФАНЦ» в 2017–2019 гг.

Материалом для исследований служили комплексные удобрения с микроэлементами МикроФид Комплекс, Аквадон–Микро, Новоферт, которые применяли путём обработки семян и посевов мягкой яровой пшеницы сорта Дарья.

МикроФид-Комплекс – это универсальное комплексное жидкое микроудобрение с высоким содержанием глицерина, кремния и микроэлементов (**Mg, B, Cu, Mn, Zn**) в доступной хелатной форме. Препарат восполняет недостающие в почве и растениях элементы минерального питания. Рекомендуются для листовых подкормок в течение всего вегетационного периода, а также для предпосевной обработки семян. За счёт высокого содержания глицерина препарат обладает стимулирующим и защитным эффектом. Производитель – ООО Агрипрофи.

Аквадон–Микро представляет собой водно-полимерный высокомолекулярный комплекс, содержащий микроэлементы – железо, молибден, бор, кобальт, медь, цинк и марганец в хелатной форме. Аквадон–Микро содержит азотфиксирующий и фотосинтезирующий комплекс:  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Mo^{+6}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $B^{+3}$ , а также репродуктивно-защитный элемент –  $S^{+6}$ . Удобрение имеет высокий уровень экологической безопасности. Разработчик и производитель ООО «Оргполимерсинтез СПб» (г. Санкт Петербург).

Новоферт – водорастворимое комплексное (азотно-фосфорно-калийное) физиологически сбалансированное удобрение, содержащее

мезо- (магний, кальций, сера) и микроэлементы (медь, железо, цинк, марганец) в хелатной форме (хелатирующий агент ЭДТА), а также бор, молибден в минеральной форме. Новоферт является индуктором иммунитета растений, обладает адаптогенными свойствами, способствует антистрессовой устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды (засуха, заморозки и т. д.), характеризуется высокой химической чистотой и растворимостью, повышает урожайность и качество продукции. Производитель – ООО «Новоферт».

Почва опытного участка представлена чернозёмом типичным мощным тяжелосуглинистым. Содержание гумуса в пахотном слое – 6,1%, подвижного фосфора (по Чирикову) – 15,6 мг/100 г почвы, обменного калия (по Масловой) – 11,3 мг/100 г почвы. Реакция почвенной среды нейтральная (рН 6,5 ед.). По содержанию подвижных форм бора (0,34 мг/кг), меди (0,30 мг/кг), цинка (0,32 мг/кг), магния (4,50 мг-экв./100 г) почва опытного участка относится к среднеобеспеченной.

Метеорологические условия в годы проведения эксперимента были типичными для Курской области. Периоды вегетации яровой пшеницы 2017 и 2018 гг. выдались прохладными и влажными: среднесуточная температура апреля–июля на 0,3–0,2 °С ниже средней многолетней, при сумме осадков 110,7–126,5% от нормы. Среднесуточная температура апреля–июля 2019 г. была на 1,8 °С выше средней многолетней (14,2 °С), а сумма осадков составила 197,5 мм, или 91,9% от нормы (215 мм).

Полевые работы на опытном участке проводили в лучшие агротехнические сроки, технология возделывания яровой пшеницы – общепринятая в Курской области. Схема опыта включала в себя следующие варианты: 1) Контроль (без обработок); 2) МикроФид Комплекс, обработка семян (1,5 л/т) + опрыскивание посевов в фазах кущения и начало выхода в трубку (по 1,5 л/га); 3) Аквадон–Микро, обработка семян (2 л/т) + опрыскивание посевов в фазах кущения и начало выхода в трубку (по 2 л/га); 4) Новоферт, обработка семян (100 г/т) + опрыскивание посевов в фазах кущения и начало выхода в трубку (по 3,0 кг/га).

Уборку проводили самоходным комбайном «Сампо–500» прямым комбайнированием. В образцах зерна определяли содержание сырой клейковины (ГОСТ 54478-2011), массу зерна (ГОСТ 10840-2017), массу 1000 зёрен (ГОСТ 10842-89). Обработку экспериментальных данных осуществляли методом

дисперсионного анализа с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel.

## Результаты и обсуждение

Проведённые исследования свидетельствуют о том, что использование комплексных минеральных удобрений с микроэлементами для обработки семян яровой пшеницы способствовало активизации биохимических процессов в зерне при прорастании, увеличивало полевую всхожесть семян. Подсчёт растений яровой пшеницы после появления всходов показал, что в вариантах с обработкой семян микроэlementными удобрениями МикроФид Комплекс, Аквадон–Микро и Новоферт количество взойшедших растений яровой пшеницы на 1 м<sup>2</sup> в сравнении с контрольным вариантом повышалось на 18, 16 и 14 шт. при наименьшей существенной разности НСР<sub>05</sub>, равной 3,9 шт., а полевая всхожесть семян соответственно на 3,6; 3,2; 2,8% при НСР<sub>05</sub>, равной 1,4%.

Комплексные минеральные удобрения с микроэлементами обеспечивали лучшую структуру урожая яровой пшеницы. Так, при обработке семян и двукратной обработке посевов препаратами Новоферт и МикроФид Комплекс количество продуктивных стеблей возрастало до 518–520 шт./м<sup>2</sup>, озернёность колоса – до 29,1–29,2 шт., масса 1000 зёрен – до 31,3–31,6 г., натура зерна – до 765–768 г/л, при величине этих показателей в контрольном варианте – 495 шт./м<sup>2</sup>, 25,9 шт., 28,9 г и 761 г/л соответственно.

Влияние комплексного минерального удобрения с микроэлементами Аквадон–Микро при аналогичных способах применения на элементы структуры урожая яровой мягкой пшеницы было более значительным: количество продуктивных стеблей возрастало до 528 шт./м<sup>2</sup>, озернёность колоса – до 29,5 шт., масса 1000 зёрен – до 31,7 г., натура зерна – до 770 г/л (табл. 1).

Более высокие показатели структуры урожая в вариантах с использованием комплексных минеральных удобрений с микроэлементами обеспечили получение более высокой урожайности яровой пшеницы и качества зерна (табл. 2).

В среднем за годы исследований эффективность обработки семян и двукратной обработки посевов яровой пшеницы в фазе кущения и фазе выхода в трубку комплексными удобрениями с микроэлементами МикроФид Комплекс и Новоферт была примерно равной, прибавки урожая в сравнении с контролем составили 0,58–0,57 т/га, соответственно.

Таблица 1 / Table 1

Влияние комплексных минеральных удобрений с микроэлементами на элементы структуры урожая яровой пшеницы (2017–2019 гг.) / The effect of complex mineral fertilizers with microelements on the elements of the structure of the spring wheat crop (2017–2019)

Вариант Variant	Количество, продуктивных стеблей на 1 м <sup>2</sup> The number of ears per 1 m <sup>2</sup>	Количество зёрен в колосе, шт. Number of grains per ear, pcs.	Масса 1000 зёрен, г Mass of 1000 grains, g	Натура зерна, г/л Grain unit, g/L
1. Без обработки (контроль) Without fertilizer application (control sample)	495	25,9	28,9	761
2. МикроФид Комплекс (1,5 л/т) + МикроФид Комплекс (1,5 л/га) + МикроФид Комплекс (1,5 л/га) MicroFeed Complex (1.5 L/ton) + MicroFeed Complex (1.5 L/ha) + MicroFeed Complex (1.5 L/ha)	520	29,2	31,6	768
3. Аквадон–Микро (2 л/т) + Аквадон–Микро (2 л/га) + Аквадон–Микро (2 л/га) Aquadon Micro (2 L/ton) + Aquadon Micro (2 L/ha) + Aquadon Micro (2 L/ha)	528	29,5	31,7	770
4. Новоферт (100 г/т) + Новоферт (3 кг/га) + Новоферт (3 кг/га) Novofert (100 g/ton) + Novofert (3 kg/ha) + Novofert (3 kg/ha)	518	29,1	31,3	765
НСР <sub>05</sub>	10 шт. pcs.	1,5 шт. pcs.	0,9 г g	4,0 г/л g/L

Таблица 2 / Table 2

Влияние комплексных минеральных удобрений с микроэлементами на урожайность и качество зерна яровой пшеницы (2017–2019 гг.) / The effect of complex micronutrient-enriched fertilizers on the yield and grain quality of spring wheat (2017–2019)

Варианты Variant	Урожайность / Yield		Содержание клейковины, % Gluten content, %	Прибавка, % Increase, %
	т/га ton/ha	прибавка, т/га increase, ton/ha		
1. Без обработки (контроль) / Without fertilizer application (control sample)	3,87	–	20,9	–
2. МикроФид Комплекс (1,5 л/т) + МикроФид Комплекс (1,5 л/га) + МикроФид Комплекс (1,5 л/га) MicroFeed Complex (1.5 L/ton) + MicroFeed Complex (1.5 L/ha) + MicroFeed Complex (1.5 L/ha)	4,45	0,58	22,9	2,0
3. Аквадон–Микро (2 л/т) + Аквадон–Микро (2 л/га) + Аквадон–Микро (2 л/га) Aquadon Micro (2 L/ton) + Aquadon Micro (2 L/ha) + Aquadon Micro (2 L/ha)	4,62	0,75	22,7	1,8
4. Новоферт (100 г/т) + Новоферт (3 кг/га) + Новоферт (3 кг/га) Novofert (100 g/ton) + Novofert (3 kg/ha) + Novofert (3 kg/ha)	4,44	0,57	22,8	1,9
НСР <sub>05</sub>	0,22 т/га / ton/ha		0,6%	

Эффективность препарата Аквадон–Микро при аналогичных способах применения была несколько выше – 0,75 т/га при урожайности в контрольном варианте, равной 3,87 т/га.

Обработка семян комплексными удобрениями с микроэлементами в сочетании с двукратной обработкой посевов в фазе кущения и фазе выхода в трубку оказывала существенное влияние на содержание сырой клейковины в зерне яровой пшеницы. В вариантах с использованием препарата МикроФид Комплекс содержание сырой клейковины повышалось на 2,0%, Аквадон–Микро и Новоферт – на 1,8 и 1,9% соответственно.

Использование комплексных удобрений с микроэлементами на посевах яровой пшеницы повышало её урожайность и качество зерна, увеличивало стоимость валовой продукции и, учитывая невысокую стоимость самих удобрений и малые дозы их внесения, было экономически выгодно. Установлено, что лучшие экономические показатели при возделывании яровой пшеницы обеспечивало применение комплексного удобрения с микроэлементами Аквадон–Микро. Обработка семян (2,0 л/т) и двукратная обработка посевов в фазе куще-

ния (2,0 л/га) и фазе начало выхода в трубку (2,0 л/га) повышала урожайность яровой пшеницы на 0,75 т/га, увеличивала стоимость валовой продукции на 7500 руб./га, величину условно чистого дохода на 6170,0 руб./га, уровень рентабельности – на 22,2%, способствовала снижению себестоимости 1 т зерна на 626,86 руб. Экономическая эффективность комплексных удобрений с микроэлементами Новоферт и МикроФид Комплекс при аналогичных способах внесения была практически равной и несколько ниже эффективности микроэлементного удобрения Аквадон–Микро. Так, обработка семян и двукратная обработка посевов в фазе кущения и фазе начало выхода в трубку этими удобрениями повышала стоимость валовой продукции на 5700–5800 руб./га, величину условно чистого дохода на 4942–4770 руб./га, уровень рентабельности – на 18,9–17,9%, снижала себестоимость 1 т зерна на 541,62–513,93 руб. (табл. 3).

### Заключение

Таким образом, результаты проведённых испытаний свидетельствуют о высокой эффек-

Таблица 3 / Table 3

Экономическая эффективность использования комплексных удобрений с микроэлементами на посевах яровой пшеницы (2017–2019 гг.) / Economic efficiency of complex micronutrient-enriched fertilizers in spring wheat crops (2017–2019)

Вариант Variant	Урожайность, т/га Yield, ton/ha	Стоимость продукции, руб. The cost of products, rub.	Производственные затраты, руб. Production expenses, rub.	Себестоимость, руб./т Cost price, rub/ton	Чистый доход, руб./га Net income, rub/ha	Уровень рентабельности, % Profitability, %
1. Без обработки (контроль) / Without fertilizer application (control sample)	3,87	38700	21806,69	5634,80	16893,31	77,4
2. МикроФид Комплекс (1,5 л/т) + МикроФид Комплекс (1,5 л/га) + МикроФид Комплекс (1,5 л/га) MicroFeedComplex (1.5 L/ton) + MicroFeedComplex (1.5 L/ha) + MicroFeedComplex (1.5 L/ha)	4,45	44500	22664,69	5093,18	21835,31	96,3
3. Аквадон–Микро (2 л/т) + Аквадон–Микро (2 л/га) + Аквадон–Микро (2 л/га) Aquadon Micro (2 L/ton) + Aquadon Micro (2 L/ha) + Aquadon Micro (2 L/ha)	4,62	46200	23136,69	5007,94	23063,31	99,6
4. Новоферт (100 г/т) + Новоферт (3 кг/га) + Новоферт (3 кг/га) Novofert (100 g/ton) + Novofert (3 kg/ha) + Novofert (3 kg/ha)	4,44	44400	22736,69	5120,87	21663,31	95,3

тивности и экологической целесообразности применения комплексных удобрений с микроэлементами на посевах яровой пшеницы в условиях чернозёмных почв Курской области, вследствие высокой физиологической сбалансированности в них элементов минерального питания, лучшей их усвояемости и невысоких доз внесения. Использование микроэlementных удобрений Аквадон–Микро, МикроФид Комплекс и Новоферт при обработке семян и посевов в фазах «кущение» и «начало выхода в трубку» повышало урожайность яровой пшеницы на 0,57–0,75 т/га, или 14,7–19,4%, содержание сырой клейковины в зерне – на 1,8–2,0%. Лучшие экономические показатели при возделывании яровой пшеницы обеспечивало применение комплексного удобрения с микроэлементами Аквадон–Микро.

*Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБНУ «Курский федеральный аграрный научный центр» по теме № 0632-2019-0010.*

### Литература

1. Кирюшин В.И., Кирюшин С.В. Агротехнологии. С-Пб.: Лань, 2015. 463 с.
2. Сычев В.Г., Аристархов А.Н., Яковлева Т.А. Цинк в агроэкосистемах России: мониторинг и эффективность применения. М.: ВНИИА, 2015. 203 с.
3. Kabata A. Trace elements in soils and plants. 4th ed. London–N.Y.: CRC Press Taylor and Francis Group Boca Raton, 2011. 534 p.
4. Maze P. Determination des elements mineraux rares necessaries a development du mais // Comptes Rendus de l'Academie des Science. 1915. V. 160. P. 211–214.
5. Arshad Ullah M., Sarfraz M., Sadiq M., Mehdi S.M., Hassan G. Effects of pre-sowing seed treatments with micronutrients on growth parameters of Raya // Asian Journal of Plant Sciences. 2012. No. 1 (4). P. 22–23.
6. Бэлл Р.В., Дэлл Б. Роль микроэлементов в устойчивом производстве продовольствия, кормов, волокна и биоэнергии. М.: Международный институт питания растений, 2017. 244 с.
7. Матяш И.С., Рыбина В.Н. Влияние гуминовых и микроудобрений на урожайность зерна ярового ячменя // Материалы XXII международной научно-производственной конференции «Органическое сельское хозяйство проблемы и перспективы» в 2 томах. Майский: Изд-во ФГБОУ ВО Белгородский ГАУ, 2018. Т. 1. С. 133.
8. Feng J., Guihua B., Dadong Z., Yanhong D., Lingjian M., Bockus W., Dowell F. Fusarium-damaged kernels and deoxynivalenol in Fusarium-infected U.S. winter wheat // Phytopathology. 2014. V. 104. P. 472–478.

9. Papouskova J., Capouchova I., Kostelanska M., Škeřiková A., Prokinová E., Hajšlová J. Changes in baking quality of winter wheat with different intensity of *Fusarium* spp. contamination detected by means of new rheological system Mixolab // Czech Journal of Food Sciences. 2011. V. 29. No. 4. P. 420–429.

10. Franzen D.W., McMullen M.V., Mosset D.S. Spring wheat and durum yield and disease responses to copper fertilization of mineral soils // Agronomy journal. 2008. V. 100. No. 2. P. 371–375.

11. Шеуджен А.Х., Бондарева Т.Н., Кизинек С.В. Агрохимические основы применения удобрений. Майкоп: Полиграф-Юг, 2013. 572 с.

12. Митрохина О.А., Проценко Е.П. Влияние способа применения микроэлементов на их вынос и урожайность озимой пшеницы // Земледелие. 2013. № 5. С. 15–16.

13. Isaychev V.A., Andreev N.N., Polovinkin V.G., Antonova S.V. The formation of crop yield grain quality in winter wheat in depends on application of mineral fertilizers and growth regulators // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2017. V. 8. No. 2. P. 1974–1983.

14. Ксенз А.Я., Камбулов С.И., Дёмина Е.Б. Влияние микроэlementных удобрений на продуктивность озимой пшеницы // Вестник аграрной науки Дона. 2016. № 4. С. 69–77.

15. Лазарев В.И., Минченко Ж.Н. Эффективность микроэlementных удобрений марки МикроФид при обработке семян и посевов яровой пшеницы в условиях чернозёмных почв Курской области // Земледелие. 2020. № 3. С. 20–23.

### References

1. Kiryushin V.I., Kiryushin S.V. Agrotechnology. Sankt-Peterburg: Lan, 2015. 446 p. (in Russian).
2. Sychev V.G., Aristarkhov A.N., Yakovleva T.A. Zinc in Russian agroecosystems: monitoring and application efficiency. Moskva: VNIIA, 2015. 203 p. (in Russian).
3. Kabata A. Trace elements in soils and plants. 4th ed. London–N.Y.: CRC Press Taylor and Francis Group Boca Raton, 2011. 534 p. doi: 10.1017/S0014479711000743
4. Maze P. Determination des elements mineraux rares necessaries a development du mais // Comptes Rendus de l'Academie des Science. 1915. V. 160. P. 211–214.
5. Arshad Ullah M., Sarfraz M., Sadiq M., Mehdi S.M., Hassan G. Effects of pre-sowing seed treatments with micronutrients on growth parameters of Raya // Asian Journal of Plant Sciences. 2012. No. 1 (4). P. 22–23. doi: 10.3923/ajps.2002.22.23
6. Bell R.V., Dell B. The role of trace elements in the sustainable production of food, feed, fiber and bioenergy. Moskva: Mezhdunarodnyy institute pitaniyarasteniy, 2017. 244 p. (in Russian).
7. Matyash I.S., Rybina V.N. Effect of humic and micronutrient fertilizers on spring barley grain productivity //

Materials of the XXII International Scientific-Industrial Conference “Organic Agriculture Problems and Prospects” in 2 volumes. Maisky: Izdatelstvo FGBOUVO Belgorodskiy GAU, 2018. V. 1. P. 133 (in Russian).

8. Feng J., Guihua B., Dadong Z., Yanhong D., Lingjian M., Bockus W., Dowell F. Fusarium-damaged kernels and deoxynivalenol in Fusarium-Infected U.S. winter wheat // *Phytopathology*. 2014. V. 104. P. 472–478. doi: 10.1094/PHYTO-07-13-0187-R

9. Papouškova J., Capouchova I., Kostelanska M., Škeříková A., Prokinová E., Hajšlová J. Changes in baking quality of winter wheat with different intensity of *Fusarium* spp. contamination detected by means of new rheological system Mixolab // *Czech Journal of Food Sciences*. 2011. V. 29. No. 4. P. 420–429. doi: 10.17221/426/2010-CJFS

10. Franzen D.W., McMullen M.V., Mosset D.S. Spring wheat and durum yield and disease responses to copper fertilization of mineral soils // *Agronomy journal*. 2008. V. 100. No. 2. P. 371–375. doi: 10.2134/agrojn12007.0200

11. Sheujen A.Kh., Bondareva T.N., Kizinek S.V. Agrochemical basis for the use of fertilizers. Maykop: Poligraf-Yug, 2013. 572 p. (in Russian).

12. Mitrokhina O.A., Protsenko E.P. Influence of the method of using micro-elements on their removal and yield of winter wheat // *Zemledelie*. 2013. No. 5. P. 15–16 (in Russian).

13. Isaychev V.A., Andreev N.N., Polovinkin V.G., Antonova S.V. The formation of crop yield grain quality in winter wheat in depends to application of mineral fertilizers and growth regulators // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2017. V. 8. No. 2. P. 1974–1983. doi: 10.18286/1816-45-2017-4-9-13

14. Ksenz A.Ya., Kambulov S.I., Dyomina E.B. The effect of micronutrient fertilizers on the productivity of winter wheat // *Vestnik agrarnoy nauki Dona*. 2016. No. 4. P. 69–77 (in Russian).

15. Lazarev V.I., Minchenko Zh.N. The effectiveness of micronutrient fertilizers brand MicroFid in the processing of seeds and crops of spring wheat in the conditions of chernozem soils of the Kursk region // *Zemledelie*. 2020. No. 3. P. 20–23 (in Russian). doi: 10.24411/0044-3913-2020-10205



## Влияние подкисления навозных стоков на их микробиологические характеристики

© 2020. Л. В. Пилип<sup>1</sup>, к. в. н., доцент,  
В. А. Козвонин<sup>2,3</sup>, к. м. н., с. н. с.,  
Н. В. Сырчина<sup>2</sup>, к. х. н., доцент, с. н. с.,  
Е. П. Колеватых<sup>3</sup>, к. м. н., доцент, зав. кафедрой,  
Т. Я. Ашихмина<sup>2,4</sup>, д. т. н., профессор, г. н. с., зав. лабораторией,

<sup>1</sup>Вятская государственная сельскохозяйственная академия,  
610017, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 133,

<sup>2</sup>Вятский государственный университет,  
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,

<sup>3</sup>Кировский государственный медицинский университет,  
610000, Россия, г. Киров, ул. К. Маркса, д. 112,

<sup>4</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,  
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,  
e-mail: nvms1956@mail.ru, pilip\_larisa@mail.ru, ecolab2@gmail.com

Современное промышленное животноводство является серьёзным источником химического и биологического загрязнения окружающей среды. Особую экологическую опасность представляют навоз животных и навозные стоки в период их накопления и хранения до момента утилизации или внесения в почву. Процессы микробиологической деструкции этих отходов приводят к образованию широкого спектра загрязняющих веществ, в том числе парниковых газов, аммиака, токсичных соединений серы и др. Одним из наиболее простых способов снижения микробиологической активности является подкисление навозных стоков. В результате выполненных экспериментальных исследований установлено, что обработка навозных стоков свиноферм (рН > 6,3) раствором отходной серной кислоты до рН 5,3 приводит к уменьшению количества микроорганизмов в соответствующем отходе в 2,2 раза на 7-е сутки и в 7,8 раза на 14-е сутки эксперимента по сравнению с контрольным (неподкисленным) вариантом. Подкисление приводит к исчезновению *Staphylococcus aureus* и *Proteus* spp., а также резкому снижению численности *Peptostreptococcus* sp. и *Peptoniphilus* sp. в опытных образцах. Внедрение технологии подкисления навозных стоков на крупных свинокомплексах позволит улучшить санитарно-эпидемиологическую и экологическую обстановку в местах их размещения.

**Ключевые слова:** свиной навоз, микроорганизмы, экология животноводства, обработка навоза, серная кислота.

## Effects of acidifying manure effluent on its microbiological characteristics

© 2020. L. V. Pilip<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-9695-7146, V. A. Kozvonin<sup>2,3</sup> ORCID: 0000-0002-2447-6949,  
N. V. Syrchina<sup>2</sup> ORCID: 0000-0001-8049-6760, E. P. Kolevatykh<sup>3</sup> ORCID: 0000-0001-6147-3555,  
T. Ya. Ashikhmina<sup>2,4</sup> ORCID: 0000-0003-4919-0047

<sup>1</sup>Vyatka State Agricultural Academy,  
133, Oktyabrsky Prospekt, Kirov, Russia, 610017,

<sup>2</sup>Vyatka State University,  
36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,

<sup>3</sup>Kirov State Medical University,  
112, Karla Marksa St., Kirov, Russia, 610000,

<sup>4</sup>Institute of Biology of Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS,  
28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,  
e-mail: nvms1956@mail.ru, pilip\_larisa@mail.ru, ecolab2@gmail.com

Modern industrial animal husbandry is a significant source of chemical and biological pollution of the environment. Animal manure and slurry present a particular environmental danger during their accumulation and storage until their disposal or application into the soil. The process of microbiological destruction of these wastes results in a wide range of

pollutants being formed, including greenhouse gases, ammonia, toxic sulfur compounds, and others. One of the easiest ways to reduce microbiological activity is the acidification of manure effluent. As a result of experimental studies, it has been found that the treatment of pig slurry with a solution of waste sulfuric acid with a pH of 6.4 to 5.3 leads to a decrease in the number of microorganisms in the treated wastes by 2.2 times on the 7th day and by 7.8 times on the 14th day of the experiment as compared to the control (non-acidified) samples. Acidification results in the elimination of *Staphylococcus aureus* and *Proteus* sp., as well as a sharp decrease in the number of *Peptostreptococcus* sp. and *Peptoniphilus* sp. in test samples. Implementing techniques for manure acidification on industrial pig farms will improve the sanitary, epidemiological and environmental situation in their locations.

**Keywords:** pig manure, microorganisms, livestock ecology, manure processing, sulfuric acid.

Современное промышленное животноводство является одним из ведущих источников негативного воздействия на окружающую среду (ОС). К экологическим проблемам, обусловленным функционированием крупных животноводческих комплексов, прежде всего, относятся выброс загрязняющих веществ, способствующих изменению климата, образование отходов, приводящих к химическому и биологическому загрязнению атмосферы, водных объектов и почвы, а также существенное ухудшение качества жизни населения, проживающего на территориях, прилегающих к животноводческим предприятиям [1–3]. Химическое и биологическое загрязнение непосредственно связаны между собой. Навоз животных является питательной средой для развития многочисленных групп микроорганизмов (МО), в том числе патогенных. Активная микробиологическая деструкция органических компонентов происходит на всём пути движения навозных стоков от мест образования до мест использования или утилизации. В настоящее время навоз чаще всего используется в качестве органического удобрения. В почвенных системах (при умеренных нормах внесения соответствующего удобрения) продукты минерализации органических веществ усваиваются растениями и почвенной биотой, благодаря чему негативное воздействие отхода на ОС снижается. Основную экологическую опасность навозные стоки представляют в период их накопления и хранения. Этот период в жизненном цикле отхода является наиболее продолжительным. Загрязняющие вещества, образующиеся в результате микробиологических процессов разложения (аммиак, сероводород, меркаптаны, углекислый газ, метан, летучие органические кислоты, спирты, фенолы и др.), практически беспрепятственно попадают в ОС [4]. Уменьшить эмиссию загрязняющих веществ в этот период можно за счёт регулирования активности и видового состава развивающихся в навозе МО-деструкторов. Исследования в данном направлении приобретают в последние годы особую актуальность

и практическую значимость [5–7]. Результаты соответствующих исследований имеют большое значение для оптимизации систем управления биогенными отходами и снижения негативных экологических последствий, обусловленных деятельностью животноводческих предприятий.

Цель настоящей работы состояла в изучении трансформации микробиологических характеристик навозных стоков свинокомплексов при подкислении соответствующего отхода раствором серной кислоты.

### Объекты и методы исследования

Исследования проводились в научно-исследовательских лабораториях Вятской ГСХА, Кировского ГМУ и на базе свиноводческих комплексов Кировской области. Объектами исследования явились свежий (нативный) навоз и навозные стоки свиней 2-месячного возраста. Животные содержались на щелевых пластиковых полах без подстилки. Навозные стоки поступали в навозные ванны, расположенные в подпольном пространстве помещений. Каждые 7–14 дней ванны освобождались путём открытия заслонки пробкового типа (самосплавная система удаления навоза).

Образцы свежего навоза для выполнения исследований отбирали непосредственно после акта дефекации животных. Пробы навозных стоков брали из навозных ванн на 4-й день после их частичного опорожнения. Замер температуры в навозных ваннах производили на глубине 5 см с помощью температурного датчика. Сбор материала осуществляли в стерильные ёмкости.

Для подкисления проб использовали серную кислоту (массовая доля  $H_2SO_4$  87%), образующуюся в качестве отхода производства хлора электрохимическим методом (ООО «ГалоПолимер Кирово-Чепецк»). Кроме серной кислоты, в подкисляющем агенте содержался свободный хлор (0,01% масс.). Из исходной кислоты методом разбавления готовили рабочий раствор с массовой долей

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 8,7%. Исследования осуществляли при температуре 23,5±0,5 °С, что соответствовало температурному режиму в навозных ваннах. Подкисление проб проводили до рН 5,3±0,1, так как более низкие значения рН вызывают коррозию технологического оборудования. Масса каждой из проб навоза и навозных стоков, используемых для выполнения исследований, составила 0,1 кг. Влажность навоза – 83±2%; навозных стоков – 97±1%; рН образцов свежего (нативного) навоза – 7,6±0,1; навозных стоков – 6,4±0,1.

О количественном и качественном составе микрофлоры судили по результатам микробиологических исследований. Образцы отходов доставлялись в микробиологическую лабораторию в стерильной посуде на 1-й, 7-й и 14-й дни исследования. В лаборатории проводили ряд серийных десятикратных разведений и осуществляли высеивание исследуемого материала на стандартные питательные среды с последующей идентификацией МО. Пробы

инкубировали при 37 °С в течение 24–72 часов. Для создания анаэробных условий использовали микроанаэроостат с применением газогенераторных пакетов для поглощения кислорода и образования углекислого газа. Подсчёт выросших колоний (КОЕ/мл) осуществляли глубинным, поверхностным, двухслойным или модифицированным агаровым чашечным методом (ОФС.1.7.2.0008.15 Определение концентрации микробных клеток). Из каждого разведения производили посев на набор чашек с плотной питательной средой методом параллельных высеиваний. При учёте результатов определяли среднее количество колоний, выросших при посеве каждого разведения. Для получения достоверных результатов отбирали чашки, где число колоний бактерий находилось в пределах от 30 до 300, а колоний грибов – от 10 до 100. Для бактериоскопических исследований из колоний МО готовили фиксированные препараты на предметном стекле, окрашивали методом Грама, приме-

Таблица 1 / Table 1  
Микробиоценоз навозных стоков и свиного навоза, КОЕ/мл  
Microbiocenosis of pig manure and slurry, CFU/mL

№ п/п	Микроорганизмы Microorganisms	Свежий навоз Pig manure	Навозные стоки Pig slurry
Факультативные аэробы / Facultative aerobes			
1.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	(7±0,9) · 10 <sup>5</sup>	(7±0,4) · 10 <sup>5</sup>
2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	(7±0,6) · 10 <sup>5</sup>	(5±0,7) · 10 <sup>4</sup>
3.	<i>Enterococcus</i> sp.	(8±0,9) · 10 <sup>6</sup>	(6±0,3) · 10 <sup>6</sup>
4.	<i>Escherichia coli</i>	(5±1,2) · 10 <sup>6</sup>	(5±0,4) · 10 <sup>6</sup>
5.	<i>Klebsiella</i> sp.	(6±0,7) · 10 <sup>5</sup>	(7±0,5) · 10 <sup>6</sup>
6.	<i>Proteus</i> spp.	(6±0,5) · 10 <sup>5</sup>	(6±0,9) · 10 <sup>5</sup>
7.	<i>Enterococcus</i> spp.	(7±0,9) · 10 <sup>6</sup>	отсутствуют / not found
8.	<i>Sarcina ventriculi</i>	(5±0,3) · 10 <sup>4</sup>	
Анаэробы / Anaerobes			
9.	<i>Clostridium</i> spp.	(7±0,8) · 10 <sup>6</sup>	(7±0,2) · 10 <sup>5</sup>
10.	<i>Bacteroides fragilis</i>	(7±0,6) · 10 <sup>6</sup>	(5±0,7) · 10 <sup>6</sup>
11.	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	(7±0,3) · 10 <sup>4</sup>	(5±0,3) · 10 <sup>6</sup>
12.	<i>Prevotella</i> ( <i>P. bivia</i> , <i>P. intermedia</i> )	(8±0,7) · 10 <sup>5</sup>	(7±0,9) · 10 <sup>5</sup>
13.	<i>Alistipes putredinis</i> ( <i>A. putredinis</i> )	(7±0,6) · 10 <sup>5</sup>	(5±0,6) · 10 <sup>4</sup>
14.	<i>Peptococcus</i> sp. ( <i>P. niger</i> )	(5±0,3) · 10 <sup>6</sup>	отсутствует / not found
15.	<i>Peptostreptococcus</i> sp. ( <i>P. anaerobius</i> )	(7±0,8) · 10 <sup>6</sup>	(7±0,3) · 10 <sup>9</sup>
16.	<i>Peptoniphilus</i> sp. ( <i>P. asaccharolyticus</i> )	(5±0,7) · 10 <sup>9</sup>	(5±0,9) · 10 <sup>9</sup>
17.	<i>Veillonella parvula</i>	(8±0,6) · 10 <sup>3</sup>	отсутствуют / not found
18.	<i>Acidaminococcus fermentans</i>	(7±0,3) · 10 <sup>5</sup>	
19.	<i>Anaerococcus prevotii</i>	(7±0,9) · 10 <sup>6</sup>	
20.	<i>Bifidobacterium</i> spp.	(6±0,2) · 10 <sup>9</sup>	
21.	<i>Lactobacillus</i> spp.	(7±0,6) · 10 <sup>8</sup>	
Грибы / Fungi			
22.	<i>Saccharomyces</i> spp.	(6±0,9) · 10 <sup>8</sup>	отсутствует / not found
23.	<i>Candida</i> sp.	(8±0,3) · 10 <sup>8</sup>	(8±0,7) · 10 <sup>3</sup>

няли иммерсионную световую микроскопию. Эксперимент проводили в 3-х повторностях. Статистический анализ экспериментальных данных выполняли в программном комплексе STATISTICA.

### Результаты и обсуждение

Данные микробиологического анализа отобранных образцов навоза и навозных стоков приведены в таблице 1.

Согласно полученным данным, видовой состав МО свежего свиного навоза более разнообразен, чем видовой состав навозных стоков, что, возможно, обусловлено использованием дезинфектантов для обработки навозных ванн в период их полного опорожнения и неблагоприятными условиями для существования некоторых видов МО вне живого организма. Важную роль в разложении компонентов навоза и газообразовании играют анаэробные или факультативно анаэробные виды бактерий, что обусловлено анаэробными условиями толстого кишечника свиней. Для питания МО используют различные субстраты, содержащие белки и некрахмальные полисахариды [8]. Так, согласно нашим исследованиям, в свежем свином навозе выявлено 12 видов бактерий анаэробов и 10 видов факультативных аэробов с преобладанием *Bifidobacterium* spp., *Peptoniphilus asaccharolyticus* и *Lactobacillus* spp. Полученные результаты отчасти согласуются с данными других исследований [9], в которых отмечается, что наиболее доминирующими родами в свежем свином навозе являются *Clostridium*, *Turicibacter*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* и *Corynebacterium*.

В результате наших исследований в навозных стоках выделено 6 видов анаэробов и 7 видов факультативных аэробов, при этом стоки характеризуются отсутствием анаэробных кокков *Bifidobacterium* spp., *Peptococcus* sp., *Veillonella parvula*, *Acidaminococcus fermentans*, *Anaerococcus prevotii* и факультативных аэробных кокков *Enterococcus* spp., *Sarcina venticuli*, а также анаэробных палочек *Lactobacillus* spp. и грибов *Saccharomyces* spp. Вместе с тем, в навозных стоках, по сравнению с навозом, увеличивается численность таких МО, как *Klebsiella* sp., *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus* sp. (*P. anaerobius*). Данные МО могут обладать повышенной устойчивостью к антимикробным препаратам, что повышает их опасность в плане биологического загрязнения ОС. В феврале 2017 г. ВОЗ причислила клебсиеллы (*Klebsiella* sp.) к наиболее опасным бактериям

в связи с резистентностью к существующим антибиотикам [10].

В качестве факторов, ограничивающих микробиологические процессы разложения навоза, выступают температура, наличие/отсутствие кислорода, pH, наличие субстрата для питания [9, 11–13]. Создание условий, ограничивающих размножение данных бактерий, может способствовать снижению интенсивности биологического загрязнения ОС и уменьшению выбросов загрязняющих веществ в атмосферу [14, 15]. Наиболее простым и экономичным способом снижения численности МО в биогенных отходах и, следовательно, интенсивности процессов разложения органического субстрата, является регулирование pH. Подкисление навоза оказывает неблагоприятное воздействие на активность не кислотоустойчивых микроорганизмов, в процессе жизнедеятельности которых образуются дурнопахнущие органические вещества, парниковые газы, аммиак.

Влияние подкисления на общее количество МО в образцах навозных стоков представлено на рисунке.

Согласно полученным данным, в процессе хранения навозных стоков отмечается снижение общего количества МО как в опытной, так и контрольной группе образцов. На 7-е сутки исследований общее количество МО снизилось в опытном образце в 3,8 раза, в контрольном – в 1,8 раза по сравнению с 1-ми сутками. На 14-е сутки в опытном образце разница стала более существенной, и составила  $0,99 \cdot 10^9$  КОЕ/мл, что в 12 раз ниже начального уровня. В контрольном образце количество МО достигло  $7,76 \cdot 10^9$  КОЕ/мл (в 1,6 раза ниже исходного уровня). Подкисление навоза привело к уменьшению количества МО в 2,2 раза на 7-е сутки и в 7,8 раза на 14-е сутки в опытном образце по отношению к контрольному. В таблице 2 приведены данные о влиянии подкисления на микробиоценоз навозных стоков.

Отдельные виды МО (*Enterococcus* sp., *Klebsiella* sp., *P. bivia*, *P. intermedia*, *Alistipes putredinis*), присутствующие в стоках изначально, не обнаруживаются на 7-е и 14-е сутки ни в опытной, ни в контрольной группах. Данное явление может быть связано с отсутствием соответствующего пищевого субстрата для данных видов МО и изменением физико-химических параметров среды обитания вне организма животных. Количество *S. epidermidis* возрастает незначительно и не имеет значимых отличий в пробах из опытной и контрольной групп. При этом более опасный

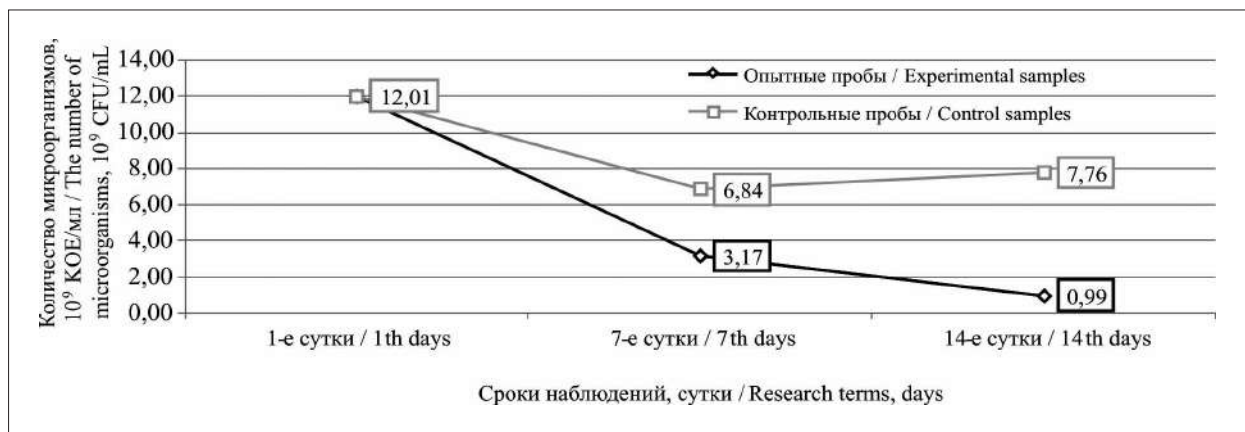


Рис. Влияние подкисления на общее количество микроорганизмов, 10<sup>9</sup> КОЕ/мл  
 Fig. Effect of acidification on the total number of microorganisms, 10<sup>9</sup> CFU/mL

Таблица 2 / Table 2  
 Влияние подкисления на микробиоценоз навозных стоков, КОЕ/мл  
 The effect of acidification on the microbiocenosis of pig slurry, CFU/mL

№ п/п	Микроорганизмы Microorganisms	Исходное число микроорганизмов Initial microbial population	Опытные пробы Test samples		Контрольные пробы Control samples	
			0-й день 0th day	7-й день 7th day	14-й день 14th day	7-й день 7th day
Факультативные аэробы / Facultative aerobes						
1.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	$(7 \pm 0,4) \cdot 10^5$	$(6 \pm 0,8) \cdot 10^{7**}$	$(5 \pm 0,9) \cdot 10^{6*}$	$(6 \pm 0,3) \cdot 10^{6*}$	$(7 \pm 0,4) \cdot 10^{6*}$
2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	$(5 \pm 0,8) \cdot 10^4$	отсутствует / not found		$(5 \pm 0,6) \cdot 10^4$	$(8 \pm 0,3) \cdot 10^4$
3.	<i>Enterococcus</i> sp.	$(6 \pm 0,9) \cdot 10^6$	отсутствует / not found			
4.	<i>Escherichia coli</i>	$(5 \pm 0,7) \cdot 10^6$	$(5 \pm 0,2) \cdot 10^6$	$(6 \pm 0,2) \cdot 10^{7*}$	$(7 \pm 0,6) \cdot 10^{7*}$	$(8 \pm 0,5) \cdot 10^{9**}$
5.	<i>Klebsiella</i> sp.	$(7 \pm 0,3) \cdot 10^6$	отсутствует / not found			
6.	<i>Proteus</i> spp.	$(6 \pm 0,5) \cdot 10^5$	отсутствует / not found		$(6 \pm 0,8) \cdot 10^{7*}$	$(6 \pm 0,8) \cdot 10^{7**}$
Анаэробы / Anaerobes						
7.	<i>Clostridium</i> spp.	$(7 \pm 0,9) \cdot 10^5$	$(6 \pm 0,7) \cdot 10^{7**}$	$(7 \pm 0,5) \cdot 10^{8**}$	$(7 \pm 0,9) \cdot 10^{9***}$	$(6 \pm 0,9) \cdot 10^{9**}$
8.	<i>Bacteroides fragilis</i>	$(5 \pm 0,3) \cdot 10^6$	$(6 \pm 0,4) \cdot 10^{6*}$	$(7 \pm 0,6) \cdot 10^{6*}$	$(7 \pm 0,3) \cdot 10^{7*}$	$(8 \pm 0,2) \cdot 10^{7*}$
9.	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	$(5 \pm 0,7) \cdot 10^6$	$(7 \pm 0,3) \cdot 10^6$	$(5 \pm 0,6) \cdot 10^{8*}$	$(5 \pm 0,8) \cdot 10^{7*}$	$(7 \pm 0,3) \cdot 10^{8**}$
10.	<i>Prevotella</i> ( <i>P. bivia</i> , <i>P. intermedia</i> )	$(7 \pm 0,3) \cdot 10^5$	отсутствует / not found			
11.	<i>Alistipes putredinis</i> ( <i>A. putredinis</i> )	$(5 \pm 0,4) \cdot 10^4$	отсутствует / not found			
12.	<i>Peptostreptococcus</i> sp. ( <i>P. anaerobius</i> )	$(7 \pm 0,6) \cdot 10^9$	$(7 \pm 0,9) \cdot 10^6$	$(6 \pm 0,7) \cdot 10^{5***}$	$(8 \pm 0,3) \cdot 10^{7*}$	$(6 \pm 0,5) \cdot 10^{7**}$
13.	<i>Peptoniphilus</i> sp. ( <i>P. asaccharolyticus</i> )	$(5 \pm 0,9) \cdot 10^9$	$(6 \pm 0,3) \cdot 10^{5**}$	$(8 \pm 0,4) \cdot 10^{6**}$	$(5 \pm 0,2) \cdot 10^{6*}$	$(7 \pm 0,9) \cdot 10^{5**}$
Грибы / Fungi						
14.	<i>Candida</i> sp.	$(8 \pm 0,7) \cdot 10^3$	$(8 \pm 0,5) \cdot 10^{7**}$	$(7 \pm 0,4) \cdot 10^{6**}$	$(6 \pm 0,5) \cdot 10^{7**}$	$(7 \pm 0,6) \cdot 10^{6**}$

Примечание: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  – в сравнении с исходной численностью микроорганизмов.  
 Note: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  as compared to initial microbial population.

в эпидемиологическом отношении *S. aureus* полностью исчезает в подкисленных до pH 5,3 образцах на 7-е и 14-е сутки, давая рост в контрольных, с небольшим увеличением в сравнении с исходным уровнем. Аналогичная картина отмечена и для *Proteus* spp. Протеи рассматривают как показатель фекального загрязнения ОС. Среди свойств данных МО наиболее интересна способность синтезировать индолы и фермент уреазу, которая, в свою очередь, расщепляет мочевины с образованием аммиака. Подкисление приводит к снижению количества колоний, а, следовательно, и уменьшению газообразования.

Рост *E. coli*, *Clostridium* spp., *B. fragilis*, *F. nucleatum* более интенсивен в контрольных образцах, хотя умеренное увеличение количества бактерий в сравнении с исходным уровнем фиксируется и в опытной группе. Бактерии данных родов активно продуцируют летучие жирные кислоты, аммиак и летучие амины, а также индолы и фенолы. Снижение pH навозных стоков способствует подавлению активности соответствующих МО и, соответственно, уменьшению образования газообразных загрязняющих веществ в целом. Следует отметить резкое снижение количества *Peptostreptococcus* sp. и *Peptoniphilus* sp. в подкисленных образцах, особенно на 14-е сутки в сравнении с исходным уровнем. Данная тенденция наблюдается и в группах контроля, однако менее выражена. Количество грибов рода *Candida* значительно увеличивается на 7-е сутки в опытных образцах по сравнению с исходным уровнем и пробами группы контроля.

### Заключение

Микробиологическое разнообразие нативного свиного навоза и навозных стоков отличается как в количественном, так и видовом составе. Свежий навоз более разнообразен по видовому составу, в нём было выделено 12 видов анаэробных и 10 факультативно аэробных бактерий с преобладанием *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Peptoniphilus* sp. Микробиоценоз навозных стоков представлен 6 видами анаэробов и 7 видами факультативных аэробов преимущественно *Peptostreptococcus* sp. и *Peptoniphilus* sp. В нём отсутствуют *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Peptococcus* sp., *Veillonella parvula*, *Acidaminococcus fermentans*, *Anaerococcus prevotii*, *Enterococcus* spp. В навозных стоках, по сравнению с навозом, увеличивается численность *Klebsiella* sp., *Fu-*

*sobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus* sp. (*P. anaerobius*).

Применение методики подкисления свиных навозных стоков до pH 5,3 достоверно уменьшает общее количество МО в 2,2 раза на 7-е сутки и в 7,8 раза на 14-е сутки. Из навозных стоков полностью исчезают имеющие санитарно-эпидемиологическое значение *Staphylococcus aureus* и *Proteus* spp., а также уменьшается количество *Peptostreptococcus* sp., *Escherichia coli*, *Clostridium* spp., *B. fragilis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptoniphilus* sp.

Использование технологии подкисления навозных стоков на свиноводческих предприятиях позволит существенно уменьшить экономические затраты на вентилирование и отопление помещений для содержания животных и улучшить санитарно-эпидемиологические показатели отходов свиноводства, что в свою очередь снизит экологическую нагрузку на ОС.

*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. Powers W.J. Keeping science in environmental regulations: the role of the animal scientist // Journal of Dairy Science. 2003. V. 86. No. 4. P. 1045–1051. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73688-1
2. Zhu J. A review of microbiology in swine manure odor control // Agriculture, Ecosystems and Environment. 2000. V. 78. P. 93–106. doi: 10.1016/S0167-8809(99)00116-4
3. Cook K.L., Rothrock Jr.M.J., Loughrin J.H., Doerner K.C. Characterization of skatole-producing microbial populations in enriched swine lagoon slurry // FEMS Microbiology Ecology. 2007. V. 60. No. 2. P. 329–340. doi: 10.1111/j.1574-6941.2007.00299.x
4. Whitehead T.R., Cotta M.A. Isolation and identification of hyper-ammonia producing bacteria from swine manure storage pits // Current Microbiology. 2004. V. 48. No. 1. P. 20–26. doi: 10.1007/s00284-003-4084-7
5. Whitehead T.R., Cotta M.A. Characterisation and comparison of microbial populations in swine faeces and manure storage pits by 16S rDNA gene sequence analyses // Anaerobe. 2001. V. 7. No. 4. P. 181–187. doi: 10.1006/anae.2001.0388
6. Terentyev Yu.N., Syrchina N.V., Ashikhmina T.Ya., Pilip L.V. Reducing the emission of odorous substances in industrial pig breeding enterprises // Theoretical and Applied Ecology. 2019. No. 2. P. 113–120 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-2-113-120

7. Cotta M.A., Whitehead T.R., Zeltwanger R.L. Isolation, characterization and comparison of bacteria from swine faeces and manure storage pits // *Environ Microbiol.* 2003. V. 5. No. 9. P. 737–745. doi: 10.1046/j.1467-2920.2003.00467
8. Mackie R.I., Stroot P.G., Varel V.H. Biochemical identification and biological origin of key odor components in livestock waste // *Journal of Animal Science.* 1998. No. 76. P. 1331–1373. doi: 2527/1998.7651331
9. Lim J., Yang S.H., Kim B., Lee E.Y. Comparison of microbial communities in swine manure at various temperatures and storage times // *Environment and Management Asian-Australasian Journal of Animal Sciences.* 2018. V. 31. No. 8. P. 1373–1380. doi: 10.5713/ajas.17.0704
10. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed [Internet resource] <https://www.who.int/en/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> (Accessed: 30.05.2020).
11. Marti R., Dabert P., Pourcher A., Pig C. Manure contamination marker selection based on the influence of biological treatment on the dominant fecal microbial groups // *Applied and Environmental Microbiology.* 2009. V. 75. No. 15. P. 4967–4974. doi: 10.1128/AEM.01895-09
12. Zhang D., Yuan X., Guo P., Suo Y., Wang X., Wang W., Cui Z. Microbial population dynamics and changes in main nutrients during the acidification process of pig manures // *J. Environ. Sci. (China).* 2011. No. 23. P. 497–505. doi: 10.1016/s1001-0742(10)60434-2
13. Munch B., Larsen H.E., Aalbæk B. Experimental studies on the survival of pathogenic and indicator bacteria in aerated and non-aerated cattle and pig slurry // *Biol. Wastes.* 1987. V. 22. No. 1. P. 49–65. doi: 10.1016/0269-7483(87)90099-1
14. Hur M., Kim Y., Song H.R., Kim J.M., Choi Y.I., Yi H. Effect of genetically modified poplars on soil microbial communities during the phytoremediation of waste mine tailings // *Applied and Environmental Microbiology.* 2011. No. 77. P. 7611–7620. doi: 10.1128/AEM.06102-11
15. Peu P., Brugère H., Pourcher A.M., Kérourédan M., Godon J.J., Delgenès J.P., Dabert P. Dynamics of a pig slurry microbial community during anaerobic storage and management // *Applied and Environmental Microbiology.* 2006. No. 72. P. 3578–3585. doi: 10.1128/AEM.72.5.3578-3585.2006

## Влияние органических удобрений на структуру и состав почвенных микробных сообществ в агроценозах средней тайги (на примере Республики Коми)

© 2020. Е. М. Лаптева<sup>1</sup>, к. б. н., доцент, зав. отделом,  
Ю. А. Виноградова<sup>1</sup>, к. б. н., н. с., С. И. Лоскутов<sup>2</sup>, к. б. н., н. с.,  
Я. В. Пухальский<sup>2</sup>, м. н. с., Е. М. Перминова<sup>1</sup>, м. н. с.,  
В. А. Ковалева<sup>1</sup>, м. н. с., Н. Т. Чеботарев<sup>3</sup>, д. с.-х. н., г. н. с.,

<sup>1</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,  
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,

<sup>2</sup>Институт озероведения Российской академии наук,  
196105, Россия, Санкт-Петербург, ул. Севастьянова, д. 9,

<sup>3</sup>Институт агробиотехнологий им. А. В. Журавского  
Коми научного центра уральского отделения РАН,  
167023, Россия, г. Сыктывкар, ул. Ручейная, д. 27,

e-mail: lapteva@ib.komisc.ru

В долговременном (более 40 лет) полевом эксперименте изучено последствие внесения двух доз (40 и 80 т/га) торфяно-возного компоста (ТНК) в шестипольном кормовом севообороте, насыщенном однолетними и многолетними травами. Контролем служила почва без удобрений. Установлено, что применяемый севооборот и используемые дозы ТНК позволяют поддерживать гумусное состояние почв в агроценозах, но не восполняют вынос с урожаем элементов питания (калия) и не обеспечивают сохранение кислотно-основного статуса. Внесение ТНК влияет на состав и структуру микробных комплексов. Под влиянием двойной дозы ТНК (80 т/га) в почвах возросла величина микробной биомассы до 655–683 мг/г (в контроле 324–335 мг/г) за счёт активизации роста мицелия грибов. Таксономический состав прокариотного комплекса в агродерново-подзолистых почвах представлен 9 филумами: *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia*. На участках с внесением ТНК в дозе 80 т/га отсутствуют представители филумов *Verrucomicrobia* и *Gemmatimonadetes*, снижена доля бактерий из филумов *Proteobacteria* (52%) и *Bacteroidetes* (5%), в контроле соответственно 58% и 7%, на участках с низкими дозами ТНК – 64% и 10%. На фоне внесения органических удобрений отмечено возрастание доли бактерий филума *Actinobacteria* (в контроле 22%, при внесении 40 т/га ТНК – 23%, 80 т/га ТНК – 29%) и *Firmicutes* (соответственно 1,9; 0,5 и 5,8%).

**Ключевые слова:** агродерново-подзолистые почвы, органические удобрения, почвенные микробные сообщества, микробная биомасса, метагеномный анализ.

## Influence of organic fertilizers on the structure and composition of soil microbial communities in agrocenoses of the middle taiga (on the example of the Komi Republic)

© 2020. E. M. Lapteva<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-9396-7979<sup>\*</sup>

Yu. A. Vinogradova<sup>1</sup> ORCID: 0000-0003-4891-4904<sup>\*</sup>, S. I. Loskutov<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-8102-2900<sup>\*</sup>

Ya. V. Puhalsky<sup>2</sup> ORCID: 0000-0001-5233-3497<sup>\*</sup>, E. M. Perminova<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-8650-2524<sup>\*</sup>

V. A. Kovaleva<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-5465-6134<sup>\*</sup>, N. T. Chebotarev<sup>3</sup> ORCID: 0000-0002-7074-2734<sup>\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of RAS,  
28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,

<sup>2</sup>St. Petersburg Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences – Institute of  
Limnology of the Russian Academy of Sciences,  
9, Sevastyanova St., St. Petersburg, Russia, 196105,

<sup>3</sup>Institute of Agrobiotechnology named A. V. Zhuravsky  
of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of RAS,  
27, Rucheynaya St., Syktyvkar, Russia, 167023,  
e-mail: lapteva@ib.komisc.ru



In a long-term (more than 40 years) field experiment, the effect of organic fertilizers on soils and soil microbial complex (Komi Republic, subzone of the middle taiga) was investigated. We studied the aftereffect of introducing two doses (40 and 80 ton/ha) of peat-manure compost (PMC) in a six-field forage crop rotation saturated with annual and perennial grasses. The soil that did not receive fertilizers served as a control. It is shown that the applied crop rotation and the used doses of PMCs allow maintaining the humus state of agro-soddy-podzolic soils, but do not replenish the removal of nutrients (primarily potassium) with the harvest and do not ensure the preservation of the acid-base state of soils at the initial level. It was found that the introduction of PMC promotes a change in the composition and structure of microbial complexes. Under the influence of a double dose of PMC (80 ton/ha), the value of microbial biomass in soils increases up to 655–683  $\mu\text{g/g}$  of soil (in the control 324–335  $\mu\text{g/g}$ ), which is primarily due to an increase in mycelium of fungi. The taxonomic composition of the prokaryotic complex in agro-soddy-podzolic soils is represented by 9 phyla: *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria*, and *Verrucomicrobia*. In the experimental plots with the introduction of PMC at a dose of 80 ton/ha, a decrease in the proportion of bacteria from the phyla *Proteobacteria* (52%) and *Bacteroidetes* (5%) was observed relative to the control plot (58% and 7%, respectively) and areas with low doses of PMC (64% and 10%), the absence of representatives of the phyla *Verrucomicrobia* and *Gemmatimonadetes* in the structure of the soil bacterial complex. The introduction of organic fertilizers contributes to a relative increase in the contribution of bacteria of the phylum *Actinobacteria* (respectively, in the control 22%, at 40 ton/ha TNK – 23%, at 80 ton/ha TNK – 29%) and *Firmicutes* (respectively 1.9, 0.5 and 5.8%) into the taxonomic structure of prokaryotes.

**Keywords:** agro-soddy-podzolic soils, organic fertilizers, soil microbial communities, microbial biomass, metagenomic analysis.

Ведущую роль в поддержании и воспроизводстве почвенного плодородия в агроценозах играет внесение оптимальных и сбалансированных доз органических и минеральных удобрений [4]. Особенно эффективно применение органических удобрений в северных регионах, где в сельскохозяйственное производство включены подзолистые почвы с низким уровнем природного плодородия [2, 3]. Известно, что внесение удобрений оказывает разнонаправленное влияние на комплекс почвенной микробиоты как стимулируя его развитие, так и подавляя численность и жизнедеятельность микроорганизмов (МО), состав и функциональная активность которых определяют «здоровье» (качество) почвы [4]. Именно поэтому при оценке способов повышения плодородия почв как в России [5–7], так и в других странах [8, 9] особое внимание уделяется изучению ответной реакции почвенных МО на внесение различных доз и применение разных систем удобрений. В Республике Коми вопросам оценки биологического состояния пахотных почв, выявлению закономерностей изменения почвенных микробных сообществ при использовании различных систем земледелия уделяется недостаточное внимание [10].

Цель данной работы – выявить закономерности изменения почвенных микробных сообществ под влиянием внесения экологически безопасных доз органических удобрений (торфонавозного компоста) в агроэкосистемах Республики Коми.

### Материалы и методы исследования

Исследования проводили на землях Института агробиотехнологий им. А.В. Жу-

равского Коми НЦ УрО РАН, где в условиях длительного (более 40 лет) стационарного опыта изучается влияние различных систем удобрений (органических, минеральных и органоминеральных) на продуктивность растений в кормовом севообороте и на плодородие агродерново-подзолистых почв, сформированных на покровных суглинках [3]. Объект исследования расположен в окрестностях г. Сыктывкара (Республика Коми, подзона средней тайги). На момент начала эксперимента (1978 г.) почва опытного поля характеризовалась низким содержанием гумуса (2,1–2,5%), средне- и слабокислой реакцией среды ( $\text{pH}_{\text{KCl}} = 4,8\text{--}5,6$ ), имела средний и повышенный уровень обеспеченности обменными основаниями (10,3–16,8 смоль/кг почвы), высокий – подвижными формами фосфора ( $\text{P}_2\text{O}_5 = 180\text{--}240$  мг/кг почвы) и обменными формами калия ( $\text{K}_2\text{O} = 146\text{--}190$  мг/кг почвы). Чередование культур в севообороте: картофель; викоовсяная смесь + многолетние травы; многолетние травы 1 года пользования (г. п.); многолетние травы 2 г. п.; викоовсяная смесь; картофель. В качестве органических удобрений 2 раза за ротацию севооборота (под картофель) вносят торфонавозный компост (ТНК). Последнее внесение ТНК было осуществлено в 2012 г.

Схема опыта: контроль (без удобрений), ТНК в дозе 40 т/га (ТНК-40), ТНК в дозе 80 т/га (ТНК-80). Площадь опытных делянок 100 м<sup>2</sup> (12,5 x 8 м), повторность опыта четырёхкратная. Образцы почв отбирали на глубину корнеобитаемого слоя (0–20 см) в 2018 г. перед посевом (весна) и после уборки (осень) однолетних культур (*Avena sativa* L. сорт Горизонт, *Vicia sativa* L. сорт Львовская 22). Пробы для

микробиологических исследований отбирали с соблюдением условий, препятствующих их контаминации. Смешанные образцы почв составляли из 5 индивидуальных проб, отобранных методом конверта с каждой опытной делянки. До начала микробиологических исследований образцы почв хранили при температуре  $-18$ – $-20$  °С. Учитывая год отбора проб, в данном исследовании оценивали влияние последствий ТНК на почвы и почвенную микробиоту.

Физико-химические показатели почв определяли с использованием общепринятых в почвоведении методов анализа [41]. При проведении микробиологических исследований в почвах оценивали численность бактерий и спор грибов, длину мицелия методом прямого микрофотографирования с использованием флуорохромных красителей и последующим расчётом величины их биомассы [42]. Для одного образца готовили 12 препаратов. Препараты для подсчёта бактерий и мицелия актиномицетов окрашивали раствором акридина оранжевого (1 : 10000) в течение 2–3 мин, для учёта спор и мицелия грибов – калькофлуором белым в течение 15 мин. Просмотр препаратов проводили на микроскопе Zeiss (Axiovert 200).

Для изучения таксономического состава прокариот использовали молекулярно-генетические методы. Выделение тотальной ДНК проводили из навески почвы массой 0,2 г в соответствии с [43], очищали ДНК от примесей методом электрофореза в 1% агарозном геле. Количественную оценку содержания генов 16S рРНК бактерий и архей осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени (температурный профиль: 95 °С – 30 с, 50 °С – 30 с, 72 °С – 30 с; всего 30 циклов). В качестве матрицы при конструировании и секвенировании ампликонных библиотек использовали очищенные препараты ДНК (10–15 нг) с добавлением полимеразы Encyclo («Евроген», Россия) и пары универсальных праймеров к варибельному участку V4 гена 16S рРНК – F515 (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA) и R806 (GGACTACVSGGGTATCTAAT) [44]. Анализ нуклеотидной последовательности V4 гена 16S рРНК проводили с помощью секвенатора MySeq («Illumina», США) на базе ресурсного центра «Генетические технологии» Санкт-Петербургского государственного университета. Таксономическую идентификацию последовательностей ДНК и сравнительный анализ микробных сообществ выполняли с использованием программных пакетов Bioconda

[45], QIIME [46], PAST Paleo [47] и базы данных RDP (Ribosomal Database Project, <http://rdp.cme.msu.edu/>). Математическую обработку полученных данных выполняли с использованием пакета программ Microsoft Excel и Statistica.

## Результаты и обсуждение

Во всех биоклиматических зонах Республики Коми основным фактором, улучшающим режимы и структурное состояние пахотных почв, является внесение больших доз органических удобрений – до 100–200 т/га [2]. При низкой обеспеченности органическим веществом важное значение приобретают севообороты с высокой насыщенностью однолетними и многолетними травами [48]. Применение на агродерново-подзолистых почвах средней тайги такого шестипольного севооборота без внесения известковых мелиорантов привело к возрастанию кислотности почв как в контроле, так и на фоне внесения ТНК в дозах 40 и 80 т/га (табл. 1). За 40-летний период при отсутствии значимых изменений в содержании обменных оснований величина обменной кислотности изменилась на 0,9–1,1 ед. рН, гидролитическая кислотность возросла в 1,5–1,9 раза (табл. 1). Существенное снижение подвижных форм калия в почвах (в 1,5–2,1 раза), особенно при внесении ТНК в дозе 80 т/га, связано, по всей видимости, с активным выносом калия с урожаем культур. В частности, по данным 2018 г. урожайность зелёной массы однолетних трав в вариантах с внесением органических удобрений составила 13,2–17,2 т/га, что превысило контроль на 41,9–84,9%.

Внесение ТНК в дозах 40 и 80 т/га не привело к существенному изменению гумусного состояния пахотных почв (табл. 1). Как в контроле, так и в вариантах опыта ТНК-40 и ТНК-80 состав гумуса сохраняет гуматно-фульватный характер. Однако внесение максимальных доз ТНК (80 т/га) и возрастание на этом фоне количества возвращающихся в почву растительных остатков [3] способствовало увеличению в почве гумуса в 1,3 раза по сравнению с контролем и вариантами опыта, где доза ТНК составляла 40 т/га. С увеличением общего количества почвенного органического вещества сопряжено возрастание в его составе биологически доступных компонентов, оцениваемых по величине углерода органических соединений, извлекаемых водными вытяжками [49], и играющих важную роль

Таблица 1 / Table 1

Влияние органических удобрений на физико-химические показатели агродерново-подзолистой почвы в долговременном эксперименте с применением кормового севооборота  
The influence of organic fertilizers on the physico-chemical parameters of sod-podzolic soil in a long-term experiment using forage crop rotation

Вариант Variant	Год Year	pH <sub>KCl</sub>	Hr <sup>1</sup>	S <sup>2</sup>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> <sup>3</sup>	K <sub>2</sub> O <sup>3</sup>	Гумус Humus	C <sub>ГР</sub> :C <sub>ФР</sub> <sup>4</sup> C <sub>НА</sub> :C <sub>ФА</sub> <sup>4</sup>	C <sub>ВОВ</sub> <sup>5</sup> C <sub>WSOM</sub> <sup>5</sup>	
			смоль/кг cmol/kg		мг/кг mg/kg				%	мг/кг mg/kg
Контроль Control	1978	5,5	3,1	9,2	223	146	2,1	н/о <sup>6</sup>	н/о	н/о
	2018	4,4	6	9,7	185	98	2,6	0,93	92	0,6
ТНК-40 РМС-40	1978	5,2	3,7	11,6	211	148	2,5	н/о	н/о	н/о
	2018	4,2	6	12,9	143	104	2,8	0,83	80	0,6
ТНК-80 РМС-80	1978	5,3	3,8	9,8	201	170	2,4	н/о	н/о	н/о
	2018	4,4	5,8	10,1	231	82	3,5	0,98	123	0,6

Примечание: <sup>1</sup>Hr – гидролитическая кислотность; <sup>2</sup>S – сумма обменных оснований; <sup>3</sup> – подвижные формы фосфора и калия; <sup>4</sup>C<sub>ГР</sub>:C<sub>ФР</sub> – отношение углерода гуминовых кислот к углероду фульвокислот; <sup>5</sup>C<sub>ВОВ</sub> – содержание углерода водорастворимых органических веществ; <sup>6</sup>н/о – не определяли.

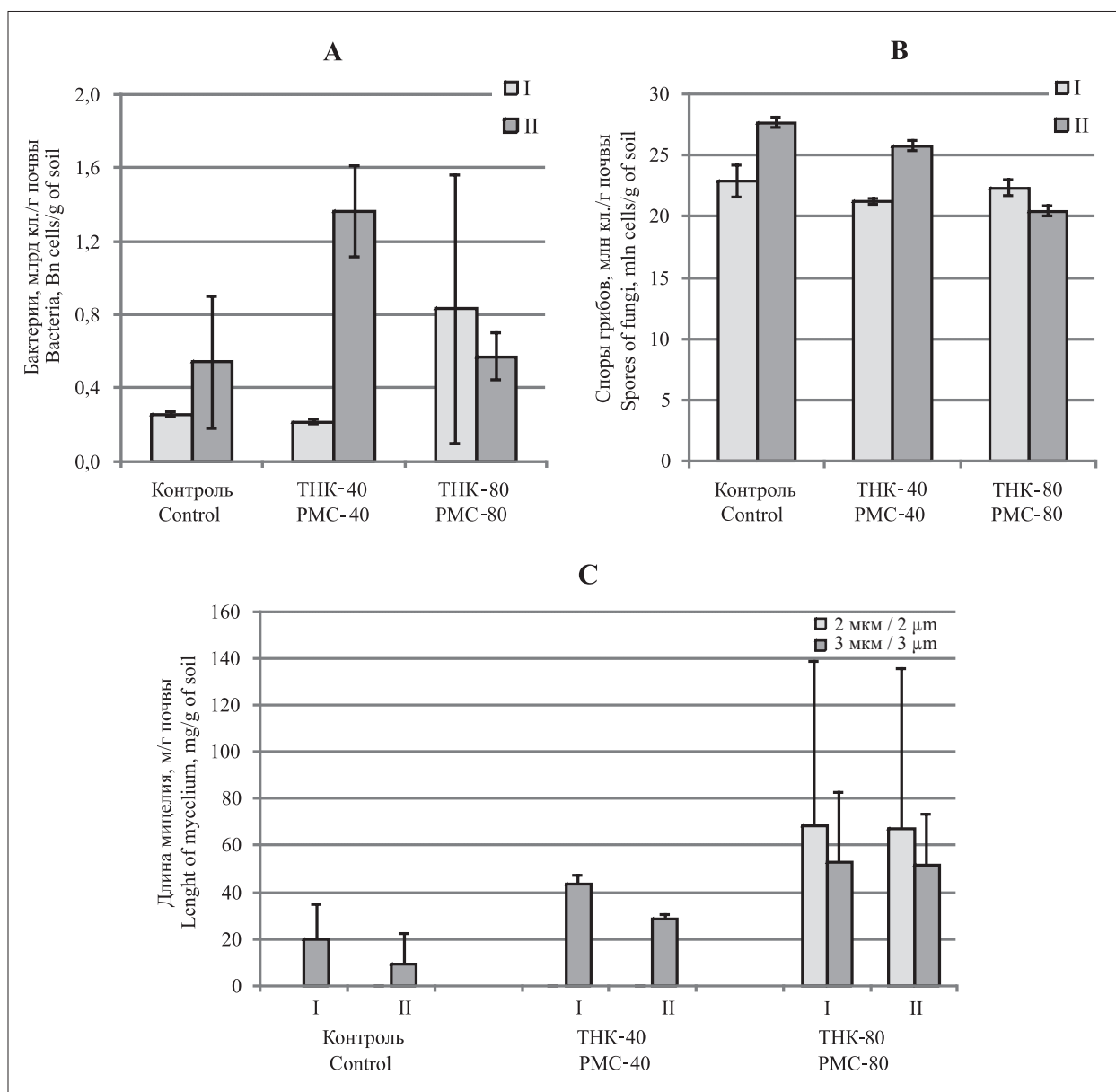
Note: <sup>1</sup>Hr – hydrolytic acidity; <sup>2</sup>S – sum of exchangeable bases; <sup>3</sup> – mobile forms of phosphorus and potassium; <sup>4</sup>C<sub>ГР</sub>:C<sub>ФР</sub> – the ratio of carbon of humic acids to carbon of fulvic acids; <sup>5</sup>C<sub>WSOM</sub> – content of water-soluble organic matter carbon; <sup>6</sup>н/о – not determined.

в функционировании почвенных микробных комплексов. Однако, несмотря на различия в абсолютных значениях, относительное содержание C<sub>ВОВ</sub> в вариантах с внесением ТНК идентично контрольному участку (табл. 1).

Оценка численности МО с использованием люминесцентной микроскопии показала, что бактерии и грибы характеризуются разной реакцией на внесение и последствие ТНК. В весенний период максимальная численность бактерий (0,83±0,73 млрд кл./г) зафиксирована в почве делянок, где вносились двойная доза ТНК – 80 т/га (рис. 1А). После уборки однолетников на первое место по количеству бактерий выходит почва делянок, где использовались низкие дозы ТНК (40 т/га). В вариантах опыта без внесения ТНК и с внесением ТНК в дозе 80 т/га численность бактерий в осенний период была в 2,4–2,5 раза ниже. При применении двойной дозы ТНК отмечена тенденция к снижению численности прокариот в осенний период (после уборки урожая), а в вариантах опыта без удобрений (контроль) и на фоне внесения ТНК в дозе 40 т/га – к её возрастанию (рис. 1А). Такая картина в динамике численности бактерий, возможно, обусловлена спецификой ответной реакции эукариотного комплекса на применяемую систему удобрений. Повышенные дозы органических удобрений стимулируют рост и развитие растений и обуславливают поступление в почву более значительного, чем в контроле, количества корневых и пожнивных остатков [20]. Это не только способствует активизации

жизнедеятельности почвенных микроскопических грибов, о чём свидетельствуют возрастание длины мицелия, особенно на участках с внесением двойной дозы ТНК (80 т/га) (рис. 1С), и снижение в почвах количества спор грибов (рис. 1В), но и приводит к определённым перестройкам в структуре эукариот. Как видно (рис. 1С), в варианте опыта ТНК-80 во все сроки присутствуют два типа гиф – с размерами 2 и 3 мкм. В контроле и при низких дозах ТНК в образцах почв зафиксирован мицелий только одного размерного ряда – с шириной гиф 3 мкм. Активизация жизнедеятельности микроскопических грибов при внесении ТНК, по-видимому, сопряжена со снижением численности прокариот, которые находятся с грибами в конкурентных отношениях за источники энергии.

Различия в численности бактерий, спор грибов и длине их мицелия нашли своё отражение в изменении величины и структуры микробной биомассы в пахотных горизонтах почв опытных делянок (табл. 2). Внесение ТНК в дозах 40 и 80 т/га способствовало возрастанию величины микробной биомассы по сравнению с контролем в 1,3 и 2,0 раза. Причём, во все сроки наблюдений суммарная микробная биомасса в каждом конкретном варианте опыта сохранялась на одном и том же уровне, менялась только её структура. В контроле и при низких дозах ТНК (40 т/га) в осенний период возрастал вклад прокариот и спор грибов при снижении роли мицелия грибов. При внесении ТНК в дозе 80 т/га в почве



**Рис. 1.** Численность бактерий (А), спор грибов (В) и величина длины мицелия (С) с шириной гиф 2 и 3 мкм в почвах опытных делянок без внесения удобрений (Контроль) и с разными дозами внесения торфомазового компоста – 40 (ТНК-40) и 80 т/га (ТНК-80) в весенний период (I) и после уборки урожая (II) однолетних трав.

**Fig. 1.** Number of bacteria (A), spores of fungi (B) and length of mycelium (C) with the sizes of hyphae 2 and 3 μm in the soils of experimental plots without fertilization (Control) and with the application of different doses of peat-manure compost – 40 (PMC-40) and 80 ton/ha (PMC-80) in the spring (I) and after harvesting (II) annual grasses. The error bars show the value of the standard square deviation

опытных делянок в осенний период снижалась доля биомассы прокариот и возрастала – мицелия грибов, в основном за счёт развития гиф грибов более крупного размера (3 мкм). Таким образом, внесение двойной дозы ТНК (80 т/га) более значимо меняет структуру микробной биомассы в агродерново-подзолистых почвах средней тайги, чем применение ТНК в дозе 40 т/га.

Согласно результатам количественной ПЦР, численность рибосомальных генов бак-

терий в изученных нами почвах варьирует в пределах  $10^6$ – $10^8$  на 1 г сухой почвы. Близкие количества копий генов 16S рРНК получены для образцов пахотного горизонта в контроле и в варианте опыта с внесением повышенных доз ТНК (80 т/га), соответственно  $8 \cdot 10^7$  и  $10 \cdot 10^7$ , в варианте с низкими дозами ТНК (40 т/га) количество копий генов на порядок ниже –  $14 \cdot 10^6$ . Полученные нами данные по числу копий на три-шесть порядков ниже по

Таблица 2 / Table 2

Влияние органических удобрений на величину и структуру микробной биомассы в почвах опытных делянок: в числителе – абсолютные значения (мкг/г), в знаменателе – относительные (%)  
 The influence of organic fertilizers on the size and structure of microbial biomass in the soils of experimental plots: in the numerator – absolute values (µg/g), in the denominator – relative (%)

Вариант Variant	Срок отбора Sampling time	Биомасса / Biomass				Сумма Sum
		бактерии bacteria	споры spores of fungi	мицелий / mycelium		
				2 мкм 2 µm	3 мкм 3 µm	
Контроль (без удобрений) Control (without fertilizers)	весна spring	$5,1 \pm 0,2$ 1,5	$217 \pm 3$ 64,9	0	$112 \pm 159$ 33,6	$335$ 100
	осень autumn	$11 \pm 7$ 3,3	$261 \pm 4$ 80,6	0	$52 \pm 4$ 16,0	$324$ 100
ТНК-40 (40 т/га) РМС-40 (40 ton/ha)	весна spring	$4,3 \pm 0,2$ 1,0	$180 \pm 20$ 42,1	0	$244 \pm 173$ 56,9	$429$ 100
	осень autumn	$27 \pm 5$ 6,3	$244 \pm 61$ 56,5	0	$161 \pm 12$ 37,3	$432$ 100
ТНК-80 (80 т/га) РМС-80 (80 ton/ha)	весна spring	$17 \pm 15$ 2,4	$194,2 \pm 0,8$ 28,4	$172 \pm 177$ 25,2	$300 \pm 125$ 43,9	$683$ 100
	осень autumn	$11,5 \pm 2,5$ 1,8	$183 \pm 50$ 28,0	$168 \pm 173$ 25,7	$292 \pm 122$ 44,6	$655$ 100

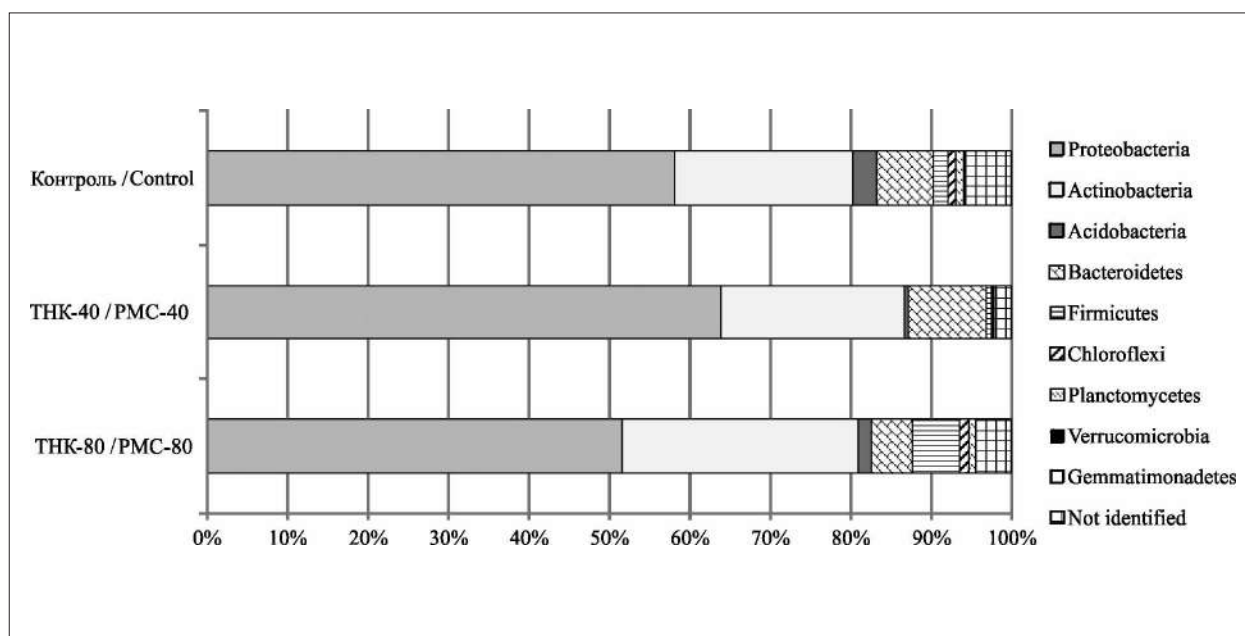


Рис. 2. Таксономическая структура (на уровне филумов) прокариотных комплексов в пахотных горизонтах агродерново-подзолистых почв. Варианты опыта те же, что на рисунке 1  
 Fig. 2. Taxonomic structure of microbiomes of arable horizons of agrosod-podzolic soils at the phylum level. Variants of experimental plots are the same as in Figure 1

сравнению с почвами более южных регионов – дерново-подзолистыми, тёмно-серыми, чернозёмами и каштановыми [21, 22]. Это подтверждает представления о более низкой биогенности северных почв.

Комплекс бактерий в почвах опытных участков сформирован преимущественно представителями девяти филумов: *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*,

*Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia* (рис. 2). Практически во всех микробиомах доминируют *Proteobacteria*, на долю которых приходится 50,6–63,8%. Второе место в сообществах пахотных почв занимают представители филума *Actinobacteria* (21,9–28,9%). Эти филумы доминируют во многих типах почв, в том числе и в дерново-подзолистых и тёмно-серых поч-

вах [21]. В солонцах и каштановых почвах *Actinobacteria* занимают ведущие позиции в поверхностных горизонтах, *Proteobacteria* – в нижних горизонтах почвенных профилей [22]. В криолитозоне представители этих филумов приурочены к самым верхним, наиболее прогреваемым слоям торфяных почв [22].

На третьем месте в почвах опытных участков находится филум *Bacteroidetes* (5,1–9,7%), его представители также широко распространены в почвах. Типичными обитателями кислых почв являются бактерии филума *Acidobacteria* [23], однако в почвах кормового севооборота, несмотря на их значительную кислотность ( $pH_{КСЛ} = 4,2–4,4$ ), доля бактерий этого филума невысока – 0,4–3,0%. На долю представителей филумов *Chloroflexi* и *Planctomycetes* приходится около 1%. Численность прокариот остальных филумов в сообществах не достигает 1%.

Внесение в почву двойной дозы ТНК (80 т/га) способствовало снижению в структуре прокариот доли генов *Proteobacteria* (52%) и *Bacteroidetes* (5%) относительно контрольного участка (соответственно 58 и 7%) и участков с внесением низких доз ТНК (64 и 10%). Внесение органических удобрений привело также к возрастанию доли генов бактерий филума *Actinobacteria* (соответственно 22% – в контроле, 23% – при дозе ТНК 40 т/га, 29% – при дозе 80 т/га ТНК) и *Firmicutes* (соответственно 1,9, 0,5 и 5,8%).

В вариантах опыта с внесением ТНК в дозе 80 т/га, несмотря на более высокую (по данным люминесцентной микроскопии) численность прокариот, таксономическое разнообразие бактерий ниже, чем в контроле и на участках с дозой ТНК 40 т/га. В частности, в почвенном микробиоме участков ТНК-80 не обнаружены копии генов бактерий из филумов *Gemmatimonadetes* и *Verrucomicrobia*, представленность которых (особенно, последних) достаточно высока в почвах южных регионов [20].

### Заключение

Таким образом, впервые в агроэкосистемах Республики Коми исследовано влияние насыщенного однолетними и многолетними травами шестипольного кормового севооборота и внесения двух доз (40 и 80 т/га) торфо-навозного компоста на свойства агродерново-подзолистых почв и их микробные комплексы. Показано, что применяемая агротехническая система позволяет получать высокие урожаи

однолетних культур без ухудшения гумусного состояния почв, но не позволяет в биоклиматических условиях средней тайги стабилизировать кислотно-основное состояние пахотных почв и обеспечить бездефицитный баланс в них элементов питания (в первую очередь, калия) без внесения известковых мелиорантов и минеральных удобрений. Внесение ТНК в дозе 80 т/га и его последствие приводят к значимой перестройке микробных комплексов в почвах агроэкосистем, проявляющейся в возрастании абсолютных значений микробной биомассы, активизации жизнедеятельности почвенных микроскопических грибов, снижении доли прокариот в структуре микробной биомассы. Низкие дозы ТНК (40 т/га) способствуют поддержанию численности отдельных групп почвенных микробных сообществ на уровне контрольного участка (без внесения удобрений), за исключением осеннего периода, когда на фоне поступления в почву корней и пожнивных остатков отмечается возрастание численности бактерий, сопряжённое со снижением длины мицелия грибов.

Молекулярно-генетические исследования выявили низкий уровень биогенности пахотных почв агроэкосистем Севера. В них число копий рибосомальных генов бактерий составляет  $10^6–10^8$  на 1 г сухой почвы, что на 3–6 порядков меньше по сравнению с почвами более южных регионов. Показано, что таксономический состав прокариотного комплекса в пахотных горизонтах исследованных почв представлен филумами: *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia*. Органические удобрения неоднозначно воздействуют на разные группы прокариот. Внесение ТНК в дозе 80 т/га приводит к снижению таксономического разнообразия прокариот на уровне филумов относительно контрольного участка (без органических удобрений), уменьшению доли бактерий из филумов *Proteobacteria* и *Bacteroidetes*, возрастанию роли *Actinobacteria* и выпадению из состава бактериальных комплексов представителей филумов *Verrucomicrobia* и *Gemmatimonadetes*.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Республики Коми в рамках научного проекта № 20-44-110009 p\_a «Влияние инвазии борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi*) на плодородие почв и состав почвенных микробных сообществ в постагрогенных экосистемах Европейского*

*Северо-Востока (на примере средней тайги Республики Коми)».*

## References

1. Sysuev V.A. Priorities and problems of agrarian science in the Euro-North-East of Russia // *Agrarian Science of the Euro-North-East*. 2015. No. 3 (46). P. 4–9 (in Russian).
2. Elkina G.Ya. Optimization of mineral nutrition of plants on podzolic soils. Ekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2008. 277 p. (in Russian).
3. Chebotarev N.T., Yudin A.A., Oblizov A.V., Butlatova N.V., Konkin P.I., Mikusheva E.N. Organic and mineral fertilizers as factors of increasing the productivity of agrocenoses (on the example of the northern taiga of the Komi Republic). Syktyvkar: Komi Republican Academy of Public Service and Management, 2019. 130 p. (in Russian).
4. Kudeyarov V.N., Sokolov M.S., Glinushkin A.P. The current state of soils of agrocenoses in Russia, measures for their improvement and rational use // *Agrokhi-miya*. 2017. No. 6. P. 3–11 (in Russian). doi: 10.7868/S0002188117060014
5. Mineev V.G., Gomonova N.F., Ovchinnikova M.F. Fertility and biological activity of sod-podzolic soil with long-term use of fertilizers and their aftereffect // *Agrokhi-miya*. 2004. No. 7. P. 5–10 (in Russian).
6. Zavyalova N.Ye., Shirokikh I.G., Yamaltdinova V.R. Microbiological state of sod-podzolic soil of the Cis-Urals with long-term use of organic and mineral fertilizers // *Theoretical and Applied Ecology*. 2020. No. 1. P. 151–159 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4304-2020-1-151-159
7. Rusakova I.V. The influence of long-term use of straw and mineral fertilizers on the biological properties of sod-gilded soil // *Agrokhi-miya*. 2017. No. 8. P. 16–24 (in Russian). doi: 10.7868/S0002188117080026
8. Wolińska A., Kuźniar A., Zielenkiewicz U., Banach A., Izak D., Stepniewska Z., Błaszczak M. Metagenomic analysis of some potential nitrogen-fixing bacteria in arable soils at different formation processes // *Microbial Ecology*. 2017. V. 73. P. 162–176. doi: 10.1007/s00248-016-0837-2
9. Coonan E.C., Kirkby K.A., Kirkegaard J.A., Amidy M.R., Strong C.L., Richardson A.E. Microorganisms and nutrient stoichiometry as mediators of soil organic matter dynamics // *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 2020. V. 117. P. 273–298. doi: 10.1007/s10705-020-10076-8
10. Lapteva E.M., Kovaleva V.A., Vinogradova Yu.A., Perminova E.M., Elkina G.Ya., Chebotarev N.T. Influence of various fertilization systems on microbial biomass and the complex of cultivated sod micromycetes podzolic soil in the middle taiga subzone // *Agrokhimicheskiy byullyuten*. 2019. No. 6. P. 24–29 (in Russian).
11. Theory and practice of chemical analysis of soils / Ed. L.A. Vorobyova. Moskva: GEOS, 2006. 400 p. (in Russian)
12. Polyanskaya L.M., Zvyagintsev D.G. The content and composition of microbial biomass as an index of the ecological status of soil // *Eurasian Soil Science*. 2005. V. 38. No. 6. P. 625–633.
13. Andronov E.E., Pinaev A.G., Pershina E.V. Isolation of DNA from soil samples. Sankt-Peterburg: “Obyedinenie Venta” Production Cooperative, 2011. 27 p. (in Russian).
14. Bates S., Berg-Lyons D., Caporaso J.G., Walters W.A., Knight R., Fierer N. Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil // *The ISMEJ*. 2011. V. 5. P. 908–917.
15. Gruning B., Dale R., Sjödin A., Chapman B.A., Rowe J., Tomkins-Tinch C.H., Valieris R., Köster J., Bioconda T., Brueffer Ch. Bioconda: sustainable and comprehensive software distribution for the life sciences // *Nature Methods*. 2018. V. 15. P. 475–476.
16. Caporaso J.G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F.D., Costello E.K., Fierer N., Pena A.G., Goodrich J.K., Gordon J.I., Huttley G.A., Kelley S.T., Knights D., Koenig J.E., Ley R.E., Lozupone C.A., McDonald D., Muegge B.D., Pirrung M., Reeder J., Sevinsky J.R., Turnbaugh P.J., Walters W.A., Widmann J., Yatsunenkov T., Zaneveld J., Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data // *Nature Methods*. 2010. V. 7. P. 335–336.
17. Hammer O., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis // *Palaeontologia Electronica*. 2001. V. 4 (1). P. 9.
18. Dmitriev V.I. Annual forage crops in field fodder production in the Omsk region // *Vestnik Omskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2014. No. 2. P. 12–14 (in Russian).
19. Semenov V.M., Kogut B.M. Soil organic matter. Moskva: GEOS, 2015. 233 p. (in Russian).
20. Structural and functional organization of soils and soil cover of the European North-East. Sankt-Peterburg: Nauka, 2001. 224 p. (in Russian).
21. Chernov T.I., Zhelezova A.D., Kutovaya O.V., Tkhakakhova A.K., Bgazhba N.A., Kurbanova F.G., Makeev A.O., Puzanova T.A., Rusakov A.V., Khokhlova O.S. Comparative analysis of the structure of buried and surface soils by analysis of microbial DNA // *Microbiology (Mikrobiologiya)*. 2018. V. 87. No. 6. P. 833–841. doi: 10.1134/S0026261718060073
22. Chernov T.I., Tkhakakhova A.K., Lebedeva M.P., Zhelezova A.D., Bgazhba N.A., Kutovaya O.V. Microbiomes of the soils of solonchic complex with contrasting salinization on the Volga–Ural interfluvium // *Eurasian Soil Science*. 2018. V. 51. No. 9. P. 1057–1066. doi: 10.1134/S1064229318090041
23. Lapteva E.M., Vinogradova Yu.A., Chernov T.I., Kovaleva V.A., Perminova E.M. The structure and diversity of soil microbial communities in hilly bogs in the north-west of the Bolshezemelskaya tundra // *Izvestia of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2017. No. 4 (32). P. 5–14 (in Russian).

## Экспериментальное обоснование возможности применения эритроцитов в качестве модели при изучении мембраноповреждающего действия наночастиц

© 2020. В. А. Оборин<sup>1</sup>, д. м. н., с. н. с., профессор,  
Т. Я. Ашихмина<sup>1,2</sup>, д. т. н., профессор, г. н. с., зав. лабораторией,

<sup>1</sup>Вятский государственный университет,

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

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

e-mail: lazermkl@yandex.ru

Наноматериалы, нередко имеющие уникальные характеристики, в то же время содержат наночастицы, обладающие не только высокой проникающей способностью, но и в ряде случаев повышенной токсичностью, что может повлиять на состояние здоровья лиц, использующих такие материалы. Это необходимо учитывать как при применении новых форм материалов, содержащих наночастицы и наноматериалы, особенно в медицине и косметологии, так и в технологическом процессе на всех этапах их получения. Важным аспектом является экологическая проблема в местах расположения предприятий, где осуществляется получение наночастиц, являющихся составной частью новых наноматериалов. Такие производства должны иметь высокий уровень защиты от возможного попадания наночастиц в первую очередь в воздушную среду. В случае неконтролируемых возможных выбросов и сбросов наночастиц в окружающую среду могут возникнуть ситуации, значительно ухудшающие экологическую обстановку в местах нахождения таких предприятий.

В статье представлены результаты изучения взаимодействия наночастиц оксида алюминия ( $Al_2O_3$ ) и наноструктурированного углеродного материала «Таунит» с эритроцитами крови человека, коровы, барана, морской свинки и белой крысы в условиях *in vitro*. Выявлено, что эритроциты млекопитающих, в том числе и человека, под воздействием исследуемых наночастиц, подвергаются гемолизу. Проведено сопоставление результатов оценки гемолизирующих свойств изученных наноматериалов и установлено, что выраженность гемолиза эритроцитов зависит от предварительного воздействия ультразвука на суспензию наночастиц, их концентрации и от видовой принадлежности эритроцитов. Полученные сведения свидетельствуют о возможности использования эритроцитов при изучении мембраноповреждающего действия различных наночастиц и наноматериалов, которые в последние годы широко применяются в различных отраслях промышленности, косметологии и медицине.

**Ключевые слова:** наноматериалы, наночастицы, мембраны, экология человека, эритроциты.

## Experimental substantiation of the possibility of using red blood cells as a model for studying the membrane damaging effect of nanoparticles

© 2020. V. A. Oborin<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-6941-2201<sup>\*</sup>

T. Ya. Ashikhmina<sup>1,2</sup> ORCID: 0000-0003-4919-0047<sup>\*</sup>

<sup>1</sup>Vyatka State University,

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

<sup>2</sup>Institute of Biology of Komi Scientific Center of the Ural Branch  
of the Russian Academy of Sciences,

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

e-mail: lazermkl@yandex.ru

Nanomaterials, which often have unique characteristics, at the same time contain nanoparticles that have not only a high penetrating power, but also in some cases increased toxicity, which can affect the health of people using such materials. This should be taken into account when using new forms of materials containing nanoparticles and nanomaterials, especially in medicine and cosmetology, and in the technological process at all stages of their production. An important aspect is the environmental problem in the locations of enterprises where the production of nanoparticles, which are part of the new nanomaterials, is carried out. Such production facilities must have a high level of protection against possible ingress of



nanoparticles primarily into the air. In the case of uncontrolled possible emissions and discharges of nanoparticles into the environment, situations may arise that significantly worsen the environmental situation in the locations of such enterprises.

The paper presents the results of studying the interaction of alumina nanoparticles ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) and carbon nanostructured material "Taunit" with erythrocytes of human blood and blood of bovine, sheep, guinea pigs and white rats under conditions *in vitro*. It was revealed that the red blood cells of mammals, including man, under the influence of the studied nanoparticles undergo hemolysis. A comparison of the results of evaluation of hemolyzing properties of nanomaterials studied shows that the intensity of hemolysis of erythrocytes depends on preliminary ultrasound exposure to the nanoparticle suspension, their concentration, and species affiliation of erythrocytes. The findings indicate the possibility of the use of red blood cells in the study of the membrane-damaging effect of different nanoparticles and nanomaterials, which in recent years are widely used in various industries, cosmetics and medicine. This should be considered when addressing environmental issues for persons employed in the production of nanoparticles and nanomaterials.

**Keywords:** nanomaterials, nanoparticles, membranes, human ecology, erythrocytes.

Наночастицы – структуры, имеющие хотя бы один характерный размер в диапазоне 1–100 нм, обладают уникальными свойствами такими, как высокая поверхностная энергия, устойчивая сорбция биологическими молекулами, наличие магнитных свойств [1]. Благодаря своим размерам, сопоставимым с размерами клеток (10–100 мкм), вирусов (20–450 нм), белков (5–50 нм), наночастицы могут приближаться к биообъекту, взаимодействовать и связываться с ним [2].

Область применения наноматериалов расширяется по мере выполнения фундаментальных и прикладных исследований. Медицинское и биологическое использование наноматериалов открывает широчайшие возможности в области целевой доставки активных лекарственных веществ, создания новейших методов и средств лечения на нанометровом уровне, медицинских имплантатов, диагностики *in vivo* и *in vitro* [1, 2]. Применение наночастиц, как носителей лекарств, может облегчить всасывание и прохождение их через биологические мембраны, защитить от метаболизма, улучшить профиль тканевого распределения и усилить проницаемость в клетку. Вследствие этого существенно повышается безопасность применения лекарств, уменьшаются их токсичность и риск развития побочных эффектов [3]. В то же время, материалы на их основе не могут не вызывать опасений в отношении их биологической совместимости и возможных негативных последствий взаимодействия с биологическими молекулами и живыми организмами в целом. Следовательно, перед тем как рекомендовать применение любых наноматериалов в каких-либо конкретных областях (промышленность, биотехнология, парфюмерия и, особенно, медицина), необходимо четкое понимание механизмов поведения наночастиц в биологических системах и детальное исследование различных аспектов их влияния на живой организм [4].

Биологические системы чрезвычайно сложны и взаимодействие наноструктур с клетками в целом и их отдельными компонентами (молекулы нуклеиновых кислот, белков), приводят к их уникальному распределению в тканях организма [5, 6], возможному иммунному ответу [7] и изменениям в метаболизме [8]. В литературе имеются противоречивые сведения о токсичности одной из молекулярных форм углерода – фуллеренов [6–9]. В ряде работ установлены ярко выраженные цито- и генотоксические свойства фуллеренов [10–12]. В работе [13] выявлен довольно высокий уровень цитотоксичности многослойных нанотрубок – другой аллотропной модификации углерода. Установлено, что токсический эффект, вызываемый металлическими и оксидными наночастицами, зависит от их размеров: более токсичны частицы меньшего размера. Показано, что молекулы ДНК в клетке разрушаются при облучении светом в присутствии наночастиц  $\text{TiO}_2$  [14]. В работе [13] изучено воздействие наночастиц оксида титана на клетки BV2, вырабатывающие активные формы кислорода. В исследованиях [14] было проведено изучение цитотоксических свойств широкого круга металлооксидных наночастиц (диаметр 500–3000 нм) по отношению к фибробластам (клетки инкубировали в присутствии наночастиц в течение 24 ч).

Таким образом, анализ данных литературы показал, что наночастицы обладают выраженной цито- и генотоксичностью в отношении различных эукариотических клеток. Имеются работы по изучению способности наночастиц проникать через биологические мембраны и взаимодействовать с их макромолекулами. При этом эффект воздействия наночастиц на биологические мембраны оценивался по токсическому или биологическому эффектам на различные клетки в культурах тканей [2, 4, 10, 11, 14].

По нашему мнению, наиболее привлекательной моделью при изучении влияния

наночастиц на мембраны клеток являются эритроциты. Это связано с простотой их выделения из крови и не требует использования дорогостоящего оборудования.

Мембрана составляет всего 1% от массы эритроцита, но именно она определяет гомеостаз и функциональное состояние клетки и, в случае её повреждения, часть гемоглобина выходит наружу, что проявляется в изменении цвета плазмы крови. Зрелый эритроцит человека не содержит ядра и органелл, которые он утрачивает в процессе развития. Следовательно, эта клетка крови теряет способность к регенерации в случае её повреждения.

Цель настоящей работы – изучить возможность использования эритроцитов в качестве модели для изучения мембраноповреждающего действия различных наночастиц.

### Материалы и методы исследований

**Наночастицы.** В ходе настоящей работы использовали наночастицы оксида алюминия ( $Al_2O_3$ ), полученные в ООО «Нанокорунд» (г. Саров Нижегородской области) с размерами частиц 80–100 нм и наноструктурированный углеродный материал «Таунит», представляющий собой переплетённые нити диаметром 40–50 нм.

**Биоматериал.** Материалом для получения эритроцитов служила венозная кровь клинически здоровых людей и животных. Пробы крови людей получали в Государственном учреждении здравоохранения «Кировская областная станция переливания крови», пробы крови животных – из вивария Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Вятская государственная сельскохозяйственная академия» (коровы, бараны). В качестве антикоагулянтов применяли 3,8%-ный раствор лимоннокислого натрия (1:10) или гепарин (3,0 ЕД/мл крови).

В исследованиях использовали эритроциты крови, которые хранились не более одних суток. Приготовление суспензии эритроцитов для оценки мембраноповреждающего действия наночастиц осуществляли следующим образом. Первоначально эритроциты трижды отмывали десятикратным объёмом стерильного 0,9% раствора хлорида натрия (рН 7,2 ед.) путём центрифугирования при 1000 об./мин в течение 5 мин, а затем ресуспендировали в этом же растворе до первоначального объёма.

Определение оптической плотности жидкостей (суспензий) осуществляли на фотоэлек-

трическом концентрационном колориметре КФК-2 при длине волны проходящего света 540 нм, длине оптического пути кюветы 5 мм и рабочем объёме кюветы 2,3 мл.

Для изучения способности наночастиц  $Al_2O_3$  повреждать мембраны эритроцитов использовали методический приём, основанный на выходе гемоглобина при повреждении мембран эритроцитов в результате их совместного нахождения с наночастицами. Наблюдаемый при этом гемолиз можно регистрировать, фиксируя изменение цвета надосадочной жидкости после предварительного центрифугирования суспензии эритроцитов с изучаемыми наночастицами.

Методика оценки воздействия наночастиц на мембраны эритроцитов заключалась в следующем: в пробирку, содержащую 10,0 мл 0,9% раствора хлорида натрия, вносили 1,0 г порошка наночастиц  $Al_2O_3$ , тщательно перемешивали и подвергали ультразвуковой дезинтеграции в течение 30 мин. Затем к 3,0 мл суспензии эритроцитов различной концентрации добавляли 20,0 мкл суспензии исследуемых наночастиц. Взвесь эритроцитов и наночастиц тщательно перемешивали на вращающейся платформе в течение 1 мин при комнатной температуре, после чего эритроциты осаждали при 1000 об./мин в течение 5 мин и измеряли интенсивность окраски надосадочной жидкости.

Контролем служили пробы, в которых к эритроцитам добавляли 20,0 мкл 0,9% раствора хлорида натрия.

Статистическую обработку результатов выполняли при помощи компьютерной программы «Biostat» версии 4.03 с вычислением значений средней арифметической ( $M$ ), ошибки средней арифметической ( $m$ ), коэффициента достоверности ( $p$ ) и корреляционной зависимости ( $r$ ). Достоверность различий между группами оценивали с использованием  $t$ -критерия Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

На первом этапе исследований изучили способность наночастиц  $Al_2O_3$  повреждать мембраны эритроцитов. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Установлено, что при используемых концентрациях эритроцитов интенсивность окраски надосадочной жидкости в опытных пробах достоверно превышала таковую контрольных проб. Следовательно, частицы  $Al_2O_3$  вызывали частичный выход гемоглобина из клеток в

Таблица 1 / Table 1

Оценка влияния наночастиц оксида алюминия на гемолиз эритроцитов человека  
Assessment of the effect of aluminum oxide nanoparticles on human red blood cell hemolysis

Проба Sample	Интенсивность окраски надосадочной жидкости (в единицах экстинкции) при концентрации эритроцитов ... · 10 <sup>6</sup> тыс./мл (M±m; n = 5) The color intensity of the supernatant (in units of extinction) at a concentration of red blood cells... · 10 <sup>6</sup> thous./mL (M±m; n = 5)				
	4,0	2,0	1,0	0,5	0,25
Опыт Experiment	0,22±0,01*	0,17±0,015*	0,16±0,01*	0,095±0,02*	0,095±0,01*
Контроль Control	0,09±0,02	0,07±0,02	0,04±0,01	0,03±0,015	0,03±0,01

Примечание: \* – различия статистически достоверны по сравнению с контролем при p < 0,05.  
Note: \* – differences are statistically significant compared to control at p < 0.05.

Таблица 2 / Table 2

Оценка воздействия различных концентраций наночастиц Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> на уровень гемолиза эритроцитов человека / Assessment of the impact of different concentrations of aluminum oxide nanoparticles on the level of human erythrocyte hemolysis

Проба Sample	Интенсивность окраски надосадочной жидкости в пробах (в единицах экстинкции) с концентрацией наночастиц ... мкг/мл (M±m; n = 5) The color intensity of the supernatant in the samples (in units of extinction) with a concentration of nanoparticles ... µg/mL (M±m; n = 5)				
	100,0	50,0	25,0	12,5	6,3
Опыт Experiment	0,20±0,01	0,20±0,02	0,16±0,01	0,09±0,01	0,04±0,02
Контроль Control	0,03±0,01	0,04±0,015	0,03±0,02	0,03±0,01	0,04±0,01

среду инкубации, что свидетельствует о повреждении мембран эритроцитов. Выявлено, что степень гемолиза зависит от количества эритроцитов. Наиболее выраженный гемолиз наблюдался при концентрации эритроцитов 1,0 · 10<sup>6</sup> тыс./мл. При этом в опытной пробе оптическая плотность надосадочной жидкости была в 4 раза выше, чем в контрольной пробе. Поэтому данную концентрацию эритроцитов использовали в дальнейших опытах.

В последующем изучили воздействие различных концентраций наночастиц на мембраны эритроцитов. Для этого в пробирки с эритроцитами вносили различные концентрации наночастиц Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> после их предварительной дезинтеграции ультразвуком. Результаты этих исследований приведены в таблице 2.

Из данных таблицы 2 видно, что повреждающее действие на мембраны эритроцитов напрямую зависит от концентрации наночастиц оксида алюминия. Наиболее выраженный повреждающий эффект наблюдается при концентрации наночастиц в концентрации 100,0 мкг/мл. Поэтому в следующих экспериментах продолжили использовать суспензию частиц оксида алюминия в этой концентрации.

Далее были проведены сравнительные эксперименты с наночастицами «Таунита» и Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> после их предварительной ультразвуковой дезинтеграции (опыт) и без неё (контроль) (табл. 3).

Как показал эксперимент, гемолитическим эффектом обладали лишь частицы Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> и углерода, подвергнутые предварительной

Таблица 3 / Table 3

Сравнительные данные о влиянии наночастиц Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> и «Таунита» на гемолиз эритроцитов  
Comparative data on the effect of nanoparticles aluminium oxide and "Taunit" on hemolysis of erythrocytes

Вид наночастиц Type of nanoparticles	Интенсивность окраски надосадочной жидкости проб, в единицах экстинкции (M±m; n = 5) / The color intensity of the supernatant samples, in units of extinction (M±m; n = 5)	
	опыт / experiment	контроль / control
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,16±0,01	0,03±0,01
C	0,21±0,02	0,05±0,01

Таблица 4 / Table 4

Сравнительные данные о влиянии наночастиц  $Al_2O_3$  и «Таунита» на гемолиз эритроцитов млекопитающих (отмытых и находящихся в крови)  
Comparative data on the effect of aluminum oxide and “Taunit” nanoparticles on the hemolysis of mammalian red blood cells (washed and stored in the blood)

Эритроциты Erythrocyte	Интенсивность окраски надосадочной жидкости в пробах, в единицах экстинкции ( $M \pm m; n = 5$ ) The color intensity of the supernatant in the samples, in units of extinction ( $M \pm m; n = 5$ )							
	наночастицы оксида алюминия aluminum oxide				наночастицы Таунита Taunit			
	отмытые эритроциты washed red blood cells		эритроциты в крови red blood cells in the blood		отмытые эритроциты washed red blood cells		эритроциты в крови red blood cells in the blood	
	опыт experiment	контроль control	опыт experiment	контроль control	опыт experiment	контроль control	опыт experiment	контроль control
Человека Human	0,20±0,01	0,05±0,03	0,15±0,01	0,1±0,03	0,2±0,01	0,05±0,03	0,12±0,02	0,10±0,03
Белой крысы White rat	0,23±0,03	0,09±0,02	0,13±0,01	0,12±0,01	0,3±0,02	0,09±0,02	0,18±0,01	0,12±0,01
Морской свинки Guinea pig	0,18±0,01	0,09±0,04	0,16±0,02	0,12±0,01	0,22±0,02	0,09±0,04	0,13±0,01	0,12±0,01
Коровы Cow	0,27±0,01	0,1±0,01	0,19±0,01	0,15±0,01	0,25±0,01	0,10±0,01	0,16±0,03	0,15±0,01
Барана Sheep	0,20±0,01	0,1±0,01	0,14±0,01	0,12±0,01	0,19±0,01	0,10±0,01	0,12±0,01	0,12±0,01

обработке ультразвуком. Это, вероятно, обусловлено тем, что ультразвук осуществляет дезинтеграцию наночастиц и приводит их в более активное состояние.

На заключительном этапе исследований нами проведены сравнительные эксперименты по изучению влияния наночастиц  $Al_2O_3$  и «Таунита» на эритроциты, помещённые в физиологический раствор хлорида натрия и эритроциты, находящиеся непосредственно в крови различных млекопитающих (табл. 4).

Из данных, приведённых в таблице 4, следует, что  $Al_2O_3$  и «Таунит» обладают мембраноповреждающим действием в отношении эритроцитов различных млекопитающих. При этом выявлены отличия повреждающего действия этих частиц на эритроциты различных видов млекопитающих. Наиболее выраженным действием изученные наночастицы обладают в отношении эритроцитов человека и меньшее действие они проявляют по отношению к эритроцитам коровы и барана. Кроме того, установлено, что эритроциты, находящиеся непосредственно в крови, практически не повреждаются изученными наночастицами. Это можно объяснить тем, что на мембране эритроцитов находится большое количество белков, которые «экранируют» её от непосредственного воздействия наночастиц.

### Заключение

Таким образом, показана принципиальная возможность использования эритроцитов млекопитающих для изучения воздействия наночастиц на их мембраны. На основании проведённых исследований предложена методика, в основу которой заложен принцип гемолитического действия испытуемых наночастиц на эритроциты. В результате экспериментов показано, что уровень повреждающего действия наночастиц на мембраны эритроцитов зависит от предварительной обработки суспензии наночастиц ультразвуком, их концентрации, а также от разновидности наночастиц. Предлагаемая методика может использоваться для оценки влияния различных наночастиц на мембраны эритроцитов человека и других видов млекопитающих. Методика проста в исполнении, не требует дорогостоящего оборудования, результаты исследований воздействия наночастиц на мембраны эритроцитов оцениваются с помощью прибора, что значительно повышает их информативность. Предлагаемая методика может быть использована для определения мембраноповреждающего действия наноматериалов, используемых в различных областях промышленности, косметологии и медицине, что позволит обеспечить экологию.

гическую безопасность лиц, участвующих в производстве наночастиц и наноматериалов.

## References

1. Couvreur P., Vauhier C. Nanotechnology: intelligent design to treat complex disease // *Pharmaceut. Res.* 2006. V. 23. P. 1417–1450. doi: 10.1007/s11095-006-0284-8
2. Chen Z., Meng H.A., Xing G.M. Acute toxicological effects of copper nanoparticles *in vivo* // *Toxicology Letters.* 2006. No. 163. P. 109–120. doi: 10.1016/j.toxlet.2005.10.003
3. Bharali D.J., Klejbor I., Stachowiak E.K., Dutta P., Roy I., Kaur N., Bergey E.J., Prasad P.N. Organically modified silica nanoparticles: A nonviral vector for *in vivo* gene delivery and expression in the brain // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. V. 102. P. 11539–11544. doi: 10.1073/pnas.0504926102
4. Panessa-Warren B.J., Maye M.M., Warren J.B., Crosson K.M. Single walled carbon nanotube reactivity and cytotoxicity following extended aqueous exposure // *Environ Pollut.* 2009. V. 157. No. 4. P. 1140–1151. doi: 10.1016/j.envpol.2008.12.028
5. Hall J.B., Dobrovolskaia M.A., Patri A.K. Characterization of nanoparticles for therapeutics // *Nanomed.* 2007. No. 2. P. 789–803. doi: 10.2217/17435889.2.6.789
6. Geze A., Chau L.T., Choisnard L. Biodistribution of intravenously administered amphiphilic beta-cyclodextrin nanospheres // *Int. J. Pharm.* 2007. No. 344. P. 135–142. doi: 10.1016/j.ijpharm.2007.06.050
7. Kagan V.E., Bayir H., Shvedova A.A. Nanomedicine and nanotoxicology: two sides of the same coin // *Nanomedicine.* 2005. No. 1. P. 313–316. doi: 10.1016/j.nano.2005.10.003
8. Becker M.L., Bailey L.O., Wooley K.L. Peptide-derivatized shell-cross-linked nanoparticles. Biocompatibility evaluation // *Bioconjug. Chem.* 2004. No. 15. P. 710–717. doi: 10.1021/bc049945m
9. Roberts J.E., Wielgus A.R., Boyes W.K., Zhao B.N., Chignell C.F., Hu D.N. Phototoxicity and cytotoxicity of fullerol in human lens epithelial cells // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2008. V. 228. P. 49–58. doi: 10.1016/j.taap.2007.12.010
10. Sayes C.M., Marchione A.A., Reed K.L., Warheit D.B. Comparative pulmonary toxicity assessments of C60 water suspensions in rats: few differences in fullerene toxicity *in vivo* in contrast to *in vitro* proles // *Nano. Lett.* 2007. V. 7. P. 2399–2406. doi: 10.1021/nl0710710
11. Raja P.M., Connolley J., Ganesan G.P. Impact of carbon nanotube exposure, dosage and aggregation on smooth muscle cells // *Toxicol. Lett.* 2007. V. 169. P. 51–63. doi: 10.1016/j.toxlet.2006.12.003
12. Yang X.L., Fan C.H. Photo-induced cytotoxicity of malonic acid [C<sub>60</sub>] fullerene derivatives and its mechanisms // *Toxicol. in vitro.* 2002. V. 16. P. 41–46. doi: 10.1016/s0887-2333(01)00102-3
13. Long T., Saleh N., Tilton R.D., Lowry G.V., Veronesi B. Titanium dioxide (P25) produced reactive oxygen species in immortalized brain microglia (BV2): implications for nanoparticle neurotoxicity // *Environ Sci. Technol.* 2006. V. 40. P. 4346–4352. doi: 10.1021/es060589n
14. Li N., Sioutas C., Schmitz D., Misra C., Sempf J., Wang M., Oberley T., Froines J., Nel A. Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage // *Environ. Health Perspect.* 2003. V. 111. P. 455–460. doi: 10.1289/ehp.6000

## Биотестирование неоникотиноида тиаметоксама с использованием сеголеток *Cyprinus carpio*

© 2020. Н. М. Абдуллаева<sup>1,2</sup>, к. б. н., доцент,  
П. Ш. Гитинова<sup>2</sup>, к. м. н., доцент, Н. А. Загирова<sup>2</sup>, к. м. н.,  
Ш. И. Чалабов<sup>1,3</sup>, аспирант, м. н. с.,

<sup>1</sup>Дагестанский государственный университет,  
367000, Россия, г. Махачкала, ул. М. Гаджиева, д. 43а,

<sup>2</sup>Дагестанский государственный медицинский университет,  
367000, Россия, г. Махачкала, пл. Ленина, д. 1,

<sup>3</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова,  
194223, Россия, г. Санкт-Петербург, пр. М. Тореца, д. 44,  
e-mail: caca1@yandex.ru

Применяемые в сельском хозяйстве и смываемые с полей пестициды попадают в водные объекты, загрязнение которых приводит к острым и хроническим токсикозам гидробионтов, обитающих в них. Вследствие этого значимость изучения влияния пестицидов на гидробионтов не вызывает сомнения. Особый интерес у исследователей вызывает тиаметоксам, новый инсектицид из группы неоникотиноидов. Объектом исследования послужили сеголетки карпа обыкновенного. Исследование проводилось в двух сериях эксперимента: в первой серии было изучено влияние 20 предельно допустимых концентраций (ПДК) пестицида, а во второй – 50 ПДК. Экспозиция рыб в растворе пестицида проводилась в течение 5, 15 и 30 сут. Оказалось, что 50 ПДК пестицида оказывает более губительное влияние на хрупкость мембран эритроцитов и перераспределение популяционного состава эритроцитов по сравнению с 20 ПДК. Тем не менее, в обеих сериях эксперимента, по мере пролонгирования экспозиции рыб в среде с пестицидом отмечалась адаптация рыб к влиянию тиаметоксама, при действии 20 ПДК более выраженная по сравнению с 50 ПДК, причём, чем дольше рыбы пребывали в растворе с пестицидом, тем сильнее была выражена адаптация. Таким образом, показано, что рыбы способны адаптироваться к хроническому воздействию малых доз токсиканта, тогда как к большим дозам адаптация происходит лишь частично.

**Ключевые слова:** сеголетки *Cyprinus carpio*, кислотная резистентность, гемолиз, эритроциты, мембраны, эритрограмма, пестициды, тиаметоксам.

## Biotesting of neonicotinoids of thiamethoxam with the use of *Cyprinus carpio*

© 2020. N. M. Abdullaeva<sup>1,2</sup>, ORCID: 0000-0002-9616-9606, P. S. Gitinova<sup>2</sup>, ORCID:0000-0001-5876-9508,  
N. A. Zagirova<sup>2</sup>, ORCID: 0000-0001-5616-2606, S. I. Chalabov<sup>1</sup>, ORCID: 0000-0001-5707-2070,

<sup>1</sup>Dagestan State University,  
43a, M. Gadjiyeva St., Mahachkala, Russia, 367000,

<sup>2</sup>Dagestan State Medical University,

1, Lenina Ploshchad, Mahachkala, Russia, 367000,

<sup>3</sup>Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry named after I. M. Sechenov,  
44, Prospekt M. Toreza, St. Petersburg, Russia, 194223,

e-mail: caca1@yandex.ru

The significance of studying the effect of pesticides on living organisms in general is not in doubt. Of particular interest to researchers is thiamethoxam, the intended effect of which on fish is not fully understood. The object of study is the fingerlings of *Cyprinus carpio*. The studies were carried out in two series of experiments: in the first series, the effect of 20 MPC of the pesticide was studied, and in the second, 50 MPC. Exposure of fish in the pesticide solution was carried out for 5, 15 and 30 days. It turned out that 50 MPC of a pesticide has a more detrimental effect on the fragility of erythrocyte membranes and the redistribution of the population composition of erythrocytes compared to 20 MPC. However, in both series of the experiment, as the exposure of fish to the environment with the pesticide is prolonged,

fish adapt to the effects of thiamethoxam. Under the action of 20 MPC, adaptation was more pronounced compared with 50 MPC, and, the longer the fish remained in the solution with the pesticide, the stronger the adaptation was pronounced. Thus, it has been shown that fish are able to adapt to the chronic effects of low doses of a toxicant, whereas adaptation to high doses is only partially.

**Keywords:** *Cyprinus carpio*, acid resistance, hemolysis, erythrocytes, membranes, erythrogram, pesticides, thiamethoxam.

Глобальное применение пестицидов в современном сельском хозяйстве приводит к активному загрязнению биосферы. Известно, что всего 0,1% применяемых пестицидов действует по назначению, тогда как остальная их часть рассеивается в окружающей среде [1, 2]. Смываемые с полей пестициды попадают в водные объекты, загрязнение которых приводит к острым и хроническим токсикозам гидробионтов [3]. Поступая в организм рыб, пестициды распределяются по всем органам и тканям, вследствие чего возникает некробиоз клеток паренхиматозных органов, нарушение координации движения, судороги и тремор мускулатуры, потеря рефлексов и гибель рыб и других гидробионтов. Накапливаясь в организмах гидробионтов, пестициды в дальнейшем могут передаваться по трофическим цепям более высоким звеньям, и аккумулируясь в организмах, вызывают развитие интоксикации, патологии, а, в крайнем случае, и гибель [4].

Особый интерес у исследователей вызывает тиаметоксам – хлорорганический системный пестицид, воздействующий на ацетилхолиновые рецепторы нервной системы насекомых. Несмотря на то, что потенциальный риск для гидробионтов был признан минимальным [5], есть данные литературы, свидетельствующие о том, что тиаметоксам приводит к задержке полового созревания, морфометрическим измерениям, нарушению липидного и энергетического обменов, развитию окислительного стресса и повреждению ДНК, а в высоких дозах является остротоксичным веществом [6–9]. И хотя производители указывают, что тиаметоксам не влияет на ацетилхолиновые рецепторы рыб, результаты исследований показывают, что под его воздействием активность ацетилхолинэстеразы всё же снижается [10].

Учитывая вышесказанное, целью работы было исследование влияния тиаметоксама на физиологическое состояние сеголеток карпа обыкновенного (*Cyprinus carpio*).

### Объекты и методы

Для более полной оценки воздействия тиаметоксама на рыб, исследования проводились

при двух концентрациях и на протяжении тридцати суток.

Карпы были выбраны в качестве объекта исследования, потому что они являются аккумулятивными биоиндикаторами загрязнения хлорорганическими пестицидами водных экосистем [11]. Причём наиболее чувствительны к токсическим воздействиям рыбы на ранних этапах онтогенеза, поэтому действие ксенобиотиков предпочтительнее изучать на молоди [12].

Так как гематологические показатели дают информативную картину для понимания изменчивости морфофизиологических параметров [13], в качестве основного метода исследований нами был выбран метод кислотной резистентности эритроцитов, адаптированный для пойкилотермных животных. Единственная функция эритроцитов – транспорт кислорода, и как следствие, они очень уязвимы к стрессовым факторам, все изменения в организме отражаются на их функционировании. Благодаря этому данный метод позволяет быстро и точно оценить физиологическое состояние организма.

В эксперименте участвовало 40 сеголеток карпа возрастом 5–6 месяцев. Эксперимент проводили в 2 сериях: исследовали влияние 20 и 50 ПДК пестицида на состояние рыб.

Содержались рыбы в четырёх аквариумах по 5 рыб в каждом (каждый аквариум объёмом 100 литров с постоянной аэрацией и температурой 21 °С). В 3 аквариума предварительно добавляли токсикант в форме промышленного препарата «Актара» (торговое название тиаметоксама) (ПДК = 0,01 мг/л) в концентрациях 0,2 и 0,5 мг/л, что соответствует 20 и 50 ПДК препарата соответственно. Рыбы, обитавшие в аквариуме без пестицида, были приняты за контроль. Отбор проб проводили на 5, 15 и 30 сут экспозиции рыб в среде с поллютантом.

Кровь получали из хвостовой вены. Проводили анализ кислотной устойчивости эритроцитов [14]. Полученную кровь разводили 0,65% раствором NaCl до оптической плотности 0,700. После этого полученный раствор делили на две части, одну часть замещали 0,004н HCl и каждые 15 секунд фиксировали значения оптической плотности при длине волны 450 нм. По полученным значениям

строили эритрограммы и высчитывали популяции эритроцитов. Результаты подвергли статистической обработке методом малой выборки и сравнительному анализу по отношению к контрольной группе.

**Результаты и обсуждение**

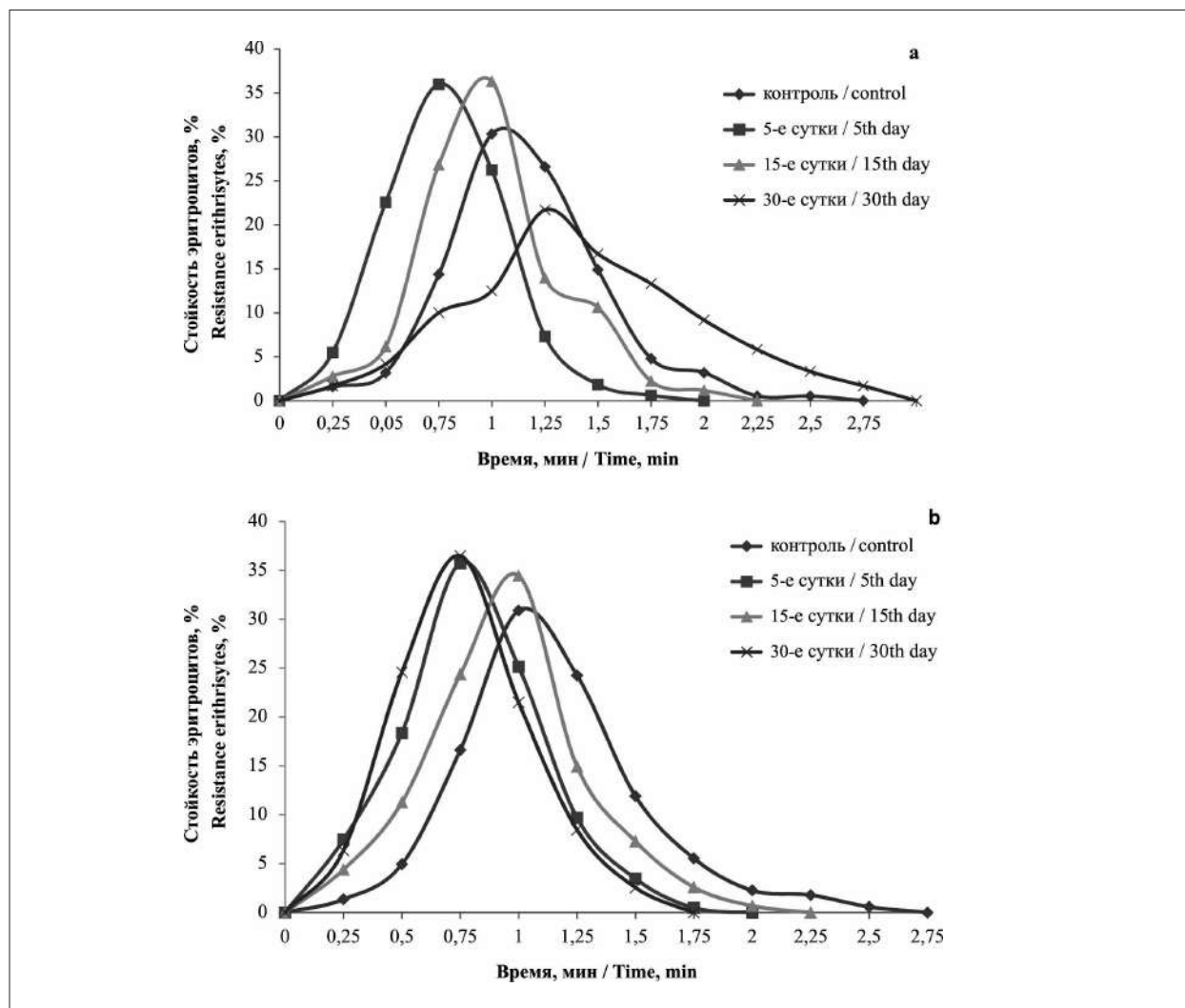
Концентрации пестицида, превышающие норму в 20 и 50 раз, влияют на кислотную устойчивость эритроцитов в разной степени (рис.).

При остром контакте с 20 ПДК тиаметоксама существенно сокращается время гемолиза, однако по мере пролонгирования экспозиции с пестицидом скорость гемолиза снижается и к концу эксперимента эритроциты рыб в опыте разрушались медленнее, чем у рыб в контроле. 50 ПДК тиаметоксама оказали более заметное

воздействие на хрупкость эритроцитов. При остром контакте скорость гемолиза возрастает, а по мере пролонгирования пребывания рыб в среде с поллютантом также наблюдается адаптация рыб, однако выражена она значительно слабее по сравнению с 20 ПДК.

Количество эритроцитов, лизировавших к моменту наступления пика эритрограмм, у рыб, контактировавших с малыми концентрациями пестицида, по мере пролонгирования эксперимента приближается к контролю. В то же время на протяжении всего эксперимента при воздействии больших концентраций тиаметоксама к моменту пика гемолиза эритроцитов разрушалось больше, чем у контрольных рыб.

Следует обратить внимание на начальные участки эритрограмм контрольных рыб, которые характеризуют предгемолизные



**Рис.** Влияние 20 (а) и 50 (b) ПДК пестицида тиаметоксама на кислотную устойчивость эритроцитов сеголеток карпа обыкновенного  
**Fig.** Influence of 20 (a) and 50 (b) MPCs of the pesticide thiamethoxam on the acid resistance of erythrocyte of carp juvenile



Таблица / Table

Популяционный состав эритроцитов сеголеток карпа обыкновенного при контакте с 20 и 50 ПДК пестицида тиаметоксам, %  
Population composition of erythrocytes of carp ordinary juvenile in contact with 20 and 50 MPCs of pesticide thiamethoxam, %

Популяции эритроцитов Red cell population	Контроль Control	5 сутки 5 <sup>th</sup> day	15 сутки 15 <sup>th</sup> day	30 сутки 30 <sup>th</sup> day
20 ПДК / 20 MPC				
Низкостойкие Low-resistant	5,12±0,5	28,05±1,2 <i>p</i> < 0,01	8,94±0,8 <i>p</i> < 0,001	6,40±0,6 <i>p</i> < 0,001
Среднестойкие Medium-resistant	86,18±1,7	71,35±1,6 <i>p</i> < 0,01	87,71±1,1 <i>p</i> < 0,1	74,20±1,5 <i>p</i> < 0,01
Высокостойкие Highly resistant	9,04±0,6	0,61±0,07 <i>p</i> < 0,001	3,41±0,4 <i>p</i> < 0,001	20,03±1,9 <i>p</i> < 0,01
50 ПДК / 50 MPC				
Низкостойкие Low-resistant	6,25±0,6	30,90±1,4 <i>p</i> < 0,001	25,81±1,1 <i>p</i> < 0,01	15,64±1,1 <i>p</i> < 0,1
Среднестойкие Medium-resistant	83,62±1,6	68,94±1,2 <i>p</i> < 0,1	73,96±1,9 <i>p</i> < 0,1	80,94±1,8 <i>p</i> < 0,001
Высокостойкие Highly resistant	10,13±0,9	0	0,47±0,04 <i>p</i> < 0,001	3,25±0,3 <i>p</i> < 0,001

изменения в связи с переходом клеток в сферическую форму. При остром контакте с 20 ПДК тиаметоксама эти участки отсутствуют, однако, чем дольше сеголетки находятся во взаимодействии с пестицидом, тем сильнее они выражены. Контакт с 50 ПДК приводит к полному отсутствию предгеомолизных изменений на эритрограммах.

Острый контакт с тиаметоксамом смещает пики эритрограмм влево. При хроническом взаимодействии с малыми концентрациями пестицида, пики постепенно смещаются вправо, а большие концентрации тиаметоксама к концу эксперимента смещают пики эритрограмм к контрольным значениям. Известно, что наиболее стойкие молодые эритроциты занимают на эритрограмме правое положение. Циркулируя в русле крови, они созревают, стареют, становятся более хрупкими, что на эритрограмме отражается смещением влево [15].

Из вышесказанного следует, что смещение пиков эритрограмм влево, изменение их начальных участков и увеличение количества эритроцитов, распавшихся к моменту пика гемолиза, указывает на деструкцию мембран и изменение популяционного состава эритроцитов (табл.).

Одной из причин повышения осмотической хрупкости эритроцитов является изменение структуры мембранных липидов и белков вследствие развития окислительного стресса. Показано, что тиаметоксам приводит

к накоплению в жабрах, печени и селезёнке рыб малонового диальдегида, одного из продуктов перекисного окисления липидов. Одновременно с этим происходит снижение активности антиоксидантных ферментов [8]. Помимо того, что тиаметоксам стимулирует развитие окислительного стресса, он приводит к нарушениям энергического обмена, что также индуцирует образование свободных радикалов, и, как следствие, ещё больше снижается стойкость мембран эритроцитов [9]. Усугубляют ситуацию нарушения липидного обмена, вызванные отравлением тиаметоксамом. Липиды – ключевой компонент мембран, и нарушения их обмена, тем более на фоне интенсивного образования свободных радикалов и сдвигов в энергетическом балансе клетки крайне негативно сказывается на устойчивости эритроцитов [6].

Токсическое действие тиаметоксама изучено и у млекопитающих. Так, в экспериментах с самцами крыс при введении разных доз тиаметоксама происходили изменения биохимических показателей крови: повышенные глюкозы, активности аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы, гамма-глутамилтрансферазы, щелочной фосфатазы, мочевины и креатинина, по сравнению с контролем [17]. Гистопатологические изменения в тех же исследованиях были отмечены в печени, почках и головном мозге.

В обзоре по влиянию неоникотиноидов на природные водоёмы Канады отмечается,

что несмотря на низкую их концентрацию в воде, они обнаруживаются повсеместно, а их отдалённые последствия их действия на гидробионтов разных систематических групп оставляют ещё много вопросов о безопасности применения неоникотиноидов, в том числе тиаметоксама [18], которые передаются от одних организмов к другим по пищевым цепям и могут накапливаться в опасных количествах в конечных звеньях этих цепей, оказывая тем самым отдалённое воздействие на популяции гидробионтов и экосистемы в целом.

### Заключение

При остром контакте с пестицидом (5 сут) карпы подвергаются наиболее негативному воздействию, что можно связать с проявлением стресса, вызванного действием тиаметоксама. При более длительном пребывании рыб в среде с токсикантом наблюдается адаптация, причём, чем дольше рыба контактирует с пестицидом, тем отчётливее выражена адаптация.

Содержание рыб в среде с 50 ПДК тиаметоксама вызывает более глубокие изменения в состоянии мембран эритроцитов, повышая их хрупкость, по сравнению с экспозицией рыб в среде, содержащей 20 ПДК пестицида.

*Работа выполнена в рамках Госзадания АААА-А18-118012290371-3.*

### Литература

1. Giraev K.M., Bekshokov K.S., Ashurbekov N.A., Abdullaeva N.M., Israpov E.K., Gashimov I.S. Fluorescent spectral studies of the toxic effect of chlororganic pesticides on the biochemical parameters of synaptosomes // *Optics and Spectroscopy*. 2017. No. 4. P. 651–659.
2. Hart K.A., Pimental D. Environmental and economic cost of pesticide use // *Encyclopedia of Pest Management* / Ed. D. Pimental. New York: Marcel Dekker, 2002. P. 237–239.
3. Ковыршина Т.Б., Руднева И.И. Холинэстеразы рыб как биомаркёры загрязнения морской среды пестицидами // *Международный сельскохозяйственный журнал*. 2014. № 3. С. 38–42.
4. Бугаев Л.А., Войкина А.В., Валиуллин В.А., Смыр Т.М., Карпушина Ю.Э. Исследование накопления пестицидов в печени некоторых видов промысловых рыб Азовского моря в 2009–2011 гг. // *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*. 2012. № 81. С. 222–234.
5. Finnegan M.C., Baxter L.R., Maul J.D., Hanson M.L., Hoekstra P.F. Comprehensive characterization of the

acute and chronic toxicity of the neonicotinoid insecticide thiamethoxam to a suite of aquatic primary producers, invertebrates, and fish // *Environ Toxicol Chem*. 2017. V. 36. No. 10. P. 2838–2848.

6. Sheets L.P., Li A.A., Minnema D.J., Collier R.H., Creek M.R., Peffer R.C. A critical review of neonicotinoid insecticides for developmental neurotoxicity // *Crit Rev Toxicol*. 2016. V. 6. No. 2. P. 153–190.

7. Mesnage R., Biserni M., Genkova D., Wesolowski L., Antoniou M.N. Evaluation of neonicotinoid insecticides for oestrogenic, thyroidogenic and adipogenic activity reveals imidacloprid causes lipid accumulation // *J Appl Toxicol*. 2018. [Internet resource] <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jat.3651> (Accessed: 05.09.2018).

8. Baldissera M.D., Souza C.F., Seben D., Sippert L.R., Salbego J., Marchesan E., Zanella R., Baldisserotto B., Golombieski J.I. Gill bioenergetics dysfunction and oxidative damage induced by thiamethoxam exposure as relevant toxicological mechanisms in freshwater silver catfish *Rhamdia quelen* // *Sci Total Environ*. 2018. V. 636. P. 429–426.

9. Yan S.H., Wang J.H., Zhu L.S., Chen A.M., Wang J. Thiamethoxam induces oxidative stress and antioxidant response in zebrafish (*Danio rerio*) livers // *Environ Toxicol*. 2016. V. 31. No. 12. P. 2006–2015.

10. Clasen B., Loro V.L., Murussi C.R., Tiecher T.L., Moraes B., Zanella R. Bioaccumulation and oxidative stress caused by pesticides in *Cyprinus carpio* reared in a rice-fish system // *Sci Total Environ*. 2018. V. 626. P. 737–743.

11. Суюнова А.Б., Заболотных М.В. Исследование мышечной ткани рыб, отловленных в Каспийском море, на содержание хлорорганических пестицидов // *Вестник Омского государственного аграрного университета*. 2016. № 2. С. 194–199.

12. Лапирова Т.Б. Реакция иммунофизиологических показателей молоди сибирского осетра (*Acipenser baerii* Brandt) на действие перметрина // *Вестник Томского государственного университета. Биология*. 2011. № 4. С. 124–135.

13. Андреева А.М., Рябцева И.П., Руднева И.И., Шайда В.Г., Ламаш Н.Е., Дмитриева А.Э. Сравнительный анализ осмотической резистентности эритроцитов у различных по экологии teleostei // *Biological Communications*. 2013. № 4. С. 3–13.

14. Абдуллаева Н.М., Чалабов Ш.И. Способ определения кислотной устойчивости эритроцитов хладнокровных животных. Патент России 2571081 С1. Заявка: 2014136832/15, 10.09.2014. Дата публикации: 20.12.2015. Бюлл. 35.

15. Костюк К.В., Грубинко В.В. Роль мембранных АТФ-аз в адаптации гидробионтов к факторам водной среды // *Гидробиологический журнал*. 2010. Т. 46. № 4. С. 49–62.

16. Рабаданова А.И., Бамматмурзаева Д.М., Гасаева Р.М. Кислотная и осмотическая устойчивость эри-

троцитов периферической крови человека при действии стрессовых факторов различного генеза // Современные проблемы науки и образования. 2013. № 6. [Электронный ресурс] <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=11571> (Дата обращения 15.07.2018).

## References

- Giraev K.M., Bekshokov K.S., Ashurbekov N.A., Abdullaeva N.M., Israpov E.K., Gashimov I.S. Fluorescent spectral studies of the toxic effect of chlororganic pesticides on the biochemical parameters of synaptosomes // *Optics and Spectroscopy*. 2017. No. 4. P. 651–659. doi: 10.1134/S0030400X17030080
- Hart K.A., Pimental D. Environmental and economic cost of pesticide use // *Encyclopedia of Pest Management* / Ed. D. Pimental. New York: Marcel Dekker, 2002. P. 237–239. doi: 10.2307/1311994
- Kovyrshina T.B., Rudneva I.I. Cholinesterases of fish as biomarkers of marine pollution by pesticides // *Mezhdunarodnyy selskokhozyaystvennyy zhurnal*. 2014. No. 3. P. 38–42 (in Russian).
- Bugaev L.A., Voykina A.V., Valiullin V.A., Smyr T.M., Karpushina Yu.E. Investigation of accumulation of pesticides in the liver of some species of commercial fish of the Azov Sea in 2009–2011 // *Politematicheskii setevoy elektronnyy nauchnyy zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2012. No. 81. P. 222–234 (in Russian).
- Finnegan M.C., Baxter L.R., Maul J.D., Hanson M.L., Hoekstra P.F. Comprehensive characterization of the acute and chronic toxicity of the neonicotinoid insecticide thiamethoxam to a suite of aquatic primary producers, invertebrates, and fish // *Environ Toxicol Chem*. 2017. V. 36. No. 10. P. 2838–2848. doi: 10.1002/etc.3846
- Sheets L.P., Li A.A., Minnema D.J., Collier R.H., Creek M.R., Peffer R.C. A critical review of neonicotinoid insecticides for developmental neurotoxicity // *Crit Rev Toxicol*. 2016. V. 6. No. 2. P. 153–190. doi: 10.3109/10408444.2015.1090948
- Mesnager R., Biserni M., Genkova D., Wesolowski L., Antoniou M.N. Evaluation of neonicotinoid insecticides for oestrogenic, thyroidogenic and adipogenic activity reveals imidacloprid causes lipid accumulation // *J Appl Toxicol*. 2018. [Internet resource] <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jat.3651> (Accessed: 05.09.2018). doi: 10.1002/jat.3651
- Baldissera M.D., Souza C.F., Seben D., Sippert L.R., Salbego J., Marchesan E., Zanella R., Baldisserotto B., Golombieski J.I. Gill bioenergetics dysfunction and oxidative damage induced by thiamethoxam exposure as relevant toxicological mechanisms in freshwater silver catfish *Rhamdia quelen* // *Sci Total Environ*. 2018. V. 636. P. 429–426. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.292
- Yan S.H., Wang J.H., Zhu L.S., Chen A.M., Wang J. Thiamethoxam induces oxidative stress and antioxidant response in zebrafish (*Danio rerio*) livers // *Environ Toxicol*. 2016. V. 31. No. 12. P. 2006–2015. doi: 10.1002/tox.22201
- Clasen B., Loro V.L., Murussi C.R., Tiecher T.L., Moraes B., Zanella R. Bioaccumulation and oxidative stress caused by pesticides in *Cyprinus carpio* reared in a rice-fish system // *Sci Total Environ*. 2018. V. 626. P. 737–743. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.154
- Suyunova A.B., Zabolotnykh M.V. Investigation of the muscle tissue of fish caught in the Caspian Sea for the maintenance of organochlorine pesticides // *Vestnik Omskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2016. No. 2. P. 194–199 (in Russian).
- Andreeva A.M., Ryabtseva I.P., Rudneva I.I., Shayda V.G., Lamash N.E., Dmitrieva A.E. Comparative analysis of osmotic resistance of erythrocytes in various teleostei ecology // *Biological Communications*. 2013. No. 4. P. 3–13 (in Russian).
- Lapirova T.B. The reaction of immunophysiological indices of young Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt) to the action of permethrin // *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya*. 2011. No. 4. P. 124–135 (in Russian).
- Abdullaeva N.M., Chalabov Sh.I. Method for determining the acid resistance of erythrocytes of cold-blooded animals. Patent RU 2571081 C1. Application: 2014136832/15, 10.09.2014. Date of publication: 20.12.2015. Bull. 35 (in Russian).
- Kostyuk K.V., Grubinko V.V. The role of membrane ATPases in the adaptation of hydrobionts to aquatic factors // *Gidrobiologicheskii zhurnal*. 2010. V. 46. No. 4. P. 49–62 (in Russian).
- Rabadanova A.I., Bamatmurzaeva D.M., Gasasaeva R.M. Acid and osmotic resistance of red blood cells of human peripheral blood under the action of stress factors of different genesis // *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2013. No. 6. [Internet resource] <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=11571> (Accessed: 15.07.2018) (in Russian).

## Последствия поступления урана и радия-226 в организмы растений и животных на территории складирования отходов радиевого промысла

© 2020. Н. Г. Рачкова, к. б. н., и. о. зав. лабораторией,  
О. В. Раскоша, к. б. н., и. о. зав. лабораторией,  
Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,  
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,  
e-mail: rachkova@ib.komisc.ru

В статье представлены результаты экологической оценки радиоактивных отходов (РАО) бывшего радиевого промысла как источника поступления радия-226 и урана в организмы гидрофитов и мышевидных грызунов. Установлено, что по всем исследованным показателям вода из реки и ручьёв территории хранения РАО соответствует нормативным требованиям, но содержание радионуклидов в нейкратно выше регионального фона. Подвижность радионуклидов в экосистемах увеличена из-за высокой минерализации вод территории техногенной деятельности щелочными и щелочноземельными элементами. Данные о содержании радионуклидов в организмах гидрофитов и полёвок-экономок согласуются с представлениями о более высокой биологической доступности радия. Обусловленная этим мощность внутреннего облучения водных растений достигает 11,7 мкГр/ч, для урана – 0,2 мкГр/ч. Её значения, рассчитанные по данным литературы для наземной растительности, приближены к пороговой дозовой нагрузке. Радиационно-индуцированные нарушения в организме полёвок-экономок, длительно обитающих на территории хранилища РАО, проявляются в форме снижения функциональной активности цитовидной железы и в цитогенетических изменениях тироцитов. Экотоксикологическая оценка вод территории хранилища с использованием *Daphnia magna* Straus не подтвердила острого негативного воздействия на организм рачков.

**Ключевые слова:** хранилище радиоактивных отходов, уран, радий-226, гидрофиты, мышевидные грызуны, комплексная экологическая оценка.

## Consequences of uranium and radium-226 entering into the organisms of plants and animals in territory of radioactive wastes storage

© 2020. N. G. Rachkova ORCID: 0000-0002-7966-7945  
O. V. Raskosha ORCID: 0000-0003-4104-1717  
Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the RAS,  
28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,  
e-mail: rachkova@ib.komisc.ru

The article presents the results of a comprehensive assessment of the radioactive waste (RW) of the former radium mining from groundwater as a source of radium-226 and uranium to hydrophytes and organisms of mouse-like rodents. It is established that for all the indicators studied, the water from the river and streams of the RW storage area meets regulatory requirements, but the radionuclide content in it is multiply higher than the regional background. The mobility of radionuclides in ecosystems is increased due to high mineralization of the waters of the territory of technogenic activity by alkaline and alkaline-earth elements. Uranium migrates in the water-dissolved form, radium – in the solution and slurries, which contributed to the formation of secondary foci of pollution and increased internal irradiation of organisms on the lower terrace of the RW storage facility. Data on the content of radionuclides in hydrophytes and tundra voles are consistent with the idea of higher availability of radium for plant and animal organisms. The internal irradiation power of the hydrophytes of the storage area for this reason was 0.95–11.7  $\mu\text{Gy/h}$ , for uranium – up to 0.2  $\mu\text{Gy/h}$ . For terrestrial vegetation, its values calculated according to literature data corresponded to a gradient of 0.1–150  $\mu\text{Gy/h}$ , which is close to the threshold dose load. Radiation-induced disorders in the organism of the tundra voles that inhabit the territory of the RW storage facility for a long time, appear in the form of a decrease in the functional activity of the thyroid gland and in cytogenetic changes in thyrocytes. Ecotoxicological assessment of the waters of the storage area using *Daphnia magna* Straus did not confirm their acute adverse effects on organisms of crustacea.

**Keywords:** radioactive wastes storage facility, uranium, radium-226, hydrophytes, mouse-like rodents, comprehensive ecological assessment.

Живые организмы, населяющие радиоактивно загрязнённые территории, испытывают значительную техногенную нагрузку. Главными её факторами являются повышенный уровень внешнего и внутреннего облучения, токсичность компонентов загрязнения, их геохимическая подвижность и биологическая доступность. Природные изотопы радия и урана являются химическими аналогами щелочноземельных элементов или подобны им по интенсивности миграции в водных средах. Это сходство обуславливает включение радионуклидов в процессы распределения макроэлементов в абиотических компонентах техногенно нарушенных экосистем и в метаболизм живых организмов. В качестве референтных животных специалисты рекомендуют использовать мышевидных грызунов [1], популяции которых характеризуются высокой численностью, быстрой сменой поколений, тесным контактом с почвой, а также наличием трофических связей, способствующих перераспределению радионуклидов. Целью работы была экологическая оценка радиоактивных отходов (РАО) бывшего радиевого промысла как источника поступления радия-226 и урана в живые организмы (на примере гидрофитов и мышевидных грызунов).

### Объекты и методы исследований

Хранилище РАО радиевого промысла, завершившего промышленную деятельность в 1956 г., расположено на участке пойменно-террасового типа (5 га) с перепадом высот между речными террасами до 7 м. Верхний элемент ландшафта и его склон сформированы за счёт отсыпки поверхности радиоактивными материалами. На них с целью снижения радиационного фона и ограничения прямого контакта с живыми организмами в 1962 г. была наложена песчано-гравийная смесь слоем около 50 см. Нижний элемент ландшафта, занимающий около ½ площади комплекса, заболочен. Расстояние от р. Ухты до границы производственного объекта составляет не более 10 м.

Для химического анализа природные воды отбирали из поверхностной толщи водотока, отделяли от крупной взвеси (фильтр «белая лента») и взвешенных веществ (фильтры «Владипор» ФМАЦ 0.45, размер частиц 0,45–3,5 мкм) [2]. Удельную активность (УА) радия-226 в живых организмах и в воде из водоёмов территории хранилища и зоны его влияния определяли эманационным,

урана (в расчёте на  $^{238}\text{U}$ ) – люминесцентным методами [3, 4].

Негативное воздействие инкорпорированных в растениях радионуклидов оценивали путем расчёта мощности внутреннего облучения по методике, представленной в публикациях [5, 6]. Оценку токсичности воды из дренажной системы объекта исследования проводили с использованием ветвистоусых рачков *Daphnia magna* Straus. Тестирование осуществляли в трёх повторностях с соблюдением требований относительно температуры и продолжительности фотопериода [7], оценочным показателем служила смертность рачков за 96 часов. В ответ на повышенные содержания урана и радия-226 в среде обитания были изучены биологические эффекты у 195 полёвок-экономок (*Alexandromys oeconomus* Pall.), преобладавших по численности среди мышевидных грызунов на территории складирования РАО и на контрольном участке с  $\gamma$ -фоном 10–15 мкР/ч. Полёвок отлавливали в июле–августе стандартными живоловками, расставленными в линии с учётом сезона размножения и фазы популяционного цикла. До декапитации отловленных полёвок содержали в течение двух недель в виварии Института биологии Коми НЦ УрО РАН (<http://www.ckrp-rf.ru/usu/471933/>). Морфофункциональное состояние щитовидной железы животных оценивали с помощью методов, подробно описанных в работе [8]. Цитогенетические изменения тироцитов анализировали с применением метода «ДНК-комет» в щелочной версии (рН 13) [9], с предварительной ферментативной обработкой клеток коллагеназой (Collagenase type IA, Sigma, США). Уровень повреждений оценивали по проценту ДНК в хвосте комет (%TDNA) с применением программы «Comet Score Pro» (TriTek Corp., США) и видеосистемы «AxioCam» (Carl Zeiss, Германия).

### Результаты и обсуждение

Уровень  $\gamma$ -фона на дневной поверхности хранилища отходов радиевого промысла (Республика Коми) на момент исследования достигал 3000, в глубине грунта – 7500 мкР/ч [10]. Максимальная УА радия-226 в отходах составляла около 300 Бк/г, урана – до 1400 Бк/кг, что позволяло классифицировать их как низкоактивные РАО [11]. В 2002 г. только в 1-метровом слое загрязнённых грунтов запасы радия составляли 320, урана – 6,6 ГБк [10]. Исследователями [10, 12] было

выявлено перераспределение активности поллютантов по глубине грунтов и между элементами ландшафта, связанное с мобилизацией радионуклидов в циклах биогенной миграции, с денудационными процессами и вторичной сорбцией радиоактивных элементов грунтами нижней террасы.

Согласно полученным данным, твёрдые отходы добычи радия из урансодержащих рудных материалов содержали значительные количества металлов нерадиоактивной природы. Часть из них относилась к эссенциальным микроэлементам, некоторые – к токсичным. Даже после 50 лет складирования РАО в условиях промываемого атмосферными осадками приповерхностного хранилища в каждом килограмме рудных остатков содержалось не менее 1 г соединений меди и 0,7 г никеля, около 3,5 г свинца и 2,5 г марганца, 80 г железа, 20 г алюминия, примерно 1,5 г цинка, от 0,7 до 0,9 г ртути, 0,2–0,4 г кобальта, кадмия, ванадия и стронция. Применение технологии соосаждения радия с соединениями химических аналогов обусловило высокую концентрацию бария и других щелочноземельных элементов в радиоактивных материалах. Содержание бария в них достигало 16 г/кг при соответствующем усреднённом значении для почв мира 0,5 г/кг [13].

Несмотря на вышеперечисленные факты, по результатам исследований периода 2009–2014 гг., водные образцы из импактного участка р. Ухты и ручьёв территории хранения РАО по содержанию радия-226, урана и нерадиоактивных компонентов отвечали нормативным требованиям. Загрязнения речной сети и поверхностных вод антропогенно нарушенной территории соединениями цинка, ртути, мышьяка, меди, свинца и ванадия не прослеживалось, несмотря на их значительные концентрации в РАО. Тем не менее, выборки, характеризующие импактную и техногенную зоны наблюдения, по показателям гидрохимического состава существенно контрастировали между собой (табл. 1). Так, удельная электропроводность поверхностных вод территории хранилища в летние пробоотборы увеличивалась до 3400 мкСм/см, что многократно больше соответствующих характеристик для р. Ухты в зоне влияния объекта и выше неё по течению реки (350–530 мкСм/см). Это сопровождалось обогащением поверхностных вод территории складирования РАО щелочными и щелочноземельными элементами с кратностью превышения фоновых показателей от 2,5 до 110 раз. Динамика водной миграции радия-226

из зоны техногенеза была обозначена трендом к возрастанию в сравнении с состоянием на 1962 г. В годовом цикле УА радионуклида в воде мелких водотоков территории хранилища РАО вплотную приближалась к нормативным границам показателя (0,49 Бк/л) и превосходила в 10 раз фоновые значения [2]. Заметная доля радия-226 мигрировала из очага радиоактивного загрязнения в реку со взвесями крупнее 0,45 мкм, что является следствием включения радиоактивного элемента в процессы биогенной миграции и его последующего поступления в гидрографическую сеть с остатками растительной биомассы, диспергированной водными потоками. В июне 2013 г. в воде ручьёв территории складирования РАО доля УА радия во взвешенном веществе составляла  $(65 \pm 1)\%$ , на импактной части русла р. Ухты она увеличивалась до  $(86 \pm 17)\%$ . Это означает, что на участках акватории, где изменяются условия гидрогенной миграции, вероятно «разгрузка» речных вод от взвешенных форм поллютанта.

В отличие от радия, долгопериодная динамика поступления в реку урана характеризовалась тенденцией к убыванию. Максимумы его содержания, зарегистрированные для водотоков территории хранилища РАО в 2009–2014 гг., были в 2 раза меньше предельных количеств, упоминавшихся в архивных источниках [2]. В то же время они в 20 раз превышали пороговые значения, при которых вероятность биотоксических эффектов увеличивается [14]. В годичном и многолетнем циклах УА урана в водах мелких водотоков территории хранилища изменялась от 9 до 1316 мБк/л, что в максимуме много больше средних мировых и региональных показателей [15].

По данным линейной регрессии ( $p \leq 0,05$ ), растворению соединений радионуклидов способствовала высокая минерализация поверхностных и почвенно-грунтовых вод территории. В отличие от радия с выраженным гетерогенным распределением, практически всё количество урана мигрировало в составе водорастворимой компоненты природных вод территории хранения РАО и её импактной речной акватории. Крупной взвесью переносилось дополнительно не более 20% валового содержания элемента. В этих условиях его негативное воздействие на макрофитов территории хранилища сохранялось даже в случае «разгрузки» вод от взвешенной фракции.

При попадании внутрь живого организма радионуклиды наиболее опасны. Полученные нами данные об аккумуляции радионуклидов

Таблица 1 / Table 1

Химический состав воды на импактном участке р. Ухты и в ручьях территории хранения РАО (летние пробоотборы 2012–2014 гг.) / Water chemical composition in impact zone of Uchta river and in streams of the radioactive waste (RW) storage (summer sampling in 2012–2014)

Компоненты Components	ПДК ГН MPC GN	Диапазон варьирования концентрации Variation of concentration	
		ручьи территории хранилища РАО streams of the storage of RW	импактный участок р. Ухты impact zone of Uchta river
Нерадиоактивные компоненты, мг/л / Inradioactive components, mg/L			
Ca	–	94–210	20–111
Mg	50	22–125	1,4–12,3
Ba	0,7	0,08–0,6	0,01–0,016
Na	200	22–290	1,2–4,9
K	–	7,8–17,4	0,2–0,9
Fe	0,3	0,007–0,095	0,01–0,32
Zn	1,0	0,003	0,002–0,004
Pb	0,01	н/о / n/det	0,0001
Mo	0,07	0,0001–0,002	0,0004–0,0006
V	0,1	н/о / n/det	0,00007
Hg	0,0005	0,007–0,04	0,00003
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	–	169–400	47–218
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	500	20–411	3,9–169
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3,5	0,03–0,9	0,02–0,12
Cl	350	103–161	1,1–1,2
C <sub>opr</sub> / C <sub>org</sub>	–	7,8–36	1,8–23
Радиоактивные компоненты, Бк/л / Radioactive components, Bq/L			
Ra-226	0,49	0,10–0,33	0,01–0,04
U	3	0,009–1,3	0,002–0,029

Примечание / Note: «н/о» – обозначает «не обнаружено» / “n/det” – means “not detected”.

в растениях согласуются с представлениями о более высокой биодоступности радия (табл. 2). Сравнение дозы внутреннего облучения гидрофитов фоновой акватории и территории хранилища РАО от радия-226 свидетельствовало о значительном техногенном прессе на природный комплекс. На нижней речной террасе ситуация усугублялась заболоченностью территории и её плотной заселённостью водными мхами. Обладая высокой удельной поверхностью, они служили сорбционным барьером на пути миграции взвешенного радия в реку и способствовали локализации радиоактивного загрязнения [12]. При средней мощности внутреннего облучения рдестов фонового участка р. Ухты 0,04 мкГр/ч, вклад радия-226 в её значение для водных растений территории хранилища РАО оценивался величинами от 0,95 до 11,7 мкГр/ч в зависимости от времени отбора, вида гидробионтов, специфики места их произрастания. По нашим данным, вклад изотопов урана в дозу внутреннего облучения

был существенно ниже (до 0,2 мкГр/ч). Все эти цифры многократно меньше значения (400 мкГр/ч), рассматриваемого в качестве экологически безопасного для популяций растений [1]. В то же время оценка мощности дозы в отношении наземных растений, с учётом внешнего облучения и состава радионуклидного загрязнения, позволяла предполагать долговременное нарушение этого уровня. При УА радия-226 в золе зелёной массы от 0,03 до 50 Бк/г [10], его вклад в дозу внутреннего облучения оценивается нами от 0,1 до 150 мкГр/ч, что в существенной мере приближено к скрининговой нагрузке.

Поступая через органы дыхания, желудочно-кишечный тракт и кожу в организм животных, радий-226 в основном аккумулируется в минеральной части костей. Соединения урана высокотоксичны и характеризуются политропным действием. При длительном поступлении радионуклидов в организм животных биологические эффекты обусловлены

не только химическими свойствами элементов, но также, радиационным действием за счёт  $\alpha$ -излучения [1]. При анализе радиационных последствий важно иметь в виду, что вынос радионуклидов на поверхность почвы в результате роющей деятельности полёвки зависит от их численности. Результаты радиохимического анализа показали повышенное в 3,5–5,8 раз содержание радия-226 в золе тушек полёвок, отловленных на территории хранилища РАО, по сравнению с контрольными показателями, с максимальными значениями в год пика численности животных (табл. 3). Концентрация урана в тушках зверьков с загрязнённой территории в год пика численности была более чем в два ра-

за выше контрольных значений и составляла 0,127 мкг/г золы ( $p \leq 0,05$ ).

При изменении условий среды обитания животных важная регуляторная роль принадлежит органам эндокринной системы, секреторная активность которых изменятся в соответствии с потребностями организма. Обитание полёвок в течение нескольких поколений на территории хранилища РАО приводило, в целом, к снижению функциональной активности щитовидной железы по сравнению с данными контрольных особей (во все рассматриваемые фазы численности). Это выразилось в достоверном уменьшении объёмной плотности и высоты фолликулярного эпите-

Таблица 2 / Table 2

Содержание (УА) и коэффициенты накопления (Кн) радионуклидов гидрофитами  
Activity concentration (AC) and concentrating coefficients (C<sub>c</sub>) of radionuclides by hydrophytes

Растение, дата отбора Plant, selection date	Радий-226 / Radium-226		Уран / Uranium	
	УА, мБк/г* AC, mBq/g*	Кн** C <sub>c</sub> **	УА, мБк/г* AC, mBq/g*	Кн** C <sub>c</sub> **
Импактная зона, р. Ухта, / Impact zone of Uchta river				
<i>Potamogeton filiformis</i> , 07.2012	38	325	13,1	803
<i>Potamogeton filiformis</i> , 07.2012	132	5204	11	66
<i>Potamogeton filiformis</i> , 07.2012	61	360	6,2	469
<i>Potamogeton gramineus</i> , 07.2012	68	380	7,8	560
<i>Drepanocladus aduncus</i> , 07.2013	314	4070	8,8	–
<i>Potamogeton gramineus</i> , 06.2013	97	5930	8	–
<i>Drepanocladus aduncus</i> , 06.2013	757	15400	64,6	–
<i>Spirogyra</i> sp., 06.2013	120	1790	7,1	2400
<i>Potamogeton filiformis</i> , 06.2013	77	630	3,9	2400
<i>Potamogeton gramineus</i> , 06.2013	200	2270	7,3	305
Территория хранилища РАО / The storage of RW				
<i>Calliergon giganteum</i> , 06.2012	3657	6380	2780	317
<i>Calliergon giganteum</i> , 06.2012	799	9710	4955	722
<i>Calliergon giganteum</i> , 06.2012	830	3100	289	58
<i>Lemna minor</i> , 06.2013	518	660	13,6	57,6
<i>Drepanocladus aduncus</i> , 06.2012	528	2490	251	483
<i>Drepanocladus aduncus</i> , 06.2012	893	780	1912	676

Примечание: «\*» – в расчёте на золу и «\*\*» – на воздушно-сухое вещество; «–» означает «нет данных».  
Note: “\*” – calculation in ash and “\*\*” – dry matter; “–” means “not data”.

Таблица 3 / Table 3

Содержание радия-226 в тушках полёвок-экономок ( $10^{-12}$  г/г золы)  
Radium-226 concentration in body of tundra voles ( $10^{-12}$  g/g ash)

Участок отлова животных Animal catching area	Фаза численности животных Phase of quantity population	
	пик / maximum population	спад / decline in population
Контрольный участок / Control	4,8±0,5 (8)	4,3±1,0 (7)
Хранилище РАО / Storage of RW	27,8±4,5 (5)	15,2±1,5 (8)

Примечание: «\*» – количество проб (в зависимости от массы животных в пробе объединено от 2 до 4 особей).  
Note: “\*” – number of samples (2 to 4 individuals are united in the sample, depending on the weight of the animals).



Таблица 4 / Table 4

Морфометрический анализ щитовидной железы половозрелых полёвок-экономок с контрольного участка и с территории хранилища РАО  
Morphometric analysis of the thyroid gland of tundra voles from the control site and from the storage of RW

Участок отлова животных Animal catching area	Пол Sex	Высота эпителия, мкм Height of epithelium, μm	Объёмные плотности (%) / Volume density (%)			
			коллоид colloid	фолликулярный эпителий follicular epithelium	строма и сосуды stroma and vessels	экстрафолликулярные клетки extraphollicular cells
Контроль Control	♂	8,0±0,1	38,9±1,0	54,6±0,9	3,0±0,4	6,2±0,7
	♀	6,2±0,6	48,8±1,4	45,8±1,1	2,6±0,3	3,8±0,4
Хранилище РАО Storage of RW	♂	8,1±0,4	39,1±3,2	49,5±2,7	3,0±0,7	5,5±0,4
	♀	6,1±0,2	45,8±1,9	47,7±2,5	3,2±1,2	6,2±0,7*
Контроль Control	♂	7,2±0,2	44,5±2,4	46,8±2,7	6,1±0,8	5,1±1,2
	♀	6,2±0,2	42,7±2,5	46,6±2,7	5,9±0,9	2,9±0,7
Хранилище РАО Storage of RW	♂	6,6±0,3	60,4±5,9*	33,8±4,2*	3,0±1,0*	4,7±2,7
	♀	6,7±0,3	57,5±3,0*	34,0±2,8*	4,8±1,1	4,4±2,1

Примечание: «\*» – различия статистически значимы между контролем и территорией хранилища РАО при  $p \leq 0,05$ .  
Note: “\*” – differences are statistically significant between the control and the storage of radioactive wastes when  $p \leq 0,05$ .

лия, увеличении количества коллоида, а также в нарушении гормонального статуса – преимущественно уровня  $T_3$  [8]. В некоторых случаях в тиреоидной ткани животных развивалось расстройство кровообращения, связанное с застойным полнокровием крупных сосудов, их расширением, очаговыми кровоизлияниями. В фазу спада численности у зверьков отмечали большее разнообразие структурных нарушений в паренхиме щитовидной железы и отклонений от нормы по концентрации тиреоидных гормонов. Изменения в геноме тироцитов у полёвок с территории хранилища РАО характеризовались увеличением однонитевых разрывов и щелочнолабильных сайтов ДНК (% ТДНК для облучённых животных – 22,9±1,2 усл. ед., в контроле – 17,3±1,4 усл. ед.;  $p \leq 0,05$ ), что обусловлено двухкратным повышением доли клеток с высоко фрагментированной ДНК (в диапазоне 41–100% TDNA).

На завершающем этапе исследования изучали биотоксичность воды, поступающей из дренажной системы территории хранилища отходов радиевого промысла в р. Ухту. Было установлено, что отобранный в 2015 г. в период осеннего подъёма уровня грунтовых вод образец не оказывает острого токсического воздействия на *Daphnia magna* Straus. Гибели рачков в тестируемой воде не была зафиксирована. Это вступает в противоречие с опубликованными результатами, полученными [16] с использованием тест-объекта ряски малой (*Lemna minor* L.). При соответствии нормативным требованиям поверхностные воды территории хранилища РАО вызывали у растения

сокращение удельной скорости роста, высокий уровень хлорозов и некрозов. Токсичность воды, по данным авторов, была обусловлена действием тяжёлых металлов (стронция, цинка, бария) и недостатком калия.

### Заключение

По результатам комплексной оценки радиоактивных отходов бывшего радиевого промысла как источника поступления радия-226 и урана в живые организмы установлено, что по всем исследованным показателям вода из ручьёв территории хранения РАО и импактного участка реки соответствует нормативным требованиям, но содержание радионуклидов в нейкратно выше регионального фона. Подвижность радионуклидов в экосистемах увеличена из-за высокой минерализации вод территории техногенной деятельности. Уран мигрирует в водорастворённой форме, радий – в составе раствора и взвесей. Данные о содержании радионуклидов в гидрофитах и тушках полёвок-экономок, обитающих на территории хранилища РАО, согласуются с представлениями о более высокой биодоступности радия. Обусловленная этим мощность внутреннего облучения водных растений составляла 0,95–11,7 мкГр/ч, для урана – до 0,2 мкГр/ч. Её значения, рассчитанные по данным литературы для наземной растительности, соответствовали градиенту 0,1–150 мкГр/ч, что приближено к пороговой дозовой нагрузке. Радиационно-индуцированные нарушения в организме полёвок проявляются снижением

функциональной активности щитовидной железы и в виде цитогенетических изменений тироцитов. Выполненная экотоксикологическая оценка вод территории хранилища с использованием *Daphnia magna* Straus не подтвердила их острого негативного воздействия на живые организмы, описанное ранее в литературе для ряски малой, что указывает на различную чувствительность тест-объектов к токсикантам. Проведение исследований на разных уровнях структурной организации биологических объектов является необходимым условием более точного прогнозирования и оценки экологического состояния антропогенно загрязнённых биогеоценозов.

*Исследования выполнены в рамках государственного задания Института биологии Коми НЦ УрО РАН № 0414-2018-0002 с частичной поддержкой гранта РФФИ и Правительства Республики Коми № 16-45-110051 p\_a.*

### Литература

1. ICRP Publication 108. Environmental protection: the concept and use of reference animals and plants. Annals of the ICRP, 2009. 251 p.
2. Рачкова Н.Г., Шуктомова И.И., Карманов А.П. Фазовое распределение радия-226 в поверхностных водах района расположения бывшего радийдобывающего предприятия // Бутлеровские сообщения. 2016. Т. 45. № 3. С. 60–67.
3. Shuktomova I.I., Rachkova N.G. Determination of Ra-226 and Ra-228 in slightly mineralised natural waters // J. of Environ. Radioact. 2011. V. 102. P. 84–87.
4. Добролюбовская Т.С. Люминесцентный метод // Аналитическая химия урана / Под ред. А.П. Виноградова. М.: Наука, 1962. С. 143–165.
5. Ulanovsky A., Pröhl G., Gomez-Ros J.M. Methods for calculating dose conversion coefficients for terrestrial and aquatic biota // J. Environ. Radioact. 2008. V. 99. P. 1440–1448.
6. Chambers D.B., Osborne R.V., Garva A.L. Choosing an alpha radiation weighting factor for doses to nonhuman biota // J. Environ. Radioact. 2006. V. 87. P. 1–14.
7. Жмур Н.С. Методика определения токсичности и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. М.: АКВАРОС, 2007. 52 с.
8. Раскоша О.В., Ермакова О.В. Тиреоидный статус полёвок-экономок, обитающих в условиях повышенной естественной радиоактивности // Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. № 3. С. 309–315.
9. Olive P.L. DNA damage and repair in individual cells: applications of the comet assay in radiobiology // Int. J. Radiat. Biol. 1999. V. 75. No. 4. P. 395–405.

10. Shaposhnikova L.M., Shuktomova I.I. Consequences of radioactive decontamination by earthfill method in a former radium production site // Russian Journal of Ecology. 2015. V. 46. No. 3. P. 299–302.
11. Основные санитарные правила обеспечения радиационной безопасности (ОСПОРБ 22/2010): Санитарные правила и нормативы. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. 83 с.
12. Шапошникова Л.М., Рачкова Н.Г. Анализ эффективности реабилитации территории хранилища отходов радиевого производства в Республике Коми // Геоэкология. Инженерная геология. Гидрогеология. Геоэкология. 2018. № 2. С. 74–85.
13. Иванов В.В. Экологическая геохимия элементов. М.: Недра, 1994. Кн. 2. 303 с.
14. Sheppard S.C. Derivation of ecotoxicity thresholds for uranium // J. Environ. Radioact. 2005. V. 79. P. 55–83.
15. Palmer M.R. Uranium in river water // Geochim. Cosmochim. Acta. 1993. V. 57. No. 20. P. 4947–4955.
16. Боднарь И.С., Чебан Е.В., Зайнуллин В.Г. Экотоксикологическая оценка поверхностных вод с территории хранилища радиоактивных отходов (пос. Водный, Республика Коми) с использованием ряски малой (*Lemna minor* L.) // Известия Коми НЦ УрО РАН. 2017. Т. 3 (31). С. 34–39.

### References

1. ICRP Publication 108. Environmental protection: the concept and use of reference animals and plants. Annals of the ICRP, 2009. 251 p.
2. Rachkova N.G., Shuktomova I.I., Karmanov A.P. Phase distribution of radium-226 in surface waters in the area of former radium production // Butlerovskiye soobshcheniya. 2016. V. 45. No. 3. P. 60–67 (in Russian).
3. Shuktomova I.I., Rachkova N.G. Determination of Ra-226 and Ra-228 in slightly mineralised natural waters // J. of Environ. Radioact. 2011. V. 102. P. 84–87. doi: 10.1016/j.jenvrad.2010.10.003
4. Dobrolyubskaja T.S. Luminescent method // Analytical chemistry of uranium / Ed. A.P. Vinogradova. Moskva: Nauka, 1962. P. 143–165 (in Russian).
5. Ulanovsky A., Pröhl G., Gomez-Ros J.M. Methods for calculating dose conversion coefficients for terrestrial and aquatic biota // J. Environ. Radioact. 2008. V. 99. P. 1440–1448. doi: 10.1016/j.jenvrad.2008.01.010
6. Chambers D.B., Osborne R.V., Garva A.L. Choosing an alpha radiation weighting factor for doses to nonhuman biota // J. Environ. Radioact. 2006. V. 87. P. 1–14. doi: 10.1016/j.jenvrad.2005.10.009
7. Zhmur N.S. Method for determination of toxicity and water extracts from soils, sewage sludge, waste by mortality and change in fertility of daphnia. Moskva: AKVAROS, 2007. 52 p. (in Russian).
8. Raskosha O.V., Ermakova O.V. Thyroid status of the eco-vests, living in conditions of increased natural

- radioactivity // Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya. 2013. No. 3. P. 309–315 (in Russian). doi: 10.7868/S0869803113030089
9. Olive P.L. DNA damage and repair in individual cells: applications of the comet assay in radiobiology // Int. J. Radiat. Biol. 1999. V. 75. No. 4. P. 395–405. doi: 10.1080/095530099140311
10. Shaposhnikova L.M., Shuktomova I.I. Consequences of radioactive decontamination by earthfill method in a former radium production site // Russian Journal of Ecology. 2015. V. 46. No. 3. P. 299–302. doi: 10.1134/S1067413615030108
11. Basic sanitary rules for ensuring radiation safety (BSRERS 22/2010): **Sanitary rules and regulations**. Moskva: Federal'nyy tsentr gigieny i epidemiologii Rospotrebnadzora, 2010. 83 p. (in Russian).
12. Shaposhnikova L.M., Rachkova N.G. Analysis of the effectiveness of the rehabilitation of the waste storage site for radium production in the Komi Republic // Geoecologiya. Ingenernaya geologiya. Hidrogeologiya. Geocriologiya. 2018. No. 2. P. 74–85 (in Russian). doi: 10.7868/S0869780318020072
13. Ivanov V.V. Ecological geochemistry of elements. Moskva: Nedra, 1994. V. 2. 303 p. (in Russian).
14. Sheppard S.C. Derivation of ecotoxicity thresholds for uranium // J. Environ. Radioact. 2005. V. 79. P. 55–83. doi: 10.1016/j.jenvrad.2004.05.015
15. Palmer M.R. Uranium in river water // Geochim. Cosmochim. Acta. 1993. V. 57. No. 20. P. 4947–4955. doi: 10.1016/0016-7037(93)90131-F
16. Bodnar' I.S., Cheban E.V., Zaynullin V.G. Ecotoxicological assessment of surface waters from the territory of the radioactive waste storage facility (Vodny village, Komi Republic) using duckweed *lemna minor* (*Lemna minor* L.) // Izvestiya Komi NC UrO RAN. 2017. V. 3 (31). P. 34–39 (in Russian).

## Эколого-токсикологическая оценка процесса биоремедиации нефтезагрязнённой почвы

© 2020. И. А. Дегтярева<sup>1,2</sup>, д. б. н., доцент, г. н. с.,  
Т. Ю. Мотина<sup>1,3</sup>, к. б. н., с. н. с., Э. В. Бабынин<sup>1,4</sup>, к. б. н., с. н. с.,  
А. М. Ежкова<sup>1,5</sup>, д. б. н., профессор, г. н. с.,  
А. Я. Давлетшина<sup>1</sup>, к. с.-х. н., с. н. с.,

<sup>1</sup>Татарский НИИ АХП ФИЦ КазНЦ РАН,  
420059, Россия, г. Казань, ул. Оренбургский тракт, д. 20а,

<sup>2</sup>Казанский национальный исследовательский технологический университет,  
420015, Россия, г. Казань, ул. Карла Маркса, д. 68,

<sup>3</sup>Казанский государственный аграрный университет,  
420015, Россия, г. Казань, ул. Карла Маркса, д. 65,

<sup>4</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет,  
420008, Россия, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18,

<sup>5</sup>Казанская ГАВМ,  
420029, Россия, г. Казань, Сибирский тракт, д. 35,

e-mail: peace-1963@mail.ru, motina.tatyana@mail.ru, edward.b67@mail.ru,  
egkova-am@mail.ru, kindness2006@mail.ru

В условиях вегетационного опыта проведён мониторинг серой лесной почвы, которую загрязняли девонской нефтью в концентрации 5 и 10% от массы почвы. Использовали батарею тестов: определяли содержание нефтепродуктов, количество углеводородокисляющих микроорганизмов, фитотоксичность. Для ремедиации применяли природный консорциум микроорганизмов-деструкторов (КМД), состоящий из трёх штаммов (*Achromobacter insolitus* A-102 (RCAM02108), *A. xylooxidans* A-10 (RCAM02109) и *Pseudomonas stutzeri* P-1026 (RCAM02107)) с титром  $(2,3-2,5) \cdot 10^{12}$  КОЕ/см<sup>3</sup>, а также в качестве сорбента бентонит в нативной (6 и 12 т/га) и наноразмерной (0,6 и 1,2 т/га) формах. При сравнении показателей содержания углеводов в динамике установлено, что высокий процент их утилизации отмечен на 45 сут при использовании по отдельности КМД и бентонита. Применение нанобентонита, а также комплексное внесение КМД с сорбентами в нативной и наноразмерной формах ускоряют этот процесс на 15 сут. Тенденция, отмеченная при 5% загрязнении нефтью, сохраняется и при увеличении загрязнения до 10%. Эколого-токсикологический анализ нефтезагрязнённой почвы на морфометрические показатели тест-растения (*Zea mays*) позволил выстроить ряд эффективности вносимых компонентов: КМД > КМД + наноразмерный бентонит > КМД + бентонит. Бентонит и нанобентонит не только сорбируют углеводороды, но и являются источником минерального питания для автохтонной микрофлоры, улучшая структуру почвы. Нанобентонит при меньшей в 10 раз дозе внесения способствует повышению эффективности очистки загрязнённой почвы по сравнению с бентонитом. Входящие в состав консорциума микроорганизмы-деструкторы активно встраиваются в естественные популяции, адаптируются и начинают эффективно разлагать углеводороды, используя их в качестве источника питания и энергии. Итак, совместное применение КМД и сорбента в нативной и наноразмерной формах позволяет обеспечить скорость деструкции нефтяного загрязнения на более высоком уровне по сравнению с использованием каждого компонента по отдельности.

**Ключевые слова:** почва, фитотестирование, нефть, микроорганизмы, сорбенты.

## Ecological and toxicological assessment of bioremediation of oil-contaminated soil

© 2020. I. A. Degtyareva<sup>1,2</sup>, ORCID: 0000-0002-1575-8493<sup>2</sup>

T. Yu. Motina<sup>1,3</sup>, ORCID: 0000-0002-6434-4721<sup>3</sup>, E. V. Babynin<sup>1,4</sup>, ORCID: 0000-0003-2285-8879<sup>4</sup>  
A. M. Ezhkova<sup>1,5</sup>, ORCID: 0000-0002-5526-2214<sup>5</sup>, A. Ya. Davletshina<sup>1</sup>, ORCID: 0000-0002-2790-6078<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tatar Scientific Research Institute of Agrochemistry and Soil Science, FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Science,  
20a, Orenburgsky Trakt, Kazan, Russia, 420059,

<sup>2</sup>Kazan National Research Technological University,  
68, Karla Marksa St., Kazan, Russia, 420015

<sup>3</sup>Kazan State Agrarian University,  
65, Karla Marksa St., Kazan, Russia, 420015,

<sup>4</sup>Kazan (Volga region) Federal University,  
18, Kremlevskaya St., Kazan, Russia, 420008,

<sup>5</sup>Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman,  
35, Sibirsky Trakt, Kazan, Russia, 420029,  
e-mail: peace-1963@mail.ru, motina.tatyana@mail.ru, edward.b67@mail.ru,  
egkova-am@mail.ru, kindness2006@mail.ru

Under the conditions of the growing season, the monitoring of gray forest soil was carried out, which was polluted with Devonian oil at a concentration of 5% and 10% by weight of the soil. The content of oil products, the amount of hydrocarbon-oxidizing microorganisms, and phytotoxicity were determined. For remediation, a natural consortium of microorganisms-destroyers (CMD) was used, consisting of three strains (*Achromobacter insolitus* A-102 (RCAM02108), *A. xylosoxidans* A-10 (RCAM02109) and *Pseudomonas stutzeri* P-1026 (RCAM02107) with titer  $(2.3-2.5) \cdot 10^{12}$  CFU/cm<sup>3</sup>, as well as bentonite in the native (6 and 12 ton/ha) and nanoscale (0.6 and 1.2 ton/ha) forms as a sorbent. When comparing the indicators of hydrocarbon content in the dynamics, it was found that a high percentage of their utilization was noted for 45 days when used separately CMD and bentonite. The use of nanobentonite, as well as the integrated application of CMD with sorbents in native and nanoscale forms, accelerate this process by 15 days. The trend observed at 5% oil pollution is maintained with an increase in pollution to 10%. Ecological and toxicological analysis of oil-contaminated soil on the morphometric parameters of the test plant (*Zea mays*) allowed us to build a series of effectiveness of the introduced components: CMD > CMD + nanobentonite > CMD + bentonite. Bentonite and nanobentonite, sorbing hydrocarbons, are a source of mineral nutrition for autochthonous microflora. Nanobentonite at a dose less than 10 times contributes to an increase in the efficiency of cleaning contaminated soil compared to bentonite. The combined use of CMD and sorbent in native and nanoscale forms allows us to ensure the rate of destruction of oil pollution at a higher level compared to using each component separately.

**Keywords:** soil, phytoassay, oil, microorganisms, sorbents.

Загрязнение почвы углеводородами (УВ) нефти остаётся серьёзной проблемой в промышленно развитых странах, так как вызывает нарушения динамического равновесия в экосистеме вследствие изменения структуры почвенного покрова, геохимических свойств почв, а также токсического действия на живые организмы [1–7]. На современном этапе развития в России разрабатываются и внедряются в производство научно-обоснованные технологии применения агроминералов в качестве сорбентов в регионах с загрязнениями продуктами нефтеперерабатывающих и химических предприятий. Особый интерес представляют автохтонные микроорганизмы-деструкторы и природные материалы с выраженной сорбционной активностью, широко распространённые в Республике Татарстан (РТ) – бентониты, фосфориты, цеолиты и др. [8]. Перспективным направлением для решения этой проблемы является применение инновационных препаратов, созданных на основе нанотехнологий, имеющих высокую сорбционную активность в отношении широкого спектра УВ и уменьшающих токсическое действие нефти на почву [9, 10]. Вследствие этого разработка комплексных методов очистки почвы от УВ нефти является актуальной и представляет собой активно развивающееся направление экологии, био- и нанотехнологии.

Целью данной работы являлась эколого-токсикологическая оценка процесса биоремедиации нефтезагрязнённой почвы.

## Объекты и методы исследования

Эффективный консорциум углеводород-окисляющих микроорганизмов (УОМ), у которого изучали углеводородокисляющую активность, способность к деструкции различных алифатических и ароматических УВ, солеустойчивость, был выделен из чернозёмной почвы Азнакаевского района Республики Татарстан [11]. Штаммы были идентифицированы методом установления нуклеотидной последовательности 16S рРНК и депонированы в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения: *Achromobacter insolitus* A-102 (RCAM02108); *A. xylosoxidans* A-10 (RCAM02109) и *Pseudomonas stutzeri* P-1026 (RCAM02107).

Использованный в качестве сорбента бентонит Тарн-Варского месторождения РТ имел следующий химический состав, в %: SiO<sub>2</sub> – 66,57; TiO<sub>2</sub> – 0,58; Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> – 17,04; Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> – 5,51; MnO – 0,03; CaO – 0,80; MgO – 1,5; Na<sub>2</sub>O – 0,2; K<sub>2</sub>O – 2,57; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – 0,09; SO<sub>3</sub> – 0,42; органическое вещество – 5,11. Сумма обменных катионов составила 45,98 мг-экв. на 100 г. Показатель сорбции составляет 58–62%. Минеральный состав в %: монтмориллонит – 80,0–82,0; гидрослюда – 6,0–8,0; каолинит – 6,0 и кварц – 5,0–7,0. Он имеет подвижную ленточно-слоистую структуру с разбухающими пакетами. Наноразмерный бентонит

получали методом ультразвукового воздействия на бентонитовую глину, которую подвергли термообработке до влажности 5,0–7,0% и механическому измельчению до 0,035 мм, добавляли в деионизированную воду в расчёте 25,0 г на 100,0 мл воды. Получение наноразмерного бентонита и исследование его структуры проводили в Научно-исследовательском инновационно-прикладном центре «Наноматериалы и нанотехнологии» г. Казани [10].

Серая лесная почва была отобрана на фоновой территории Альметьевского района РТ и имела следующую агрохимическую характеристику: гумус – 4,05%,  $pH_{\text{сол}}$  – 5,90 ед.,  $N_r$  – 1,23 мг-экв/100 г, сумма поглощённых оснований – 20,4 мг-экв/100 г,  $N_{\text{общ}}$  – 0,23%,  $P_2O_5$  – 130,0 мг/кг,  $K_2O$  – 118,5 мг/кг. Определение содержания УВ в почвенных образцах проводили в соответствии с ПНД Ф 16.1:2.2.22–98 [12]. Количество УОМ учитывали на среде Ворошиловой и Диановой и выражали в колониеобразующих единицах (КОЕ) на 1 г почвы после её высушивания при температуре 105 °С [13]. Фитотоксичность оценивали по воздействию водных вытяжек (в соотношении (по массе) почва : вода = 1 : 5) исследуемой почвы на проростки кукурузы спустя 7 сут. При фитотестировании сравнивали длины корней и побегов исследуемой культуры в контрольных и опытных вариантах [14].

Вегетационный опыт по изучению влияния консорциума УОМ и сорбента на скорость разложения УВ на серой лесной почве закладывали по схеме: 1) контроль (незагрязнённая почва); 2) почва + нефть (5 и 10%); 3) почва + нефть + консорциум микроорганизмов-

деструкторов (КМД); 4) почва + нефть + бентонит 6 т/га; 5) почва + нефть + бентонит 12 т/га; 6) почва + нефть + КМД + бентонит 6 т/га; 7) почва + нефть + КМД + бентонит 12 т/га; 8) почва + нефть + нанобентонит (НБ) 0,6 т/га; 9) почва + нефть + НБ 1,2 т/га; 10) почва + нефть + КМД + НБ 0,6 т/га; 11) почва + нефть + КМД + НБ 1,2 т/га. Почву загрязняли девонской нефтью в концентрации 5% и 10% от массы почвы. Консорциум микроорганизмов-деструкторов УВ вносили из расчёта 20 мл на вегетационный сосуд с титром  $(2,3-2,5) \cdot 10^{12}$  КОЕ/см<sup>3</sup>; бентонит – 6 и 12 т/га и нанобентонит – 0,6 т/га и 1,2 т/га. Вегетационный опыт проводили в теплице с естественным освещением в летний период в сосудах (6 кг). Пробы почв отбирали в динамике на 0, 30, 45, 60, 90 сут из всех вариантов опыта. Статистическую обработку результатов проводили с помощью электронных таблиц Excel и программы Origin 4.1. Достоверность различий полученных результатов оценивали с использованием *t*-критерия Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

При определении содержания УВ установлено, что в почве при 5% загрязнении нефтью этот показатель к концу эксперимента (90 сут) за счёт самоочищения уменьшился на 25,2% (табл. 1). При внесении в почву КМД уже на 45 сут содержание УВ снизилось на 31,4% и оставалось на этом уровне до 60 сут, а к концу эксперимента уменьшилось на 40,9%. Сравнение сорбентов в нативной и наноразмерной формах показало, что с внесением бентонита

Таблица 1 / Table 1  
Динамика снижения содержания углеводородов в серой лесной почве при её загрязнении 5% нефти  
Dynamics of reduction of hydrocarbons content in gray forest soil with 5% oil contamination

Вариант / Option	Сутки / Day				
	15	30	45	60	90
Контроль / Control	2,8	11,6	14,6	18,1	25,2
КМД + 5% нефти / CMD + 5% oil	6,5	18,2	31,4	31,0	40,9
Б 6 т/га + 5% нефти / B 6 ton/ha + 5% oil	6,9	16,0	27,9	29,2	35,9
Б 12 т/га + 5% нефти / B 12 ton/ha + 5% oil	9,5	17,7	30,0	31,6	44,4
КМД + Б 6 т/га + 5% нефти / CMD + B 6 ton/ha + 5% oil	10,8	21,9	32,7	38,1	47,3
КМД + Б 12 т/га + 5% нефти / CMD + B 12 ton/ha + 5% oil	10,5	26,9	34,3	42,8	53,1
НБ 0,6 т/га + 5% нефти / NB 0,6 ton/ha + 5% oil	8,7	25,0	31,0	30,5	39,0
НБ 1,2 т/га + 5% нефти / NB 1,2 ton/ha + 5% oil	16,8	33,1	34,1	38,9	44,2
КМД + НБ 0,6 т/га + 5% нефти / CMD + NB 0,6 ton/ha + 5% oil	18,5	34,1	39,6	42,4	49,9
КМД + НБ 1,2 т/га + 5% нефти / CMD + NB 1,2 ton/ha + 5% oil	19,9	37,1	44,4	48,1	54,4

Примечание: КМД – консорциум микроорганизмов-деструкторов; Б – бентонит; НБ – нанобентонит.  
Note: CMD – consortium of microorganisms- destructors; B – bentonite; NB – nanobentonite.

Таблица 2 / Table 2

Динамика снижения содержания углеводородов в серой лесной почве при 10% загрязнении  
The dynamics of reducing the amount of hydrocarbons in the gray forest soil at 10% pollution

Вариант / Option	Сутки / Day				
	15	30	45	60	90
Контроль / Control	10,5	19,0	25,4	29,1	32,9
КМД + 10% нефти / CMD + 10% oil	20,9	40,4	44,2	49,2	54,5
Б 6 т/га + 10% нефти / B 6 ton/ha + 10% oil	24,0	31,7	32,1	40,3	41,6
Б 12 т/га + 10% нефти / B 12 ton/ha + 10% oil	17,2	34,5	36,5	47,8	52,6
КМД + Б 6 т/га + 10% нефти / CMD + B 6 ton/ha + 10% oil	25,9	44,2	45,8	48,9	51,6
КМД + Б 12 т/га + 10% нефти / CMD + B 12 ton/ha + 10% oil	24,9	33,8	36,1	43,4	54,8
НБ 0,6 т/га + 10% нефти / NB 0,6 ton/ha + 10% oil	23,6	35,1	37,6	41,0	53,2
НБ 1,2 т/га + 10% нефти / NB 1,2 ton/ha + 10% oil	22,8	39,1	47,8	51,1	54,1
КМД + НБ 0,6 т/га + 10% нефти / CMD + NB 0,6 ton/ha + 10% oil	23,2	40,2	43,4	44,2	57,2
КМД + НБ 1,2 т/га + 10% нефти / CMD + NB 1,2 ton/ha + 10% oil	24,6	39,9	51,1	52,2	60,1

Примечание: КМД – консорциум микроорганизмов-деструкторов; Б – бентонит; НБ – нанобентонит.  
Note: CMD – consortium of microorganisms-destructors; B – bentonite; NB – nanobentonite.

в дозе 12 т/га и нанобентонита в дозе 1,2 т/га содержание УВ на 90 сут уменьшилось практически одинаково (44,4 и 44,2% соответственно). Наиболее эффективно содержание УВ снизилось в вариантах с внесением КМД и бентонита в дозе 12 т/га, а также КМД с НБ в дозе 1,2 т/га – на 53,1 и 54,4% соответственно.

О том, что 5%-ное нефтезагрязнение в меньшей степени ингибирует некоторые физиолого-биохимические параметры растений *P. arundinacea* по сравнению с 10%-ным, отмечено в исследованиях [15].

В почве, при 10% загрязнении нефтью, содержание УВ к концу эксперимента за счёт самоочищения уменьшилось на 32,9% (табл. 2). Если при 5% загрязнении нефтью уже на 30 сут получены высокие показатели снижения содержания УВ, то при увеличении концентрации вносимой нефти только на 45 сут в ряде вариантов наблюдали существенное снижение УВ. На 30 сут содержание УВ уменьшилось при внесении в почву НБ в дозах 0,6 и 1,2 т/га. В почве, при 10% загрязнении нефтью, наибольшее снижение содержания УВ в динамике отмечено при совместном внесении КМД с НБ в дозе 1,2 т/га, что сопоставимо с 5% загрязнением. Применение автохтонной микрофлоры для биоремедиации почвенных экосистем встречается во многих публикациях [16–18].

Следующим этапом исследований стала оценка состояния почвенного микробиоценоза, для которой использовали показатель присутствия УОМ как один из наиболее информативных критериев состояния загрязнённой среды. В контрольной незагрязнённой почве их численность в течение всего эксперимента

находилась в пределах  $(3,0–5,5) \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы. При 5% загрязнении нефтью на 15 сут количество УОМ составило  $10,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г, на 45 сут – увеличилось в 4,5 раза, а к концу эксперимента уменьшилось до  $30,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы. При внесении в загрязнённую почву КМД численность изучаемой группы микроорганизмов на 15 сут была в два раза выше по сравнению с почвой, при 5% загрязнении нефтью. К 45 сут их количество увеличилось в 4,3 раза, достигнув  $86,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы и затем практически не менялось до конца эксперимента. При внесении в почву бентонита в дозах 6 и 12 т/га численность УОМ в этот период была ниже в 1,6 и 1,4 раза соответственно по сравнению с вариантом, где вносили только КМД, но выше в 1,2 и 1,4 раза по сравнению с загрязнённой почвой, что, вероятно, связано с тем, что бентонит не только сорбирует УВ нефти, но и является источником питания для микроорганизмов. На 45 сут их численность составила  $100,0 \cdot 10^3$  и  $121,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы, что выше, чем в варианте с внесением консорциума УОМ в 1,2 и 1,4 раза соответственно. Однако к концу эксперимента их количество снизилось до  $60,0 \cdot 10^3$  и  $70,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы, что немного ниже показателей в варианте с внесением КМД.

Необходимо отметить, что во всех вариантах с добавлением в почву бентонита максимальная численность УОМ была отмечена на 45 сут. Наибольшее увеличение численности по сравнению с контрольными вариантами отмечено при внесении КМД совместно с бентонитом 12 т/га и составило  $160,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы, что в 5,3 раза выше по сравнению с 15 сут. К концу эксперимента численность УОМ

несколько уменьшилась ( $112,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы). При комплексном использовании КМД и бентонита в дозе 6 т/га наблюдали уменьшение численности микроорганизмов-деструкторов в 1,1–1,2 раза, что меньше по сравнению с таковым, где вносили КМД совместно с бентонитом в дозе 12 т/га. Инновационный сорбент влиял на численность УОМ следующим образом. При внесении в почву НБ в дозах 0,6 и 1,2 т/га численность этой группы микроорганизмов на протяжении всего эксперимента была немного ниже по сравнению с вариантами с внесением КМД, а также бентонита в дозах 6 т/га и 12 т/га. Только при внесении НБ (дозы 0,6 и 1,2 т/га) было отмечено резкое увеличение численности к 45 сут в 7,3 и 7,0 раза. В этих же вариантах зафиксировали снижение количества УОМ к 90 сут в 3,2 и 2,6 раза соответственно. При совместном внесении в почву КМД и НБ численность УОМ была выше по сравнению с вариантами, где данные компоненты вносились по отдельности. Наибольшее количество УОМ отмечено на 45 сут в варианте КМД + НБ 1,2 т/га ( $120,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы). Однако по сравнению с вариантами, где вносили КМД с бентонитом, численность была ниже в 1,3–1,5 раза. Это, вероятно, связано со значительно меньшей дозой внесения нанобентонита. Таким образом, при 5% загрязнении нефтью при комплексном внесении в почву КМД и НБ численность микроорганизмов-деструкторов была выше по сравнению с вариантами, где данные компоненты вносились по отдельности.

При 10% загрязнении почвы нефтью численность УОМ на 15 сут была выше в 1,3 раза по сравнению с 5% загрязнением нефтью. Однако к 45 сут их количество увеличилось только в 1,6 раза (до  $20,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы) и было в 2,3 раза ниже, чем при 5% загрязнении. К 90 сут количество УОМ резко уменьшилось (в 5,7 раза). При внесении в нефтезагрязнённую почву КМД их количество на 15 сут увеличилось в 1,6 раза и было сопоставимо с данными при 5% загрязнении почвы. К 45 сут их численность увеличилась в 1,5 раза, а к концу эксперимента упала до  $15,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы. При внесении в почву бентонита в дозах 6 и 12 т/га, как и в предыдущем случае, пик численности УОМ был отмечен на 45 сут, однако эти показатели значительно ниже таковых при 5% загрязнении. В вариантах с комплексным внесением в почву КМД с бентонитом на 15 сут показатели были немного выше, чем при отдельном

внесении каждого из компонентов. Однако на 45 сут их количество увеличилось в 2,0–2,4 раза и превысило показатели численности при отдельном внесении бентонита и КМД. Во всех вариантах с внесением НБ численность УОМ была меньше или аналогичной вариантам с внесением бентонита. На 90 сут отмечено резкое снижение их количества в 3,4 раза в вариантах НБ 0,6 т/га и в 1,9 раза – НБ 1,2 т/га. Максимальную численность наблюдали на 45 сут в варианте КМД с НБ 1,2 т/га ( $45,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы), а к 90 сут отмечали снижение их количества в 3 раза. Сравнивая численность УОМ при различной степени загрязнения нефтью можно констатировать, что большее их количество наблюдается при меньшем загрязнении. Среди исследований, посвящённых микробиоценозу нарушенных почв, отметим работу [19], в которой приводятся данные почвенно-экологического состояния и биологических параметров таких земель, и сообщается, что в результате загрязнения происходит угнетение микробного сообщества.

В оценке экологического состояния почв за комплексный показатель загрязнения почвы принимают фитотоксичность, то есть её свойство подавлять прорастание семян, рост и развитие высших растений [20]. При изучении фитотоксичности серой лесной почвы при 5% и 10% загрязнении нефтью было установлено их разное действие на развитие корней и побегов. Стимулирующее влияние почвенной вытяжки при исследованных уровнях загрязнения на все изучаемые показатели отмечали только в варианте с внесением КМД. Несколько меньшее стимулирование наблюдали в варианте КМД + НБ 1,2 т/га при 5% загрязнении. Во всех опытных вариантах отмечали стимулирующий эффект почвенной вытяжки на морфометрические показатели к 90 сут при 5% загрязнении. При увеличении концентрации до 10% усиливался фитотоксический эффект. При этом стимулирующий эффект был отмечен только в варианте с внесением КМД + НБ 1,2 т/га. Максимальный положительный эффект на биомассу корней и побегов отмечали в варианте с совместным применением КМД и бентонита в дозе 12 т/га при 5% загрязнении нефтью. Подобные исследования о влиянии нефтезагрязнённой почвы на тест-растения приведены в работе [21], где представлен ряд параметров растений пшеницы и гороха по степени их чувствительности: длина корней > биомасса корней > биомасса побегов > длина побегов.



## Заклучение

При сравнении показателей содержания УВ в серой лесной нефтезагрязнённой почве установлено, что высокий процент их утилизации отмечен на 45 сут при использовании по отдельности КМД и бентонита. Применение наносорбента, а также комплексное внесение консорциума с сорбентами в нативной и наноразмерной формах ускоряет этот процесс на 15 сут. Тенденция, отмеченная при 5% загрязнении нефти, сохраняется и при увеличении загрязнения до 10%. Экологотоксикологический анализ нефтезагрязнённой почвы на морфометрические показатели позволил выстроить ряд эффективности вносимых компонентов: КМД > КМД + НБ > КМД + бентонит.

Бентонит и нанобентонит не только сорбируют УВ, но и являются источником минерального питания для автохтонной микрофлоры, улучшая структуру почвы. Нанобентонит при меньшей в 10 раз дозе внесения способствует повышению эффективности очистки загрязнённой почвы по сравнению с бентонитом. Совместное применение КМД и сорбента в нативной и наноразмерной формах позволяет обеспечить скорость деструкции нефтяного загрязнения на более высоком уровне по сравнению с использованием каждого компонента по отдельности.

## References

1. Kireeva N.A., Bakaeva M.D. Reclamation of disturbed land. Ufa: RIO BashGU, 2005. 208 p. (in Russian).
2. Yapparov A.Kh., Degtyareva I.A., Ezhkova A.M., Yapparov I.A., Sharonova N.L., Davletshina A.Ya., Shaydullina I.A. Remediation of oil contaminated dark gray forest soil using nanosorbent and a consortium of native hydrocarbon-oxidizing microorganisms // Oil industry. 2016. No. 1. P. 115–117 (in Russian).
3. Abbasian F., Lockington R., Megharaj M., Naidu R. The biodiversity changes in the microbial population of soils contaminated with crude oil // Current Microbiology. 2016. V. 72. No. 6. P. 663–670. doi: 10.1007/s00284-016-1001-4
4. Desforjes J.W., Sonne C., Levin M., Siebert U., Guise S.D., Dietz R. Immunotoxic effects of environmental pollutants in marine mammals // Environ. Int. 2016. No. 86. P. 126–139.
5. Adgate J.L., Goldstein B.D., McKenzie L.M. Potential public health hazards, exposures and health effects from unconventional natural gas development // Environ Sci Technol. 2014. No. 48. P. 8307–8320.
6. Chandra S., Sharma R., Singh K., Sharma A. Application of bioremediation technology in the environ-

ment contaminated with petroleum hydrocarbon // Ann. Microbiol. 2013. No. 63. P. 417–431. doi: 10.1007/s13213-012-0543-3

7. Costa A.S., Romao L.P., Araujo B.R., Lucas S.C., Maciel S.T., Wisniewski Jr.A., Alexandre M.R. Environmental strategies to remove volatile aromatic fractions (BTEX) from petroleum industry wastewater using biomass // Bioresour. Technol. 2012. No. 105. P. 31–39.

8. Ezhkov V.O., Yapparov A.Kh., Nefedev E.S., Nanostructured minerals: formation, chemical and mineral composition, structure and physico-chemical properties // Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta. 2014. V. 17. No. 11. P. 41–45 (in Russian).

9. Degtyareva I.A., Ezhkova A.M., Yapparov A.K., Yapparov I.A., Ezhkov V.O., Davletshina A.Ya., Motina T.Y., Babynin E.V., Yapparov D.A. Production of nanobentonite and the study of its effect on mutagenesis in bacteria *Salmonella typhimurium* // Nanotechnologies in Russia. 2016. V. 11. No. 9–10. P. 663–670. doi: 10.1134/S1995078016050050

10. Ezhkova A.M., Yapparov A.Kh., Ezhkov V.O., Yapparov I.A., Sharonova N.L., Degtyareva I.A., Khisamutdinov N.Sh., Bikkinina L.M.-Kh. Fabrication of nanoscale bentonite, study of its structure and toxic properties, and determination of safe doses // Nanotechnologies in Russia. 2015. V. 10. No. 1–2. P. 120–127. doi: 10.1134/S1995078015010061

11. Degtyareva I.A., Hidiyatullina A.Ya. Remediation of oil-contaminated soil using microorganisms-destroyers and bentonite // Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta. 2012. V. 15. No. 5. P. 134–136 (in Russian).

12. Method of measuring the mass fraction of petroleum products in soils and bottom sediments by IR spectrometry. MON F 16.1:2.2.22-98. Moskva, 1998. 35 p. (in Russian).

13. Zenova G.M., Stepanov A.L., Likhacheva N.Ah. Practice on soil biology. Moskva: Izdatelstvo Moskovskogo universiteta, 2002. 120 p. (in Russian).

14. Alimova F.K., Zakharova N.G., Egorov Y.S. Methodical instructions to performance of laboratory works on the topic: Ecology of microorganisms. Kazan: KSU Publishing house, 1993. 42 p. (in Russian).

15. Sharapova I.E., Lapteva E.M., Maslova S.P., Tabalenkova G.I., Garabadjiu A.V. Using the integral coefficient of soil biological activity and the phytotoxicity index for accessing phytoremediation of oil-polluted soils // Theoretical and Applied Ecology. 2015. No. 2. P. 67–73 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2015-2-042-067-073

16. Tumanov A.S., Ashikhmina T.Ya., Leshchenko A.A., Pogorelsky I.P., Sharov S.A., Teterin V.V., Lazykin A.G., Filimonova G.V., Ezhov A.V., Permyakov R.G. Bio-preparation with a broad spectrum of bio-degradative activity for soil remediation in the chemical weapons destruction plant “Maradykovsky” // Theoretical and Applied Ecology. 2015. No. 3. P. 61–69 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2015-3-042-061-069

17. Korshunova T.Yu., 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

18. Lazykin A.G., Leshchenko A.A., Ashikhmina T.Ya., Pogorelsky I.P., Darmov I.V., Lundovskikh I.A., Ustyuzhanin I.A., Sharov S.A. Assessment of the possibility of using plant-microbial associations in biotechnology of soil remediation at the facility “Maradykovskiy” // *Theoretical and Applied Ecology*. 2016. No. 4. P. 96–104 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2016-4-096-104

19. Pigareva T.A., Abakumov E.V. Biological parameters of soil and anthropogenic substrates of tailing dumps

of an iron ore mine // *Theoretical and Applied Ecology*. 2015. No. 1. P. 28–33 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2015-1-028-033

20. Kulikova O.A., Terekhova V.A., Mazlova E.A., Nishkevich Yu.A., Kydraliev K.A. Ecotoxicological characteristics of oil-contaminated soils (sludges) after their reagent treatment // *Theoretical and Applied Ecology*. 2019. No. 3. P. 120–126 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-3-120-126

21. Rakhmanova G.F. Agrochemical and biological properties of oil-contaminated gray forest soil in the process of remediation under the action of nanostructured bentonite: Diss. ... candidate of agricultural Sciences: 06.01.04. Kazan, 2019. 205 p. (in Russian).

## Городские особо охраняемые природные территории в зелёной инфраструктуре города Хабаровска

© 2020. И. Д. Дебелая, к. г. н., с. н. с., Г. Ю. Морозова, к. б. н., в. н. с.,  
Институт водных и экологических проблем ДВО РАН,  
680000, Россия, г. Хабаровск, ул. Дикопольцева, д. 56,  
e-mail: debelaya@rambler.ru, morozova-ivep@mail.ru

Особо охраняемые природные территории (ООПТ) служат важным элементом зелёной инфраструктуры г. Хабаровска. Целью работы является изучение проблем функционирования ООПТ г. Хабаровска на основе геоботанического, лесотаксационного и картографического методов исследования. Проведена оценка некоторых экосистемных услуг городского парка. Система ООПТ г. Хабаровска включает 29 объектов регионального и местного значения, дифференцированных на 7 категорий: памятники природы краевого и местного значения, парковые зоны, рекреационные зоны, охраняемые природные объекты, скверы и природно-рекреационные комплексы. Площадь ООПТ составляет 1,5% от площади г. Хабаровска. К особенностям функционирования ООПТ города относятся неблагоприятное экологическое окружение, высокие природные и антропогенные риски и многофункциональное использование. Проблемы развития системы городских ООПТ включают незначительную общую площадь охраняемых объектов; неравномерность распределения их в городской черте; низкую представительность природных ландшафтов, несмотря на короткий период освоения городской территории; утрату устойчивости и саморегуляции; сокращение биоразнообразия. Деятельность ООПТ слабо интегрирована в экономику г. Хабаровска из-за отсутствия единого органа управления, стабильного финансирования и планов инвестиционного развития. Для принятия управленческих решений необходимы ревизия ООПТ, детализация их классификации, использование современных информационных технологий. Перспективы развития системы ООПТ и расширения спектра категорий возможно за счёт зарезервированных городских земель. Область применения результатов: муниципальное управление, экологическое планирование городской территории.

**Ключевые слова:** городские особо охраняемые природные территории, городское планирование, зелёная инфраструктура, экосистемные услуги.

## Urban protected areas in green infrastructure of Khabarovsk City

© 2020. I. D. Debelaya ORCID: 0000-0002-0191-2306\*

G. Yu. Morozova ORCID: 0000-0003-1183-3430\*

Institute for Water and Ecology Problems FEB RAS,  
56, Dikopolzeva St., Khabarovsk, Russia, 680000,  
e-mail: debelaya@rambler.ru, morozova-ivep@mail.ru

Urban protected areas (PAs) are important elements of the city's green infrastructure that are being formed to support their sustainable development. The purpose of the work is to identify the main trends of the PAs functioning in the city of Khabarovsk. Geobotanic, forest taxation, cartographic methods were used in this research. Using the example of the oldest city park, Dynamo Park, some ecosystem services were evaluated. The total area of PAs occupies 1.5% of the Khabarovsk territory. The system of Khabarovsk PAs includes 29 objects of regional and local importance, which are differentiated into 7 categories: natural sanctuaries that are valuable on regional and local scale, parks, recreational areas and complexes, city squares and protected natural objects. The development of PAs in Khabarovsk is influenced by the rapid growth of urbanization, overall unfavorable environmental situation, high natural and anthropogenic risks, residential demands and expectations to arrange the most comfortable urban environment. The problems of formation of the urban PAs system are determined as lack of proper authorities, stable fundings and suitable investment planning; insignificant area for protected objects; uneven objects distribution within the city boundaries; the disparity of protected objects; low representation of natural landscapes despite the short termed area development; loss of stability and self-regulation as well as loss of biodiversity; multifunctional use of the protected objects territory. The perspectives of developmental increasing for certain parts of specially protected natural areas and expanding the range of their categories would be determined by reserving more of the urban lands. The results of the research could be applied to the improvement of urban development planning, municipal management.

**Keywords:** protected areas in the cities, urban planning, green infrastructure, ecosystem services.

Основой устойчивого развития городов является рациональная пространственная организация территории. Городские особо охраняемые природные территории (ООПТ), как сохранившиеся «островки природы», находятся в поле зрения российских [1–3] и зарубежных исследователей [5–7]. Число ООПТ местного уровня незначительно, однако отмечен рост их площадей и категорий [8]. Муниципальный уровень управления создаёт предпосылки для разработки эффективной системы мероприятий, обеспечивающей рациональное природопользование и устойчивое развитие урбанизированной территории [2].

Юридический статус ООПТ защищает городские земли, имеющие природоохранное, ландшафтно-архитектурное, рекреационное значение. Органам регионального и местного управления законодательно предоставляются полномочия для организации новых категорий охраняемых объектов с учётом индивидуальных особенностей поселений. Однако выделение различных категорий ООПТ создаёт трудности, препятствующие их сопоставлению и анализу развития в России [8] и за рубежом [9]. Критериями для отнесения объектов к ООПТ на федеральном и региональном уровнях управления служат их уникальность, редкость или типичность для территории. В городах «типичное» часто превращается в «уникальное».

Стремительные темпы урбанизации усиливают значение ООПТ для стабилизации экологической ситуации и создания комфортной городской среды. Особенности организации, функционирования и классификации ООПТ изучены недостаточно, что негативно сказывается на принятии управленческих решений, направленных на устойчивое развитие городов.

Целью работы является изучение роли ООПТ в зелёной инфраструктуре г. Хабаровска. Задачи исследований включали определение роли ООПТ в зелёной инфраструктуре города; анализ структуры и тенденций функционального использования различных категорий ООПТ, определение перспектив их развития.

### Материалы и методы исследований

В работе использованы материалы геоботанических исследований городской растительности и результаты маршрутных наблюдений, данные инвентаризации городских насаждений (2002–2017 гг.), выполненные

сотрудниками Института водных и экологических проблем Дальневосточного отделения Российской академии наук (ИВЭП ДВО РАН). Проанализированы нормативно-правовые документы, топографические и тематические карты, фондовые материалы Управления по охране окружающей среды и природных ресурсов администрации г. Хабаровска, ИВЭП ДВО РАН, ДальНИИЛХ. Метод «затраты – выгоды» позволил оценить эффективность муниципальной программы по улучшению комфортности городской среды. Проведена оценка некоторых экосистемных услуг парка: расчёт способности территории перехватывать воду в виде осадков, тем самым очищая её, препятствуя почвенной эрозии и разгружая ливневую канализацию [10]:

$$R_b = (\Delta C_r \cdot r) / S_1,$$

где  $R_b$  – стоимость водоохраной функции насаждений (руб.);  $\Delta C_r$  – объём «задержанной» насаждениями воды ( $m^3$ );  $r$  – стоимость  $1 m^3$  воды для данной экономической зоны (руб./ $m^3$ );  $S_1$  – лесистость водосборной площади (%).

### Результаты и обсуждение

Особо охраняемые природные территории являются частью глобальной системы территориальной охраны природы, требующей самостоятельных правовых решений [8] и основой зелёной инфраструктуры (ЗИ) городов. В ЗИ, представляющей собой сеть управляемых природных и антропогенно изменённых участков с экологическими особенностями [4–5], ООПТ играют ключевое значение для стабилизации экологической ситуации и повышения качества жизни населения [7], сохранения биоразнообразия [11–14] и предоставления экосистемных услуг [15].

Доля городского населения в Дальневосточном федеральном округе (ДФО) составляет 75,6%, что превышает средний показатель по Российской Федерации (РФ) (74,1%). Анализ развития городов РФ и ДФО позволил выделить факторы, определяющие функционирование ООПТ. Социально-экономические факторы: дефицит бюджета, территориальные ограничения, многообразие форм антропогенной деятельности, конфликты между землепользователями, высокая стоимость земель. Природные и экологические факторы: неблагоприятный экологический фон, недостаток природных ландшафтов, низкая устойчивость

ценозов. Организационно-административные факторы: отсутствие единого органа управления ООПТ, большие затраты на поддержание их деятельности; многофункциональное использование, развитие корпоративного волонтерства.

Город Хабаровск – крупнейший многофункциональный центр ДФО. Площадь города – 388,73 км, население на 01.01.2019 г. – 617465 чел. Локализация зелёных массивов определяет ландшафтно-планировочную структуру города. Изначально в г. Хабаровске растительность была представлена островными мелколиственными лесами, маревыми лиственничниками и заболоченными лугами. Хвойно-широколиственные леса произрастали на повышенных формах рельефа в предгорьях хребта Большой Хехцир, на Воронежских высотах и на высоких берегах р. Амур. Формирование зелёного фонда г. Хабаровска прошло традиционный путь бурно развивающихся поселений ДФО – от повсеместного уничтожения коренного почвенно-растительного покрова до сохранения фрагментов природных ландшафтов. В конце XIX – начале XX вв. были организованы общественные сады, садово-приусадебное и уличное озеленение. В середине XX в. созданы парки, скверы, бульвары. К 1960 г. было высажено 1,7 млн шт. деревьев и кустарников, засеяно 100 га газонов, построено 32 сквера. Площадь насаждений в 1961 г. была доведена до 18 м<sup>2</sup>/чел. [3]. Современная ЗИ города включает старейшие сады-парки в центре города; дендрарий; парки и рощи советского периода; питомники; бульвары;

скверы; парки учреждений; озеленение общественных пространств и транспортных магистралей; насаждения санитарно-защитных зон; внутриквартальное озеленение и насаждения частной застройки; одичавшие насаждения и рудеральные сообщества межселенных пространств, озеленение дачных участков. В ЗИ г. Хабаровска ООПТ являются наиболее ценными объектами. В систему ООПТ включены 29 объектов – ООПТ краевого (5 шт.) и местного значения (24 шт.). Площадь городских ООПТ составляет 567,8 га, из них ООПТ краевого значения – 210,7 га; ООПТ местного значения – 357,1 га [15] (табл. 1), ООПТ федерального значения отсутствуют. Особо охраняемые природные территории краевого значения – памятники природы, в основном предназначены для научно-исследовательских и образовательных целей: питомник им. А.М. Лукашова (162,2 га), сад Дальневосточного НИИ сельского хозяйства (26,4 га), Дендрарий НИИ лесного хозяйства (11,4 га) и др. Среди ООПТ местного значения наибольшую площадь занимает памятник природы – питомник декоративных культур (117,0 га), а также природно-рекреационные комплексы (114,7 га) (табл. 1).

Площадь ООПТ составляет лишь 1,5% от общей площади города. Несмотря на короткий период освоения и заселения территории – 160 лет, доля природных ландшафтов в г. Хабаровске крайне низкая – 19,5% от площади всех ООПТ. Проанализирована доля ООПТ в общей площади некоторых поселений Урала, Сибири и Дальнего Востока (табл. 2). ООПТ

Таблица 1 / Table 1  
Категории особо охраняемых природных территорий (ООПТ) города Хабаровска [16]  
Categories of protected area (PAs) of Khabarovsk City [16]

№ No.	Категории ООПТ города Categories of protected area (PAs)	Общая площадь, га/% от общей площади ООПТ Total area, ha/% of total PAs area
I.	ООПТ краевого значения <i>Regional specially protected natural area</i>	210,7 / 37,1
1.	Памятники природы / Nature sanctuaries	210,7 / 37,1
II.	ООПТ местного значения <i>Local specially protected natural area (SPNA)</i>	357,1 / 62,9
1.	Памятники природы / Nature sanctuaries	117,0 / 20,6
2.	Парковые зоны / Park-area	79,5 / 18,6
3.	Рекреационная зона / Recreation area	1,4 / 0,3
4.	Охраняемые природные объекты Protected natural objects	27,9 / 4,9
5.	Скверы / Public gardens	16,7 / 2,9
6.	Природно-рекреационные комплексы Natural recreation complexes	114,7 / 15,6

Таблица 2 / Table 2

Сравнительная характеристика ООПТ в городах России (2018 г.) [16–21]  
Comparative characteristic of PAs in Russian cities (2018) [16–21]

Город City	Площадь города, км <sup>2</sup> City area, km <sup>2</sup>	Численность населения, чел. Population, people	Общая площадь ООПТ, га/ООПТ от площади города, % Total area of PAs, ha / PAs from the total city area, %	Категории ООПТ разного уровня, шт. PAs categories of different level, pieces	ООПТ регио- нального и местного уровней, шт. Regional and local levels PAs, pieces
Хабаровск / Khabarovsk	388,7	618150	563,13/1,4	7	28
Комсомольск-на-Амуре Komsomolsk-na-Amure	325,0	248254	610/1,9	1	1
Магадан / Magadan	295,0	92000	1924,6 / 6,5	3	10
Иркутск / Irkutsk	277,0	623869	197,5 / 0,7	3	4
Пермь / Perm	799,0	1051583	10875,6/13,6	5	19
Екатеринбург Ekaterinburg	468,0	1468833	19 740,6/17,0	8	49

г. Екатеринбурга занимают 17,0% от площади города [1]. В г. Перми, где период освоения территории около 300 лет, сохранены уникальные городские леса – эталоны широколиственно-елово-пихтовых лесов Пермской области. Доля ООПТ от общей площади г. Перми в 2017 г. – 13,6%, к 2019 г. планируется её увеличение до 15,9%. Процент крупных ООПТ с сохранением естественных ландшафтов составил в 2017 г. 98,8% [17].

Природно-исторические особенности, современное градостроительное освоение и экономическая ситуация определяют специфику типологии ООПТ. Анализ нормативных документов показал многообразие выделяемых категорий ООПТ в разных городах. В городскую черту г. Владивостока включено четыре ООПТ федерального значения [18]. В г. Екатеринбурге организовано 49 ООПТ регионального и местного значения, относящихся к 8 категориям [1]. В г. Комсомольске-на-Амуре из трёх ООПТ местного значения (лесопарковая зона) [19] осталась одна. В г. Хабаровске зарегистрированы семь категорий ООПТ – памятники природы краевого и местного значения, парковые зоны, рекреационные зоны, охраняемые природные объекты, скверы и природно-рекреационные комплексы. Скверы выполняют транзитные, архитектурно-декоративные, рекреационные функции и в меньшей степени – улучшение микроклимата вдоль автомагистралей. Они предназначены для кратковременного отдыха, испытывают высокие техногенные нагрузки и не обеспечены особой охраной. Правильнее скверы отнести к охраняемым природным территориям (ОПТ).

Правовыми документами определены границы ООПТ г. Хабаровска, разработаны регламенты и экологические ограничения [16]. Важной задачей является инвентаризация, дающая информацию об их современном состоянии. Крупные ООПТ (парковые зоны санаториев) представлены фрагментами деградированной лесной растительности. При высоком уровне антропогенного воздействия здесь сохранились фитоценозы с многоярусной структурой и разнообразием лесных видов. В зелёной зоне топографического техникума, парке 50-летия СССР, парковой зоне санатория «Богдановка» произрастает растение *Dioscorea nipponica* Makino, занесённое в Красную книгу Хабаровского края [22].

Особо охраняемые природные территории г. Хабаровска расположены неравномерно. В центре находятся старейшие охраняемые объекты – памятники природы краевого значения: дендрарий с богатейшей коллекцией растений, питомник им. П.Г. Шуранова с коллекциями фруктовых деревьев, Центральный парк культуры и отдыха; ООПТ местного значения – парковые зоны: «Динамо» и детский парк им. А. Гайдара. В северной части города расположены крупные по площади ООПТ: памятник природы краевого значения – питомник им. А.М. Лукашова с плантацией плодовых растений; парковые зоны – зелёная роща топографического техникума с фрагментами ясеневых лесов, парк 50-летия СССР с естественной и искусственной растительностью; охраняемые природные объекты – парковые зоны с выходом к р. Амур. В промышленной южной части не сохранены

зелёные массивы, поэтому здесь организованы скверы. В восточной части города располагаются памятники природы краевого значения – питомник декоративных культур, сад ДальНИИСХ, а также скверы.

Все ООПТ г. Хабаровска объединены в систему зелёными коридорами, роль которых выполняет уличное озеленение. Несмотря на большой спектр категорий ООПТ, их многофункциональное использование, разнообразность и качество, природоохранная функция остаётся приоритетной. Островной характер распределения ООПТ г. Хабаровска обусловлен недостатком естественных экосистем. На ООПТ представлены неустойчивые деградированные растительные сообщества с низким уровнем разнообразия аборигенных растений. Увеличение биоразнообразия происходит за счёт проникновения рудеральных растений. В парковых зонах и скверах высока доля интродуцентов (*Populus balsamifera* L., *Ulmus pumila* L., *Acer negundo* L. и др.). Распространение рудеральных видов – это следствие их адаптации, высокого репродуктивного давления и низкой замкнутости урбофитоценозов. Рудеральные ценозы рассматриваются как первичная сингенетическая сукцессия [23], наблюдается интеграция рудералов в современный городской ландшафт [24]. На ООПТ высока доля инвазионных видов (*Hordeum jubatum* L., *Conyza canadensis* (L.) Cronq. и др.).

Развитие системы ООПТ г. Хабаровска требует стабильного финансирования. Дефицит городского бюджета не позволяет обеспечить в полном объёме содержание отдельных объектов. Питомник им. П.Г. Шуранова, парки 50-летия СССР и спиртзавода представляют заброшенные территории. Требуется лесохозяйственный уход в питомнике им. А.М. Лукашова и роце топографического техникума. Необходимо ландшафтное обустройство природно-рекреационных комплексов «Ореховая сопка» и «Пчёлка». Деятельность ООПТ слабо интегрирована в экономику города. Многие объекты не выполняют рекреационные и образовательные функции. Необходима ревизия ООПТ с учётом природоохранного потенциала и их инвестиционной привлекательности. Отдых в парках – высоко оцениваемая экосистемная услуга [3, 15]. На ООПТ местного значения парка «Динамо» прослежена динамика сокращения озеленённой части по отношению к общей площади, которая снизилась с 78% в 2006 г. до 63% в 2016 г. за счёт развития парковой инфра-

структуры и выведения части земель из состава парка. Анализ эффективности работы ООПТ по методу «затраты – выгоды» показал, что при ежегодном бюджетном финансировании 16,5 млн руб. на содержание предприятия (данные 2016 г.) парк оказывал услуги на 9 млн руб. (без учёта поступлений от наружной рекламы). Оценка экосистемных услуг [10] в денежном эквиваленте только по одному критерию – водоохранная способность, показала, что перехват осадков с площади 144776,42 м<sup>2</sup>, при среднегодовом количестве осадков 673 мм, с учётом лесистости водосборной площади 48,3% и стоимости 1 м<sup>3</sup> воды по Хабаровскому краю в 38,95 руб. (в ценах 2016 г.) составила 7822272,97 руб. [3]. Экономическая эффективность работы парков при включении в расчёт выгоды от экосистемных услуг возрастает многократно.

Ориентация на устойчивое развитие города определяет необходимость увеличения общей площади ООПТ и расширения спектра их категорий. Это возможно за счёт резервирования земель, передаваемых в муниципальную собственность, а также охраны пойменных ландшафтов на российской части о. Большой Уссурийский и участков, примыкающих к водоохраным зонам малых рек. Важно создавать крупные по площади ООПТ (лесные, луговые, болотные), сохраняющие ландшафтное разнообразие. Запланировано увеличение доли естественных ландшафтов в системе ООПТ за счёт организации «Парка школы олимпийского резерва» (123,5 га) и «Северного парка» (25,0 га). Мировой и отечественный опыт свидетельствуют о возможности создания ООПТ путём экологической реставрации техногенных ландшафтов. В г. Хабаровске таким перспективным объектом станет спортивно-рекреационная зона «Ореховая сопка» в отработанном карьере.

## Заключение

Мировые тенденции устойчивого развития городов свидетельствуют о высокой значимости ООПТ. Актуальной задачей является увеличение площади городских ООПТ, интеграция их в зелёную инфраструктуру г. Хабаровска. Формирование системы ООПТ г. Хабаровска позволит сохранить экологическое равновесие в пределах городской территории и сформировать комфортную городскую среду. Необходимо совершенствование классификации городских ООПТ с детализацией категорий охраняемых объектов и выпол-

няемых ими функций. Область применения результатов исследования: планирование и развитие городской территории с учётом роли ООПТ в зелёной инфраструктуре, муниципальное управление.

### Литература

1. Зайцев О.Б., Поляков В.Е. Особо охраняемые природные территории города Екатеринбурга. Екатеринбург: ООО «Издательский дом «Ажур», 2015. 46 с.

2. Стадолин М.Е., Ямчук Е.В. Особо охраняемые природные территории местного значения: проблемы управления и развития // Вестник университета. 2017. № 3. С. 195–199.

3. Морозова Г.Ю., Дебелая И.Д. Зелёная инфраструктура как фактор обеспечения устойчивого развития Хабаровска // Экономика региона. 2018. Т. 14 (2). С. 562–574.

4. Green infrastructure Nature 2010 [Электронный ресурс] <http://ec.europa.eu/environment/nature/info/pubs/docs/greeninfrastructure.pdf> (Дата обращения: 12.04.2017).

5. Green infrastructure. An integrated approach to land use. Position Statement. Landscape Institute, 2013 [Электронный ресурс] <http://www.landscapeinstitute.org/policy/GreenInfrastructure.php> (Дата обращения: 24.08.2015).

6. Forman R.T.T. Urban regions: ecology and planning beyond the city. New York: Cambridge Univ. Press, 2008. 408 p.

7. Trzyna T. Urban protected areas: profiles and best practice guidelines. Best practice protected area guidelines Series No. 22. Gland, Switzerland: IUCN, 2014. 110 p.

8. Дёжкин В.В., Горелов Б. Охраняемые природные территории в городах России // Использование и охрана природных ресурсов России. 2007. № 3 (93). С. 49–53.

9. Бишоп К., Дадли Н., Филлипс А., Столтон С. Говорим на общем языке. Система категорий охраняемых природных территорий МСОП и её применение на практике. М.: П. Валент, 2006. 172 с.

10. Лихоманов О.В., Бубнов Д.В. Денежная оценка средозащитных функций леса (на примере лесов и лесных насаждений Волгоградской области) // Вестник Волгоградского государственного университета. Сер. 3. 2012. № 2 (21). С. 214–220.

11. McKinney M.L. Urbanization, biodiversity, and conservation // BioScience. 2002. No. 52 (10). P. 883–890.

12. Connop S., Vandergert P., Eisenberg B., Collier M.J., Nash C., Clough J., Newport D.J. Renaturing cities using a regionally-focused biodiversity-led multifunctional benefits approach to urban green infrastructure // Environmental Science & Policy. 2016. No. 62. P. 99–111.

13. Gunnarsson B., Knez I., Hedblom M., Ode Sang A. Effects of biodiversity and environment-related attitude on perception of urban green space // Urban Ecosystems. 2017. No. 20 (1). P. 37–49.

14. Ricotta C., Di Nepi M., Guglietta D., Celesti-Grapow L. Exploring taxonomic filtering in urban environments // J. Veg. Sci. 2008. No. 19. P. 229–238.

15. Conner N. Some benefits of protected areas for urban communities: A view from Sydney, Australia // The Urban Imperative / Ed. T. Trzyna. Sacramento: California Institute of Public Affairs, 2005. P. 34–43.

16. Закон Хабаровского края «О реализации полномочий Хабаровского края в области создания и обеспечения охраны особо охраняемых природных территорий» от 26.07.2005 № 290.

17. Муниципальная программа «Охрана природы и лесное хозяйство города Перми». Постановление администрации г. Перми от 19.10.2016 г. № 893. [Электронный ресурс] <http://docs.cntd.ru//document/444802655> (Дата обращения: 10.11.2018).

18. ООПТ Владивостокского городского округа [Электронный ресурс] <http://ngo-broc.org/archives/2339> (Дата обращения: 05.11.2018 г.)

19. Постановление главы города Комсомольска-на-Амуре от 02.05.2017 г. № 88 [Электронный ресурс] <http://docs.cntd.ru//document/444802655> (Дата обращения: 10.11.2018).

20. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Иркутской области в 2016 г.». Иркутск: ООО «Мегапринт», 2017. 274 с.

21. О создании особо охраняемых природных территорий местного значения муниципального образования «Город Магадан». Постановление № 1329 от 15.04.2011. [Электронный ресурс] <http://www.magadangorod.ru/index.php?newsid=11454> (Дата обращения: 01.11.2018.)

22. Красная книга Хабаровского края. Хабаровск: Приамурские ведомости, 2008. 632 с.

23. Prach K., Pyšek P., Bastl M. Spontaneous vegetation succession in human-disturbed habitats: A pattern across seres // Applied Vegetation Science. 2001. No. 4. P. 83–88.

24. Pop (Boancă) P.I., Dumitras A., Singureanu V., Clapa D., Mazăre G. Ecological and aesthetic role of spontaneous flora in urban sustainable landscapes development // J. Plant Develop. 2011. No. 18. P. 169–177.

### References

1. Zaitsev O.B., Polyakov V.E. Specially protected natural areas of the city of Yekaterinburg. Ekaterinburg: Izdatelskiy dom Azhur, 2015. 46 p. (in Russian).

2. Stadoln M.E., Yamchuk E.V. Local specially protected natural area (SPNA): management and development problems // Vestnik universiteta. 2017. No. 3. P. 195–199 (in Russian).

3. Morozova G.Yu., Debelaya I.D. Green infrastructure as a factor providing sustainable development of the Khabarovsk // Ekonomika regiona. 2018. V. 14 (2). P. 562–574 (in Russian). doi: 10.17059/2018-2-18



4. Green infrastructure Nature 2010 [Internet resource] <http://ec.europa.eu/environment/nature/info/pubs/docs/greeninfrastructure.pdf> (Accessed: 12.04.2017).
5. Green infrastructure. An integrated approach to land use. Position Statement. Landscape Institute, 2013 [Internet resource] <http://www.landscapeinstitute.org/policy/GreenInfrastructure.php> (Accessed: 24.08.2015).
6. Forman R.T.T. Urban regions: ecology and planning beyond the city. New York: Cambridge Univ. Press, 2008. 408 p.
7. Trzyna T. Urban protected areas: profiles and best practice guidelines. Best Practice protected area guidelines. Series No. 22. Gland, Switzerland: IUCN, 2014. 110 p.
8. Dejkin V.V., Gorelov B. Protected natural areas in cities of Russia // *Ispolzovanie i okhrana prirodnykh resursov Rossii*. 2007. No. 3 (93). P. 49–53 (in Russian).
9. Bishop K., Dudley N., Phillips A., Stolton S. Speaking a common language. Uses and performance of the IUCN system of management categories for protected areas. Moskva: R. Valent, 2006. 172 p. (in Russian).
10. Likhomanov O.V., Bubnov D.V. Monetary valuation of the forest's environmental protection functions (using the example of forests and forest plantations in the Volgograd Region) // *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 3*. 2012. No. 2 (24). P. 214–220 (in Russian).
11. McKinney M.L. Urbanization, biodiversity, and conservation // *BioScience*. 2002. No. 52 (10). P. 883–890.
12. Connop S., Vandergert P., Eisenberg B., Collier M.J., Nash C., Clough J., Newport D.J. Renaturing cities using a regionally-focused biodiversity-led multifunctional benefits approach to urban green infrastructure // *Environmental Science & Policy*. 2016. No. 62. P. 99–111.
13. Gunnarsson B., Knez I., Hedblom M., Ode Sang A. Effects of biodiversity and environment-related attitude on perception of urban green space // *Urban Ecosystems*. 2017. No. 20 (1). P. 37–49.
14. Ricotta C., Di Nepi M., Guglietta D., Celesti-Grappo L. Exploring taxonomic filtering in urban environments // *J. Veg. Sci*. 2008. No. 19. P. 229–238.
15. Conner N. Some benefits of protected areas for urban communities: A view from Sydney, Australia // *The Urban Imperative* / Ed. T. Trzyna. Sacramento: California Institute of Public Affairs, 2005. P. 34–43.
16. The Law of the Khabarovsk Territory “On the implementation of the powers of the Khabarovsk Territory in the field of creating and ensuring the protection of specially protected natural territories” of 29.07.2005 No. 290. [Internet resource] [http:// docs.cntd.ru/document/995114011](http://docs.cntd.ru/document/995114011) (Accessed: 13.12.2018).
17. Municipal program “Protection of nature and forestry of the city of Perm”. Resolution of the Administration of Perm dated 10.19.2016. No. 893. [Internet resource] <http://docs.cntd.ru/document/444802655> (Accessed: 10.11.2018).
18. SPNA of the Vladivostok City District [Internet resource] <http://ngo-broc.org/archives/2339> (Accessed: 05.11.2018 г.)
19. Resolution of the mayor of Komsomolsk-on-Amur dated 05.05.2017. No. 88 [Internet resource] <http://docs.cntd.ru/document/444802655> (Accessed: 13.12.2018).
20. State report “On the state and environmental protection of the Irkutsk region in 2016”. Irkutsk: Megaprint, 2017. 274 p. (in Russian).
21. On the creation of specially protected natural areas of local importance of the municipal formation “City of Magadan”. Resolution No. 1329 of 04.15.2011. [Internet resource] <http://www.magadangorod.ru/index.php?newsid=11454> (Accessed: 01.11.2018.)
22. Red Book of the Khabarovsk Territory. Khabarovsk: Priamurskie vedomosti, 2008. 632 p. (in Russian).
23. Prach K., Pyšek P., Bastl M. Spontaneous vegetation succession in human-disturbed habitats: A pattern across seres // *Applied Vegetation Science*. 2001. No. 4. P. 83–88.
24. Pop (Boancă) P.I., Dumitras A., Singureanu V., Clapa D., Mazăre G. Ecological and aesthetic role of spontaneous flora in urban sustainable landscapes development // *J. Plant Develop*. 2011. No. 18. P. 169–177.

## Влияние урбанизации на процессы биологических инвазий в Арктике (на примере Ямальского региона)

© 2020. Е. М. Копцева, к. б. н., ассистент,  
И. Ю. Попов, к. б. н., с. н. с., Д. Ю. Власов, д. б. н., профессор,  
Е. В. Першина, к. б. н., ст. преподаватель,  
Е. Е. Андронов, к. б. н., доцент, Е. В. Абакумов, д. б. н., профессор,  
Санкт-Петербургский государственный университет,  
199178, Россия, г. Санкт-Петербург, 16-линия В.О., д. 29,  
e-mail: E\_abakumov@mail.ru, e.abakumov@spbu.ru

Урбанизированные экосистемы Арктического пояса являются важнейшим примером расселения инвазивных видов живых организмов в местообитания, ранее для них не свойственные. В связи с этим урбанизированные арктические экосистемы изучены в контексте биологических инвазий и трансформации локальных природных сообществ в антропогенные. Установлено, что трансформация флор и сообществ микромицетов происходит во многом из-за смены гидротермического режима при физическом нарушении почвенного покрова, что является нередким последствием урбанизации (строительство, добыча полезных ископаемых). Урбаногенные флоры являются достаточно устойчивыми и конкурентоспособными. Индексы  $\alpha$ - и  $\beta$ -разнообразия сообществ микроорганизмов коренным образом отличаются в техногенных и природных почвах, что во многом связано с наличием инвазивных видов. Разнообразие микроорганизмов в урбанизированных экосистемах также возрастает в связи антропогенным и орнитогенным переносом, сообщества оказываются довольно устойчивыми и нередко несут в себе санитарно-гигиенические риски, связанные с патогенностью. Интенсификация туризма, транспортной активности и рост урбанизации приводят к сильной трансформации локальных фаун. За счёт урбанизированных территорий ряд видов расширили ареал вплоть до северных границ суши Евразии, что играет важнейшую роль в формировании трофических цепей и способствует изменению экосистем в целом.

**Ключевые слова:** Арктика, инвазии, флора, фауна, микроорганизмы.

## An influence of urbanization on the processes of biological invasions in Arctic (on example of Yamal Autonomous Region)

© 2020. E. M. Koptseva ORCID: 0000-0003-4387-9521, I. Yu. Popov ORCID: 0000-0002-2564-3294,  
D. Yu. Vlasov ORCID: 0000-0002-0455-1462, E. V. Pershina ORCID: 0000-0003-0834-3211,  
E. E. Andronov ORCID: 0000-0002-5204-262X, E. V. Abakumov ORCID: 0000-0002-5248-9018,  
Saint-Petersburg State University,  
29, 16-line Vasilyevskiy Island, St. Petersburg, Russia, 199178,  
e-mail: E\_abakumov@mail.ru, e.abakumov@spbu.ru

Urbanized ecosystems of the Arctic environment are considered as the most important example of invasive species redistribution into habitats which are not typical for them. In this context, urbanized ecosystems has been investigated in terms of biological invasions and local natural communities transformation into anthropogenic ones. It is shown, that transformation of the flora and microfungi is caused mainly by transformation of hydrothermic regime under the change of soil cover surface, which is considered as frequent consequence of the urbanization (construction, mining). Urbanogenic floras are considered as relatively stable and competitive. Indexes of  $\alpha$ - and  $\beta$ -biodiversity of microorganisms are very different in soils of technogenic and mature landscapes, which is caused by the presence of the invasive species. The diversity of microorganisms shows tend to increase due to anthropogenic and ornitogenic translocation. Newly formed communities become comparatively stable and results in sanitary-hygienic risks related to the pathogenesis. An intensification of the tourism, transport activity, and increase of urbanization result in intensive transformation of the local faunas. Increment and expansion of urbanized territories results in extending of the area to the northern margin of terrestrial borders of Eurasia, this also has an effect in formation of the food chains and holistic changes in ecosystems.

**Keywords:** Arctic, invasions, flora, fauna, microorganisms.

Арктика является уникальной исследовательской лабораторией человечества [1], территорией открытия, поиска и моделирования. Природный каркас Арктики уникален по представленности различных типов экосистем и ландшафтов. Криогенные экосистемы характерны не только для обширных природных ландшафтов криолитозоны Российской Федерации (РФ), но и для многочисленных городских и частично урбанизированных территорий. В связи с разработкой новой законодательной стратегии РФ по отношению к Арктике (8 опорных регионов), внимание учёных к Арктической зоне становится всё более пристальным. Хотя население Арктического пояса составляет немногим менее 2,5 млн человек, более 85% от этого числа проживает на урбанизированных территориях [1–2]. Урбанизированные территории представлены как небольшими городами с населением около 20–50 тыс. человек, так и посёлками. Плотность населения на урбанизированных территориях Севера высока, что вызывает коренную трансформацию растительного и почвенного покрова, фаунистических комплексов и экосистем в целом. Урбанизированные территории становятся очагами распространения адвентивных и инвазивных видов.

Криогенные экосистемы Севера испытывают колоссальное давление инвазивных видов микроорганизмов (МО) и растений, попадающих на Север по разнообразным транспортным артериям, в связи с этим актуальной является оценка экологического равновесия и мониторинг биоразнообразия экосистем. Важным фактором влияния является тотальное механическое преобразование местообитаний птиц и млекопитающих в местах возведения городов, постоянных и вахтовых посёлков, линейных объектов инфраструктуры, а также резкое увеличение рекреационных нагрузок и фактора беспокойства. Существенной проблемой является появление большого числа синантропных хищников (домашних и бродячих собак), а также рост численности песцов вокруг новых человеческих поселений. Особой проблемой является реабилитация экосистем, нарушенных техногенным воздействием, поскольку регенерационный потенциал экосистем в условиях короткого лета и низких температур является крайне низким. Современное развитие городов российской Арктики требует комплексных решений экологических и организационных проблем зелёного хозяйства [3, 4]. В настоящее время урбофлорогенез находится в стадии изуче-

ния и количественного накопления данных. В связи с вышесказанным, целью настоящего исследования стало исследование влияния урбанизации на процессы биологических инвазий в Арктическом поясе РФ.

### Материалы и методы

Изучали трансформацию флоры, фауны и микробиоты урбанизированных экосистем в сравнении с природными фоновыми природными биогеоценозами. В основу исследований положены данные полевых исследований, осуществлённых в рамках Высокоширотной арктической экспедиции в 2010–2016 гг. и экспедиции «Ямал» 2012, 2013, 2015, 2016, 2017 гг. В основу изучения участия инвазивных видов в антропогенных растительных сообществах положен анализ 130 геоботанических описаний, выполненных на 15 карьерно-отвальных комплексах песчано-гравийных смесей в окрестностях г. Губкинский (северная тайга, ЯНАО, лесотундра, тундра, полуостров Ямал) и в природных экосистемах. Встречаемость и среднее проективное покрытие (ПП) двух инвазивных видов рассчитаны для фитоценозов карьеров различной продолжительности самозаращения. Для микробиологического и метагеномного исследования были использованы почвы (литозёмы), сформированные на поверхности отвалов рудника по добыче хромовых руд в пос. Харп, г. Чёрная (песчано-гравийные отложения) и на отвалах карьеров по добыче строительных материалов в лесотундровой (р-н г. Чёрная) и тундровой зоне (отвалы глинистого, песчаного и каменистого состава). В качестве контроля выступала криогенная глеевая почва в районе пос. Аксарка. Образцы для микробиологических исследований после доставки в лабораторию были заморожены. Выделение ДНК производили согласно специально разработанной методике [5, 6]. Секвенирование и первичную обработку данных осуществляли на приборе ILLUMINA MiSeq. Обработку секвенированных последовательностей гена 16S рРНК производили с использованием пакетов ПО «Trimmomatic» и «QIIME» [7].  $\alpha$ -разнообразие оценивали с использованием индексов видового богатства (число OTU в образце, индекс Chao1, показатель филогенетического разнообразия Фейта) и индекса Шеннона. Микологические исследования проводили с целью оценки санитарно-гигиенического состояния урбанизированных местообитаний. Изучение состава аэромикоты (содержание микроскопических

грибов в воздушной среде) проводили в районах арктических поселений в прибрежной зоне Карского и Баренцева морей. Отбор проб воздушной среды проводили в жилых и рабочих помещениях, во внешней среде на территории поселений, а также на контрольных участках, удалённых от мест, подвергающихся интенсивному антропогенному воздействию. Пробы были взяты в трёхкратной повторности с использованием аспиратора ПУ-1Б, через который прокачивали воздух в объёме 250–1000 л, осаждая МО в чашки Петри на агаризованную питательную среду Чапека. Выделение МО из почв и грунтов проводили стандартными микробиологическими методами посева частиц грунта на питательные среды и методом почвенных разведений. Численность колониеобразующих единиц микромицетов в 1 грамме почвы подсчитывали на среде Чапека. Идентификацию микромицетов проводили по морфологическим признакам с использованием отечественных и зарубежных определителей. Наблюдения за инвазивными видами позвоночных животных проводили во время ряда экспедиций морского базирования, с использованием современных методов учёта, а также фотоловушек и биноклей.

### Результаты и обсуждение

Распространение инвазивных видов растений связано, прежде всего, с ростом площадей нарушенных земель в арктических ландшафтах. Данные «нарушения» отличаются относительной молодостью, и процесс натурализации адвентивных видов на севере не имеет в настоящий момент столь глобального характера по сравнению с южными регионами. Северные фитоценозы и экосистемы потенциально особенно уязвимы в отношении инвазивных видов. Это связано с относительной «ненасыщенностью» исторически молодых северных флор и ослабленной межвидовой конкуренцией в сообществах.

Возможным механизмом обогащения флор экотонных областей тундры и лесотундры адвентивными видами из более южных районов является их «бореализация». Для тундровых и лесотундровых областей Западной Сибири явления бореализации флор техногенных местообитаний не было установлено [8], при этом авторы не учитывали городские экотопы, которые в большей степени служат проводниками адвентивных и инвазивных видов. В целом же процент адвентиков во флорах северных областей может быть до-

статочно высок и достигать 7–17%. Для характеристики инвазионного компонента флоры предложена четырёхбалльная шкала, построенная на оценке уровня агрессивности инвазионных видов и особенностей их распространения. Для севера Западной Сибири инвазивными можно считать *Hordeum jubatum* L., *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip., *Chenopodium album* L. В первую очередь вселенцы будут вытеснять аборигенные виды – апофиты с нарушенных местообитаний. Так, *Tripleurospermum inodorum* и *Chenopodium album* зарегистрированы нами в качестве ценозоообразователей растительных сообществ на территориях карьерно-отвалных комплексов близ г. Губкинский (северная тайга, ЯНАО). На протяжении первых 15–20 лет данные виды доминируют и имеют высокую встречаемость в экотопах различной влагообеспеченности. Данные виды довольно долго сохраняются в посттехногенных экосистемах зарастающих карьеров. Однако в процессе первичной сукцессии встречаемость и ПП данных инвазивных видов снижается.

В формировании микробиома тундровых антропогенно-нарушенных почв существенную роль играет трансформация физического и водного режима почв. На карьерах и рудниках доминируют литозёмы и петрозёмы, которые отличаются от зональных почв большей степенью аэрации и водопроницаемостью. В связи с этим, на отвалах поселяется таёжная травянистая растительность, а в почвах формируется выраженный серогумусовый горизонт. Почвы характеризуются нейтральной или слабोकислой реакцией среды, очень низким содержанием гумуса и азота, повышенными величинами метаболического коэффициента, что свидетельствует о несбалансированности процессов накопления и минерализации органического вещества. Фоновые почвы региона сильно отличаются от техногенно-нарушенных и посттехногенных. За счёт прохождения циклов криогенеза основная масса органического вещества накапливается не только в поверхностном (0–2 см), но и надмерзлотном (30–80 см) слоях. С таким распределением органического вещества коррелируют значения численности основных групп МО (бактерии, грибы, археи), а также показатели  $\alpha$ -разнообразия. Для тундровой зоны в целом характерны бедные органическим веществом, переувлажненные и плохонаэрируемые почвы. С этим связана относительно низкая численность микробного сообщества, наиболее густонаселённые почвенные образцы

в данном случае сопоставимы с горизонтами С. Выраженное влияние на численность МО в почвах тундровой зоны оказывают рекультивационные мероприятия (внесение плодородного слоя почвы, высадка растений), повышающие общий уровень содержания органического вещества. В изученных пробах рекультивированных почв в районе пос. Аксарка наблюдалось повышение численности бактерий в 1,8, грибов – в 1,2 и архей – в 24 раза, по сравнению с фоновой почвой. Однако рекультивированный технозём, по сравнению с самозарастающими технозёмами и фоновой почвой, имел более низкие показатели  $\alpha$ -разнообразия (в том числе индекса филогенетического разнообразия Фейта и индекса Шеннона), что свидетельствует о формировании в данном случае переходного типа сообщества с высокой долей копиотрофных групп МО. При анализе  $\beta$ -разнообразия почв наблюдается обособление кластеров по сайтам отбора проб – техногенные почвы обособляются от фоновых и также по горизонтам – между собой сильно различаются горизонты фоновых почв. В микробиоме технозёмов доминируют бактерии из фил *Acidobacteria* (сем. *Koribacteraceae*, пор. RB41), *Actinobacteria* (сем. *Intrasporangiaceae*, *Gaiellaceae*), *Chloroflexi* (кл. *Ellin6529*), *Gemmatimonadetes* (пор. N1423WL) и *Verrucomicrobia* (сем. *Chthoniobacteriaceae*). Их доля превышает 60%. Микробиом рекультивируемой почвы (пос. Аксарка) сильно обособлен от других почв, а при рассмотрении его таксономического состава обнаруживаются ярко выраженные доминирующие группы бактерий, на долю которых приходится более 50% всех операционных таксономических единиц (ОТЕ) – ацидобактерии из сем. *Koribacteraceae*, ацидобактерии из пор. *Ellin6513*, протеобактерии из сем. *Syntrophobacteraceae* и бактерии сем. *Thermogemmatisporaceae*. Вероятно, в данном случае в качестве копиотрофов выступают ацидобактерии – доминирующая и разнообразная в метаболическом отношении группа бактерий, биологические свойства которой пока мало изучены. Из литературных данных известно, что ацидобактерии являются «экологическими» аналогами протеобактерий и преобладают в почвах с низкими значениями рН [9].

Особое значение в последние годы приобретают исследования антропогенной инвазии МО в арктические экосистемы. Отмечается, что микроскопические грибы (микроспидеты) и бактерии в районах полярных поселений формируют своеобразные сообщества, основу

которых составляют космополитные виды, хорошо адаптированные к существованию в антропогенной среде [10, 11]. Они доминируют в почвах, на различных природных и антропогенных субстратах, а также преобладают в составе аэромикоты (микобиота воздушной среды). Биоразнообразие и видовой состав грибов, обнаруженных в воздушной среде в районах арктических поселений, расположенных по Северному морскому пути, показал, что значительную часть аэромикоты составили известные биодеструкторы различных материалов и условные патогены человека. Очевидно, что их проникновение и накопление в экосистемах Арктики связаны с попаданием туда различных материалов и продуктов питания, которые могут служить источником питания для органотрофных микробов. Наиболее детально была исследована аэромикота в районе пос. Тикси (побережье моря Лаптевых), где было выявлено 50 видов микромицетов [10]. Значительную часть аэромикоты составили известные биодеструкторы различных материалов и условные патогены человека. Отмеченные тенденции могут негативно сказываться на здоровье полярников, работающих в суровых климатических условиях Арктики. Основным резервуаром МО в природных условиях является почва [11]. В районах полярных станций в результате хозяйственной деятельности почва часто загрязняется, что способствует накоплению в ней бактерий и микромицетов. Установлены существенные различия в видовом составе и численности микроскопических грибов на арктических территориях, различающихся по степени антропогенного загрязнения. Так, показатели численности в антропогенно загрязнённых почвах и грунтах в районах отдельных поселений были значительно выше (на порядок), по сравнению с естественными местообитаниями. Очевидно, что такая картина связана с антропогенной инвазией микромицетов. Подтверждением тому являются находки ряда видов микромицетов только в районах полярных поселений на антропогенных субстратах. К их числу, прежде всего, можно отнести виды рода *Aspergillus*: *A. nidulans* (Eidam) G. Winter, *A. ustus* (Bainier) Thom & Church, *A. versicolor* (Vuill.) Tirab., а также *Stachybotrys chartarum* (Ehrenb.) S. Hughes. Очевидно, что микромицеты довольно быстро адаптируются к местным условиям, так как во многих случаях виды, выявленные на антропогенных субстратах, часто встречаются и в почвенных пробах [11]. Прежде всего,

это относится к видам родов *Cladosporium* и *Penicillium*. В ходе обследований территорий арктических поселений в районе Баренцева и Карского морей в антропогенно загрязнённых почвах было отмечено 76 видов микроскопических грибов, из них 41 вид (53,9%) был выявлен в помещениях станций и на антропогенных материалах. К этим видам относятся представители родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Exophiala*, *Geomyces*, *Humicola*, *Penicillium*, *Mucor*, *Phoma*, *Rhodotorula*, *Trichoderma* и *Ulocladium*. Полученные данные свидетельствуют о значительном сходстве видового состава загрязнённых почв и антропогенных субстратов (рис.).

Следует добавить, что одним из факторов инвазии МО в полярные регионы является их перенос птицами [10]. Скопления птиц часто фиксируются вблизи полярных поселений. В таком случае в составе микробных сообществ можно встретить виды, попадающие в Арктику как орнитогенным, так и антропогенным путём. Почвы в местах скопления (колоний)

птиц характеризуются более высоким видовым разнообразием и численностью микромицетов и бактерий в сравнении с контрольным участками. Среди выявленных видов с птицами часто связаны грибы рода *Aspergillus*. Обычно для представителей этого рода более благоприятными считаются относительно тёплые условия. Однако, все чаще виды этого рода, такие как *A. niger*, можно встретить в антропогенных и орнитогенных местообитаниях в Арктике.

В целом, приведённые данные указывают на существенное влияние биологических инвазий на формирование микробных сообществ в арктических экосистемах.

Урбанизация Арктики привела к росту интенсивности транспорта, что создаёт дополнительные условия для инвазий. В этом отношении интересны перемещения животных на ледоколах или с их помощью. Мелкие животные иногда находят на ледоколе убежище и активно путешествуют. Кроме того, морские птицы часто в большом числе сопровождают ледокол, и в их скоплениях иногда обнаруживаются «посторонние» виды. Наблюдения этих

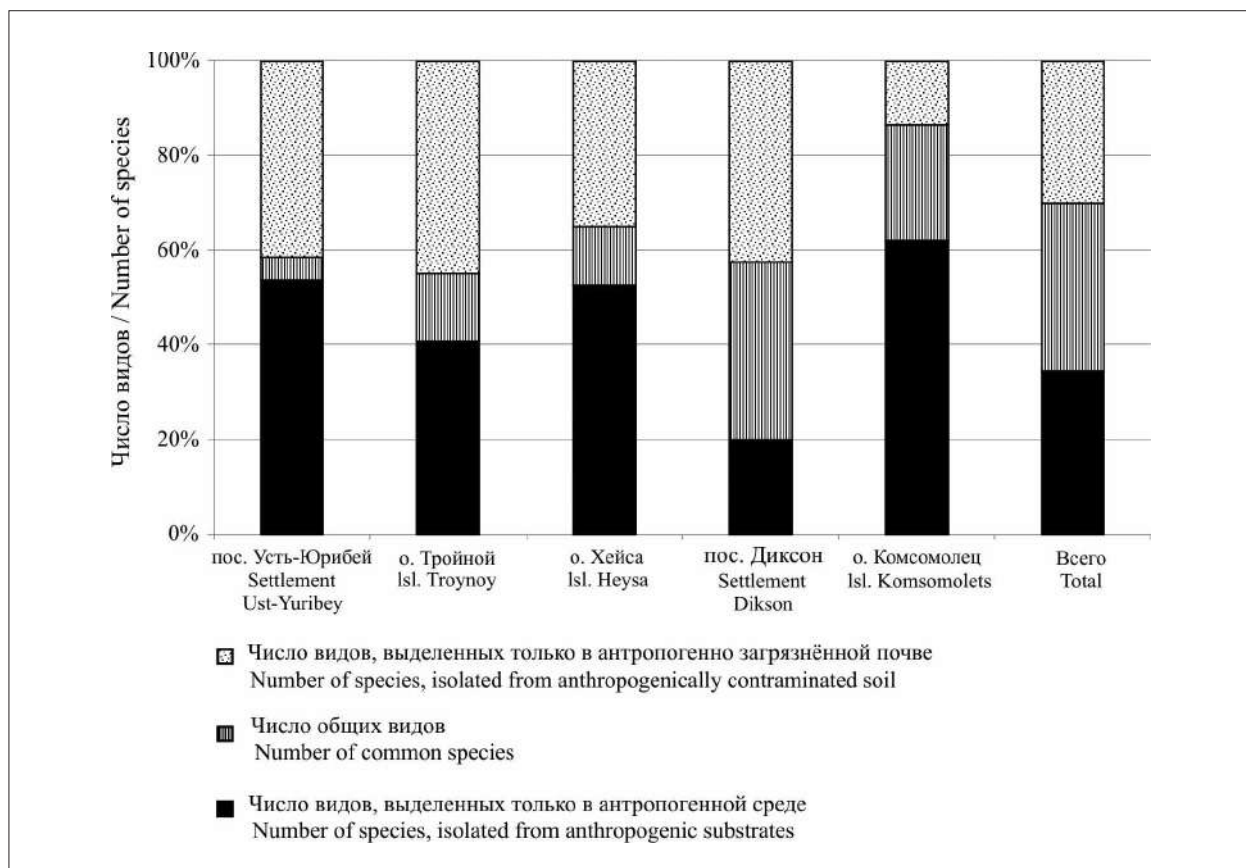


Рис. Распределение микроскопических грибов в загрязнённых почвах и на антропогенных субстратах в районах обследованных арктических поселений  
 Fig. Distribution of micromycetes in contaminated soils and anthropogenic substrates in vicinities of arctic settlements investigated

### Заключение

явлений были выполнены в ходе движения ледоколов от г. Архангельска к Земле Франца Иосифа. Вблизи г. Архангельска на ледоколе «поселились» воробьиные птицы нескольких видов. Большая часть вовремя вернулась обратно, но несколько особей достигло конечного пункта – острова Земля Александры (краснозобый конёк, рогатый жаворонок). При этом на острове ведётся строительство посёлка, что приводит к изменениям среды, в которой, возможно, вселенцы найдут подходящее местообитание. В числе сопровождающих ледокол птиц также обнаружился относительно южный вид – клуша. На островах архипелага он не обнаруживался. Вполне вероятно, что таким образом для вида проложен путь для дальнейшего расселения. Сравнительно недавно на островах обнаружена утка крякка [12] – вид, который в таком экстремально холодном климате ранее не встречался. Не исключено, что деятельность человека этому косвенным образом поспособствовала. Утка наблюдалась на застроенной территории. Рост численности населения оборачивается ещё одним источником инвазий – намеренным выпуском чужеродных видов любителями. В ходе наблюдений подобных случаев сложилось мнение, что желание выпустить какое-то новое животное (например, необычную рыбу) – инстинкт, который исходит из глубин психологии человека. В настоящее время подобным образом быстро расселяется рыба ротан. Результаты этого процесса вплотную приблизились к границам Арктики. Речные раки таким образом достигли 65 параллели, т. е. уже почти полярного круга. Ранее на Дальнем Востоке при сходных обстоятельствах появились воробьи, и сейчас они расселяются по урбанизированным территориям, достигая Арктики. Помимо стимула намеренных выпусков любителями, урбанизация способствует проникновению чужеродных видов в Арктику тем, что создаёт условия для расселения на север ряда видов животных. Этот процесс хорошо прослеживается в случае птиц. За счёт урбанизированных территорий ряд видов расширили ареал вплоть до северных границ суши Евразии. К ним относятся: сизый голубь, серая ворона, деревенская ласточка, воронок, полевой жаворонок, обыкновенный скворец, сорока, грач, серая ворона, дрозд-рябинник, белобровик [13–17]. Обнаружение этих видов в Арктике обычно происходит в населённых пунктах, их окраинах или на каких-то иных объектах антропогенной природы [18, 19].

В настоящее время в связи с урбанизацией несколько десятков чужеродных видов растений, МО и животных проникло в Арктику или вплотную приблизились к её границам. На значительной территории арктические природные комплексы преобразуются и всё больше напоминают те, которые характерны для более южных территорий. Масштабы этого явления остаются слабоизученными.

Прогрессивное сокращение участия инвазивных видов растений в ходе восстановительной сукцессии свидетельствует в пользу текущей устойчивости ненарушенных фитоценозов северотаёжной зоны к внедрению чужеродных видов, которые натурализуются лишь в сильно нарушенных экотопах. Однако на следующем этапе адаптации чужеродных видов под угрозой могут оказаться естественно нарушаемые местообитания, такие как, внутриконтинентальные песчаные раздувы или долинные комплексы растительных сообществ.

В ходе антропогенного воздействия трансформируется микробиом почв. Техногенные почвы характеризуются индексами  $\alpha$ - и  $\beta$ -разнообразия, отличными от фоновых почв. При этом местный ресурс регенерации микробного сообщества в посттехногенных сменах задействован минимально. В районах арктических поселений численность МО (в том числе условно патогенных) заметно возрастает в сравнении с контрольными (относительно «чистыми») территориями, что во многом связано с антропогенной инвазией (с материалами, продуктами питания, транспортом). Прежде всего, это относится к аэромикоте. Самые высокие показатели содержания микроскопических грибов в воздушной среде были отмечены в помещениях, где значительную долю выявленных видов составили условные патогены человека. При этом состав микромицетов в воздушной среде и на различных материалах с признаками биоповреждений в значительной степени совпадают. Здесь доминируют космополитные виды, которые, вероятно, успешно адаптируются к условиям обитания в арктических экосистемах. Это в полной мере относится и к сообществам почвенных микромицетов в Арктике. Нами отмечено значительное сходство видового состава загрязнённых почв и антропогенных субстратов, что, по всей видимости, свидетельствует об инвазивном происхождении ряда видов и их переходе к существованию в почвах.

Урбанизация способствует проникновению чужеродных видов в Арктику тем, что создаёт условия для расселения на Севере ряда видов животных. Этот процесс хорошо прослеживается в случае птиц. За счёт урбанизированных территорий ряд видов расширили ареал вплоть до северных границ суши Евразии, что играет важнейшую роль в формировании трофических цепей и способствует изменению экосистем в целом.

*Работа выполнена при поддержке гранта СПбГУ «Урбанизированные экосистемы Арктического пояса Российской Федерации: динамика, состояние и устойчивое развитие» (полевые работы) и гранта РФФИ-Ямал № 19-416-890002 (метагеномное секвенирование).*

### References

1. Pilyasov A.N. The counters of the Arctic zones development in Russia // *Arktika. Ekologiya i ekonomika*. 2011. V. 11. P. 38–47 (in Russian).
2. Dybore S., Dahl J., Muller-Wille L. Dynamics of Arctic urbanization // *Acta Borealia*. 2010. V. 27 (2). P. 120–124. doi: 10.1080/08003831.2010.527526
3. Morozova O.V. Participation of alien species in the diversity and structure of the floras of Eastern Europe // *Izvestiya Rossiyskoy akademii nauk. Seriya geograficheskaya*. 2003. V. 3. P. 63–71 (in Russian).
4. Ovcharova N.V., Terekhina T.A. Invasive activity of adventive plant species on the territory of the right Bank of the Ob river (Altai territory) // *Problems of botany of South Siberia and Mongolia: Materials of XV International scientific-practical conference*. Barnaul: Izd-vo ALTGU, 2016. P. 349–353 (in Russian).
5. Andronov E.E., Pinaev A.G., Pershina E.A., Chizavskaya E.P. Science-methodical recommendations on isolation of high pure DNA samples from environmental objects. Sankt-Petersburg: Vserossiyskiy Institut Sel'skohozyaystvennoy Mikrobiologii, 2011. 23 p. (in Russian).
6. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data // *Bioinformatics*. 2014. V. 30. No. 15. P. 2114–2120. doi: 10.1093/bioinformatics/btu170
7. Caporaso J.G., Bittinger K., Bushman F.D., DeSantis T.Z., Andersen G.L., Knight R. PyNAST: a flexible tool for aligning sequences to a template alignment // *Bioinformatics*. 2010. V. 26 (2). P. 266–267. doi: 10.1093/bioinformatics/btp636
8. Koptseva E.M. Natural restoration of vegetation on technogenic habitats of the Far North (Yamal sector of the Arctic): Diss. kand. biol. nauk. Sankt-Peterburg, 2005. 237 p. (in Russian).
9. Chirak E.L., Pershina E.V., Dol'nik A.S., Kutovaya O.V., Vasilenko E.S., Kogut B.M., Andronov E.E. Taxonomic structure of microbial association in defferent soils investigated by high-throughput sequencing of 16-rRNA gene library // *Selskokhozyaistvennaya Biologiya*. 2013. V. 3. P. 100–109 (in Russian). doi: 10.15389/agrobiology.2013.3.100eng
10. Kitrisideli I.Yu., Abakumov E.V., Teshebaev S.B., Zelenskaya M.S., Vlasov D.Yu., Krylenkov V.A., Ryabushchev Y.V., Sokolov V.T., Barancevich E.P. The microbial community in regions of the Arctic settlements // *Hygiene and Sanitation*. 2016. V. 95 (10). P. 923–929 (in Russian). doi: 10.1882/0016-9900-2016-10-923-929
11. Ali H.S., Alias S.A., Siang H.Y., Smykla J., Pang K.L., Guo S.Y., Convey P. Studies on diversity of soil microfungi in the Hornsund area, Spitsbergen // *Pol. Polar Res*. 2013. V. 34 (1). P. 39–54. doi: 10.2478/popore-2013-0006
12. Gavrilov M.V. The first flight of Mallard *Anas platyrhynchos* to the land of Franz Josef // *Rossiyskiy ornitologicheskij zhurnal*. 2016. V. 25. P. 52–54 (in Russian).
13. Vronsky N.B. On the flights and settlement of birds in the Western Taimyr // *Zool. Journ*. 1985. V. 64. P. 78–86 (in Russian).
14. Gashev S.N. About distribution of the house Sparrow to the North of Western Siberia // *Materials to distribution of birds in the Urals, in the Urals and Western Siberia*. Ekaterinburg: Ural Branch of Russian Academy of Sciences, 1997. P. 44–45 (in Russian).
15. Dorogoy I.V. Nesting barn swallows and stonechats in Chukotka // *Ornitologia*. 1991. V. 25. P. 158.
16. Zhukov V.S. Rare, stray and little-studied birds of the lower Taz river and the Gydan Peninsula // *Materials for the distribution of birds in the Urals, the Urals and Western Siberia*. Ekaterinburg: Ural Branch of Russian Academy of Sciences, 1995. P. 24–29 (in Russian).
17. Kopein K.I., Olenev V.G. On visits to the tundra of animals of other landscape zones // *Tyumen Transactions of the Salekhard permanent monitoring station: Materials on the fauna of the Priobskiy North and its use*. No. 1. Tyumen publishing house, 1959. P. 363 (in Russian).
18. Lobanov V.A. population of Vorkuta birds and its possible changes // *Birds and urban landscape*. Kaunas, 1984. P. 90–91 (in Russian).
19. Yudkin V.A., Vartapetov L.G., Kozin V.G. Changes in the population of terrestrial vertebrates in the development of oil and gas fields in the North of Western Siberia // *Sibirskiy ekologicheskij zhurnal*. 1996. V. 3 (6). P. 573–583 (in Russian).



## Uncertainty and multifunctionality: legal challenges and opportunities for “Green Infrastructure”

© 2020. Y. M. Gordeeva ORCID: 0000-0003-4337-6721<sup>1</sup>

Seminar on Environmental and Urban Planning Law (SERES)  
Catholic University of Louvain,  
Place Montesquieu, 2, B-250, 1348 Louvain-la-Neuve, Belgium,  
Vyatka State University,  
36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,  
Kutafin Moscow State Law University,  
9, Sadovaya-Kudrinskaya St., Moscow, Russia, 125993,  
Hasselt University,  
42, Campus Hasselt, Martelarenlaan, Belgium, 3500  
e-mail: yelena.gordeeva@uclouvain.be, yelena.gordeeva@uhasselt.be

Nature and its vital contributions to people, which together embody biodiversity and ecosystem functions and services, are deteriorating from the changes in land and sea use, overexploitation of animals, plants and other organisms, pollution and climate change. The anthropogenic changes in ecological systems have been so profound that scientists even warn that we have now entered a new geological period – “anthropocene”. As we continue degrading our natural environment in order to gain ecological, economic and social benefits, the utilization of “nature-based solutions (NBS)” remains an underutilized option. “Green Infrastructure” (GI) concept and the implementation of GI emerges as a policy response to address and reverse the current rather counterproductive practice. The European Commission defines GI as a “strategically planned network of natural and semi-natural areas with other environmental features, designed and managed to deliver a wide range of ecosystem services ...”. Yet, designing and implementing GI policy has proved challenging: e.g. how to safeguard sound and effective decision-making in managing complex systems with multiple stakeholders at various temporal/spatial scales, under conditions of uncertainty, with multiple conflicting interests? These and other questions in relation to GI design and implementation were discussed in April, 2020 during the “Woodnet” project (co-funded by the European Commission through Biodiversa) international interdisciplinary webinar “Uncertainty and Multifunctionality: Legal Challenges and Opportunities for GI” (administered by the Catholic University of Louvain (UCLouvain), Louvain-la-Neuve, Belgium). In the advent of a collective handbook and an international conference on the legal issues of GI design and implementation to be held in 2024, the present article contributes to the on-going discussions on uncertainty and multifunctionality and the associated legal challenges and opportunities in the context of GI design and implementation by discussing the relevant questions, raised during the recent webinar.

**Keywords:** Green Infrastructure, uncertainty, multifunctionality, connectivity conservation, precautionary principle, adaptive management, evidence-based approach, environmental law.

УДК 341:349.6

## Неопределённость и мультифункциональность: правовые вызовы и перспективы «Зелёной инфраструктуры»

© 2020. Е. М. Гордеева, д. ю. н., с. н. с.,

Семинар по экологическому праву и праву территориального планирования,  
Католический Университет Лювейна,  
1348, Бельгия, Лювейн-ля-Нев, Площадь Монтестье, 2, В-250,  
Вятский государственный университет,  
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,  
Московский государственный юридический университет имени О. Е. Кутафина,  
125993, Россия, г. Москва, ул. Садовая-Кудринская, д. 9,  
Университет Хасселта,  
3500, Бельгия, Мартеларенлаан, Хасселт Кампус, д. 42,  
e-mail: yelena.gordeeva@uclouvain.be, yelena.gordeeva@uhasselt.be

Природа и её жизненно важный вклад в развитие человечества истощаются из-за изменений в использовании земельных и морских ресурсов, чрезмерной эксплуатации животных, растений и других организмов, загрязнения окружающей среды и изменений климата. Антропогенные изменения в экологических системах настолько велики, что учёные предупреждают, мы входим в новый геологический период – «антропоцен». В то время как мы продолжаем истощать окружающую среду в экономических интересах и/или ради социального процветания, природные решения остаются мало использованными. Концепция «Зелёной инфраструктуры» и её имплементация приходят на выручку, как политическое и правовое решение, способное изменить эту губительную практику. Европейская Комиссия определяет, что «Зелёная инфраструктура» – это «стратегически спланированная сеть природных и полуприродных территорий с иными экологическими особенностями, разработанная и управляемая так, чтобы предоставлять широкий набор экологических услуг...». Однако в процессе разработки и имплементации права и политики в области «Зелёной инфраструктуры» возникает множество вопросов, на которые юристам ещё предстоит найти ответы. Например, такими вопросами являются: что такое неопределённость в правовом поле и с помощью каких юридических инструментов можно управлять неопределённостью? Эти и другие вопросы рассматривались в апреле 2020 г. в рамках международного междисциплинарного вебинара «Неопределённость и многофункциональность: правовые вопросы и перспективы «Зелёной инфраструктуры» (административное обслуживание вебинара осуществлено Католическим университетом Лювейна, Лювейн-ля-Нев, Бельгия, проект «Вуднет»). В преддверии проведения международной конференции по правовым вопросам в области «Зелёной инфраструктуры» в 2021 г. и в преддверии издания коллективной монографии, настоящая статья анализирует актуальные вопросы и предлагает типологию неопределённостей и три юридических инструмента, применение которых позволит управлять разными типами неопределённостей в правовом поле в области «Зелёной инфраструктуры».

**Ключевые слова:** зелёная инфраструктура, неопределённость, мультифункциональность, сохранение экологических связей, принцип предосторожности, адаптивное управление, экологическое право.

The idea of “utilizing the benefits of nature”, inter alia, through linking natural areas and parks is not a new idea and the roots of “Green Infrastructure” (GI) can be traced back to the early 20th century (e.g. projects such as the “Boston Fenways” by F.L. Olmsted in the USA). Yet, the term “GI” is relatively new and flexible with no single definition. In general terms, GI is a network of green and blue areas (e.g. parks, green corridors, stepping stones, etc.), which can help societies address a variety of environmental, social and economic challenges in sustainable ways. GI is often contrasted to “grey infrastructure”, i. e. human engineered infrastructures (e.g. a dam as a substitute for natural solutions to problems such as flood prevention), which provide for the same or even less durable services that nature can provide societies for free. GI is emerging as a solution to reverse the current rather counterproductive practice of utilizing expensive “grey infrastructures” and degrading our natural environment [1–3]. The challenge is, however, to design an enabling GI policy and implement it widely.

### Research aims and research questions

Uncertainty, (e.g. uncertain science, linguistic uncertainty, social uncertainty, etc.) behind GI is one among other obstacles to the elaboration of a robust framework on GI and its implementation. “Uncertainty” refers to situations and/or outcomes, for which we lack information that we’d like to have. Uncertainty is not only about what we do not know, but also about what we do not know well, and what can

evolve without us knowing how or when. Assuming that GI design and implementation will always be based on less than complete knowledge and uncertain science, reducing both our ability to make accurate predictions, regarding responses of species and ecological processes or/and to other changes across GI areas, including climate change, as well as our ability to perform all steps from design to implementation of GI (e.g. how to enforce a protection if habitats are not mapped? Or how to enforce a protection if a term in legislation is difficult to interpret?), this article, aims to contribute to the discussion on the highly complex question: how to manage uncertainty in GI design and implementation?

In particular, the article contributes to the discussions on the legal challenges and opportunities associated with “multifunctionality” in the context of GI design and implementation. Initially, GIs were designed and implemented for a single purpose. For instance, this is the case with the core of the EU GI – the “Natura 2000” network, which was initially designed and implemented for the pure nature-conservation purpose. Yet, today, a multifunctional GI seeks to combine different ecological, social, and economic functions. Contemporary GI design and implementation practices show greater diversity in GI concepts and objectives pursued, including biodiversity conservation and other ecosystem services provision, (e.g. “Grow green” project in Spain, which aims, inter alia, to deliver improvements in social, environmental, and economic performances of several cities). Yet, as of now there is no agreement of what an “ecosystem service” is. In general terms, the concept

may be defined as “benefits that people obtain from ecosystems, or their direct and indirect contributions to human well-being” (e.g. the provisioning services, such as food and water, regulating services, such as flood and disease control, cultural services, such as spiritual, recreational and cultural benefits, etc.). The ambiguities associated with the definition of “ecosystem services” make it challenging to apply the concept in a normative way – e.g. when valuing or managing a wide range of ecosystem services. In the context of GI design and implementation the important questions are: What does “multifunctionality” mean? What may the consequences for the shift of the focus from a “single purpose” to “multifunctionality” be for GI design and implementation? And, moreover, how to frame the trade-offs between biodiversity conservation and other ecosystem services provision into GI policy and law (e.g. biodiversity conservation and other ecosystem services provision sometimes conflict)? These questions, *inter alia*, were considered during the Woodnet Biodiversa project [5] Webinar “Uncertainty and Multifunctionality: Legal Challenges and Opportunities for GI”, which took place on the 28th of April, 2020 (online, administered by the Catholic University of Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgium) [6].

### What is GI?

Alix Vollet, a PhD candidate from the Rennes University in France, deliberates on the challenges associated with defining the term “GI”: “What is GI?” Although the question might seem easy, in practice no single definition of GI has been widely recognized. Even though there are common features between many of the existing definitions (e.g. connectivity, multifunctionality, smart conservation, aim to either protect or develop such projects, etc.), defining GI remains a great source of uncertainty. In 2013 the European Commission (the executive branch of the European Union, responsible for proposing legislation, implementing decisions, upholding the EU treaties and managing the day-to-day business of the EU) suggested a working definition of GI as a strategically planned network of natural and semi-natural areas with other environmental features designed and managed to deliver a wide range of ecosystem services ...” [4]. Yet, the definition is too broad and Member States (MSs) find that the definition is “challenging to capture”.

In May 2019, a Commission staff working document was published as a Guidance on the

strategic framework for further supporting the deployment of EU-level green and blue infrastructure. The document aims at clarifying the definition and, *inter alia*, provides a very important precision that “the EU GI concept is a services-oriented one” [7]. Insofar as biodiversity conservation and provision of ecosystem services are not always compatible goals, and even sometimes conflicting ones, this precision is not trivial, especially since GI first emerged in the EU Biodiversity Strategy for 2020. GI can therefore be built with funding and effort dedicated to biodiversity conservation whereas it might not be the best way to reach that goal: in this context, GI would act as an “ecological trap” [8]. Finally, this definition is one of the reasons behind the report that MSs have not yet implemented GI to the extent needed.

### Uncertainty: typology and possible legal responses

Dr Yelena M. Gordeeva, a post-doctoral researcher from the UCLouvain in Belgium deliberates on the “Types of Uncertainties and Possible Legal Responses”. First, Dr Gordeeva discusses the knowledge needs in GI design and implementation (e.g. when the space is considered to be included into a GI meaning; when the ecosystem services are being valued; when connectivity conservation is being measured [9], etc.). Second, Dr Gordeeva suggests the typology of uncertainties in GI context, based on the typology by Gregory et al. [10]. Thus, in the context of GI design and implementation “Epistemic uncertainties” are particularly significant. These are uncertainties resulting from the lack of knowledge; these uncertainties reflect the limits of using scientific data to understand ecological processes and other parameters relevant for GI and its management (e.g. “Measurement Error”, “Aleatory Uncertainties”, “Parametric Uncertainties”, etc.). “Linguistic Uncertainties” is the second major type of uncertainties, which can be encountered in the context of GI design and implementation. Uncertainties can be “Reducible” and “Irreducible”. Uncertainties, depending on their type, may pose challenges and inspire resorting to the available legal tools for managing uncertainty in the process of GI design and implementation. Finally, the presentation suggested three possible alternatives for dealing with uncertainties in GI context, namely: the “Precautionary approach” [11, 12], the “Evidence-based approach” and the “Adap-

tive management” [13]. Further research may include such questions as compatibility of the three approaches and the compatibility of the three approaches and legal principles (e.g. the principle of legal certainty).

### US GI policy

Professor dr J.B. Ruhl from the Vanderbilt University, Nashville, Tennessee, USA, in his presentation “Beyond Stormwater: Moving US GI Policy to the Ecosystem Services Framework”, illustrates that the approaches the US and EU have taken to urban GI have differed in important respects, but face many of the same challenges. The United States and European Union have both pursued policies to promote urban GI. Cities rely on GI outside their urban boundaries to provide important regulating ecosystem services such as groundwater recharge, sediment control, and water purification, as well as provision of and access to provisioning services (e.g., food) and cultural services (e.g., recreation). Cities also can promote GI within their urban boundaries to deliver a broad array of ecosystem services, including local services such as temperature regulation and air purification. In the US, the primary focus of urban GI policies has been on provision of GI to manage stormwater. By contrast, the EU’s 2013 policy on GI embraced a more multifunctional vision of the ecosystem services GI can provide [13]. Consequently, research on urban GI has increased impressively in the EU, including at scales relevant to local policy making.

Professor dr J.B. Ruhl describes the background of urban GI, the US and EU policy emphases, and the questions and challenges that continue to require further research and deliberation. There is a need to continue to “downscale” biophysical and social science research to assist local decision makers. Regulating services such in particular present difficult challenges given their public good nature (lack of markets). Cities are dynamic systems requiring adaptive policies. And the goals, costs, and distribution of GI services and disservices must be established.

### Adaptive management in Canadian natural resources law and policy: lessons for EU GI policy and implementation

“Adaptive Management in Canadian Natural Resources Law and Policy: Lessons for EU GI Policy and Implementation”, a presentation

by Associate Professor dr M. Olszynski (Calgary University, Canada) shares the Canadian experience with adaptive management [18] with a view towards identifying the opportunities and challenges for its incorporation in European Union (EU) GI policy and implementation. Much has been written in both Canada and the United States about adaptive management in the past two decades. Broadly understood as an iterative approach to environmental problems wherein management actions are designed as experiments with a view towards learning, adaptive management’s implementation in Canada, as elsewhere, has been described predominantly as lacking in rigour – what leading U.S. scholars have termed “adaptive management lite”. A recent review of the Canadian forestry and energy resource sectors confirms long-standing concerns: varying conceptions, including as a routine strategy that guarantees positive environmental outcomes; insufficient attention being paid to experimental design; and no or incomplete implementation. Adaptive management is also often misused to circumvent related regulatory requirements.

If adaptive management is to play a role in EU GI policy and implementation, serious consideration should first be given to the development of an adequate regulatory and policy framework. Examples of such frameworks have been proposed in both Canada and the United States and should provide a useful starting point for the discussion.

### Forest ecosystems as a key element of EU GI: policy implementation and effectiveness

“Natura 2000 [16] and Forests in EU-28: Policy Implementation and Effectiveness”, a presentation by an Associate Professor dr Metodi Sotirov (University of Freiburg, Germany), shows that forest ecosystems represent a key element of Natura 2000 network of protected areas based on the EU Habitats and Birds Directives and serving as one of the main instrument of GI in the EU [17, 18]. This is as 50% of Natura 2000 is designed in and/or depend on forest ecosystems. An integrated approach towards nature conservation and land use (e.g., forestry, agriculture) is expected to restore habitats and species and/or to keep them at a favourable conservation status.

However, the scientific and experts knowledge about Natura 2000 effectiveness shows that the majority of habitats/species are in unfavor-

able conservation status, and that effective management plans and measures are lacking. Yet, some best practices of Natura 2000 conservation in forests do exist. The effective forest habitats and species conservation under Natura 2000 depends on appropriate implementation across the EU-28 and has to consider also climate change, nitrogen emissions and forestry operations. Despite legal provisions about ecological connectivity, the Natura 2000 still needs to be further developed and managed as a connected, flexible network that can cope with climate and land use changes.

In order to make further progress, three key challenges need to be tackled. First, *ideological* and *information* challenges have to be addressed by improving communication between authorities and between them and stakeholders, and spelling out both win-win situations for and actively managing trade-offs between nature conservation and forest management practices. Second, *economic* interest-based challenges are to be tackled by encouraging co-funding from all administrative levels, and from nature conservation and agriculture/forestry sectors geared towards the effective provision and use of compensation payments to support conservation objectives, and sustainable forest use where appropriate and compatible with nature conservation. Last but not least, *institutional* challenges in Natura 2000 implementation in forests have to be tackled by improving the cross-sectoral policy integration and by strengthening coordination between the nature conservation and the forestry/land-use sectors. The positive effects of Natura 2000 in forests can be improved with appropriate application of Natura 2000 policy, integrated/adaptable site management and (re-) designation to allow species and habitats to remain despite changes, and creating safeguards towards meeting conservation objectives. This needs to go hand in hand with the involvement of forest managers/owners and nature conservationists in setting conservation objectives and assessing conservation status and understanding and managing the trade-offs between forest ecosystem goods and services and Natura 2000 management objectives.

### GI in EU policy

“Working with Nature, rather than against it: GI in EU Policy”, a presentation by Mrs Karin Zaunberger (Directorate General Environment, European Commission) discusses several concepts, which aspire to work with nature rather

than against it. All are based on the principle that ecosystems in healthy condition deliver multiple benefits and services for human well-being and can thereby address economic, social and environmental goals simultaneously. Depending on their context, these activities are framed as Green Infrastructure (GI), Ecosystem-based Adaptation (EbA), Ecosystem-based Disaster Risk Reduction (EcoDRR), or Natural Water Retention Measures (NWRM). The term nature-based solutions (NbS) is used as an umbrella term.

Over the last decade EU has adopted several policy instruments and guidance documents relevant for GI. These include a dedicated Strategy on Green Infrastructure [4], and the follow-up documents such as the recent EU Guidance document on a strategic framework for further supporting the deployment of EU-level green and blue infrastructure [7], which encourages a more strategic and integrated approach to scaling-up investments in EU-level GI projects. The European Green Deal [19] covers a range of initiatives for which the deployment of GI is important: EU Biodiversity Strategy 2030 [20], Farm to Fork Strategy [21], Climate Law [22], etc.

### Concluding remarks

To sum everything up, “GI” is a policy solution, which can help societies address a variety of environmental, social and economic challenges in sustainable ways. Yet, it is challenging, to design an enabling GI policy and implement it. Among other legal challenges and opportunities for GI design and implementation are the uncertainty behind GI and its multifunctionality. The article suggests the different types of uncertainties, which may be encountered in the process of GI design and implementation. Acknowledging that uncertainties exist – is the first step towards managing uncertainty in the context of GI design and implementation. The second step is – identifying the type of uncertainty. The present article suggests that the two major types of uncertainties in GI design and implementation context may be: “Epistemic Uncertainties” and “Linguistic Uncertainties”. Identifying the types of uncertainties is important as it allows selecting an approach to manage it. The article suggests that the possible legal approaches to uncertainty management in the context of GI design and implementation may be: the precautionary principle, the adaptive management (e.g. Canadian experience), and the evidence-based approach.

To conclude, the article contributes only to the beginning of providing answers to such complex questions as: what is GI? What are the types of uncertainties in the context of GI design and implementation and how to manage the uncertainties with the available legal tools? What is “multifunctionality” and what may the consequences be for the shift of the focus from a “single purpose” to “multifunctionality” in the context of GI design and implementation? And, moreover, how to frame the trade-offs between biodiversity conservation and ecosystem services provision into GI policy and law (e.g. biodiversity conservation and other ecosystem services provision sometimes conflict)? The research on the questions continues, including, *inter alia*, the agreement of the “Woodnet” webinar participants on the need to issue a collective handbook and to hold an international conference on the legal aspects of GI design and implementation in December, 2021 [24].

### References

1. Diaz S., Settele J., Brondizio E.S., Ngo H.T., Guèze M., Agard J., Arneth A., Balvanera P., Brauman K.A., Butchart S.H.M., Chan K.M.A., Garibaldi L.A., Ichii K., Liu J., Subramanian S.M., Midgley G.F., Miloslavich P., Molnár Z., Obura D., Pfaff A., Polasky S., Purvis A., Razzaque J., Reyers B., Chowdhury R. Roy, Shin Y.J., Visseren-Hamakers I.J., Willis K.J., Zayas C.N. Report of the plenary of the intergovernmental science-policy platform on biodiversity and ecosystem services (IPBES) on the work of its seventh session, summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the intergovernmental science-policy platform on biodiversity and ecosystem services [Internet resource] <https://ipbes.net/global-assessment> (Accessed: 20.06.2020).
2. Costanza R. Ecosystem services in theory and practice // Potschin M., Haines-Young R., Fish R., Turner R. Kerry Routledge handbook of ecosystem services. Abingdon: Routledge, 2016. P. 15.
3. European Commission, Towards an EU research and innovation policy agenda for nature-based solutions and Re-naturing cities. Final Report, 2015. P. 24 [Internet resource] <https://ec.europa.eu/programmes/horizon2020/en/news/towards-eu-research-and-innovation-policy-agenda-nature-based-solutions-re-naturing-cities> (Accessed 20.06.2020).
4. European Commission, Communication from the commission to the European parliament, the council, the European economic and social committee and the committee of the regions. Green Infrastructure (GI) – enhancing Europe’s natural capital. Brussels, 6.5.2013 COM (2013) 249 final. [Internet resource] [https://ec.europa.eu/environment/nature/ecosystems/docs/green\\_infrastructures/1\\_EN\\_ACT\\_part1\\_v5.pdf](https://ec.europa.eu/environment/nature/ecosystems/docs/green_infrastructures/1_EN_ACT_part1_v5.pdf) (Accessed: 14.08.2020).
5. European Commission. BiodivERsA [Internet resource] <https://www.biodiversa.org/1026> (Accessed: 20.06.2020).
6. European commission, environment, uncertainty and multifunctionality: legal challenges and opportunities for Green Infrastructure policy [Internet resource] [https://ec.europa.eu/environment/nature/natura2000/platform/events/uncertainty\\_and\\_multifunctionality.htm](https://ec.europa.eu/environment/nature/natura2000/platform/events/uncertainty_and_multifunctionality.htm) (Accessed: 24.07.2020).
7. European Commission, Commission Staff Working Document. Guidance on a strategic framework for further supporting the deployment of EU-level green and blue infrastructure. Brussels, 24.5.2019. SWD (2019) 193 final. P. 8. [Internet resource] [https://ec.europa.eu/environment/nature/ecosystems/pdf/SWD\\_2019\\_193\\_F1\\_STAFF\\_WORKING\\_PAPER\\_EN\\_V4\\_P1\\_1024680.PDF](https://ec.europa.eu/environment/nature/ecosystems/pdf/SWD_2019_193_F1_STAFF_WORKING_PAPER_EN_V4_P1_1024680.PDF) (Accessed: 14.08.2020).
8. Garmendia E., Apostolopoulou E., Adams W.M., Bormpoudakis D. Biodiversity and green infrastructure in Europe: boundary object or ecological trap? // Land Use Policy. 2016. V. 56. P. 315–319. doi: 10.1016/j.landusepol.2016.04.003
9. Lausche B., Born Ch.H. The legal aspects of connectivity conservation. International Union for Conservation of Nature (IUCN) [Internet resource] [https://www.iucn.org/sites/dev/files/legal\\_aspects\\_of\\_connectivity\\_conservation\\_-\\_a\\_concept\\_pape.pdf](https://www.iucn.org/sites/dev/files/legal_aspects_of_connectivity_conservation_-_a_concept_pape.pdf) (Accessed: 20.06.2020).
10. Gregory R., Failing L., Harstone M., Long G., McDaniels T., Ohlsen D. Structural decision making, a practical guide to environmental management choices. Wiley-Blackwell, 2012. 123 p.
11. Sadeleer (De) N. Environmental principles from political slogans to legal rules. Oxford University Press, 2002. P. 74–75.
12. Sadeleer (De) N. The precautionary principle as a device for greater environmental protection: lessons from EC courts // Review of European Comparative and International Environmental Law (RECIEL). 2009. V. 18 (1). P. 3–10. doi: 10.1111/j.1467-9388.2009.00616.x
13. Ruhl J.B. Adaptive management of ecosystem services across different land use regimes // Journal of Environmental Management. 2016. V. 183. P. 418. doi: 10.1016/j.jenvman.2016.07.066
14. Ruhl J.B., Kraft S.E., Lant Ch.L. The law and policy of ecosystem services. Iceland Press, 2007. 360 p.
15. Olszynski M.Z.P. Adaptive management in Canadian environmental assessment law: exploring uses and limitations // UBC Law Review. 2017. V. 50. No. 3. P. 697–796.
16. Gordeeva Y.M., Chlebowski K. Forest management in Poland: legal aspects // Theoretical and Applied Ecology. 2012. No. 3. P. 101–103 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2012-3-101-103
17. Sotirov M. Natura 2000 and forests [Internet resource] <https://www.efi.int/sites/default/files/files/>

publication-bank/2018/efi\_wsctu7\_2017.pdf (Accessed: 20.06.2020).

18. Sotirov M., Arts B. Integrated forest governance in Europe: An introduction to the special issue on forest policy integration and integrated forest management // Land Use Policy. 2018. V. 79. P. 960–967. doi: 10.1016/j.landusepol.2018.03.042

19. European Commission. The European green deal. COM (2019) 640 final. [Internet resource] [https://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar:b828d165-1c22-11ea-8c1f-01aa75ed71a1.0002.02/DOC\\_1&format=PDF](https://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar:b828d165-1c22-11ea-8c1f-01aa75ed71a1.0002.02/DOC_1&format=PDF) (Accessed: 14.08.2020).

20. European Commission. EU biodiversity strategy. COM (2020) 380 final. [Internet resource] <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1590574123338&uri=CELEX:52020DC0380> ps://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar:a3c806a6-9ab3-11ea-9d2d-01aa75ed71a1.0001.02/DOC\_2&format=PDF (Accessed: 14.08.2020).

21. European Commission. Fork to farm strategy, for a fair, friendly and environmentally-friendly food system. COM (2020) 381 final. [Internet resource] <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:52020DC0381>

(Accessed: 14.08.2020).

22. European Commission, Proposal for a regulation of the European Parliament and of the Council establishing the framework for achieving climate neutrality and amending Regulation (EU) 2018/2019 (European Climate Law). COM (2020) 80 final 2020/0036 (COD). [Internet resource] [https://ec.europa.eu/info/sites/info/files/commission-proposal-regulation-european-climate-law-march-2020\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/info/sites/info/files/commission-proposal-regulation-european-climate-law-march-2020_en.pdf) (Accessed: 14.08.2020).

23. Born Ch.H., Cliquet A., Schoukens H., Misonne D., Van Hoorick G. The Habitats directive in its EU environmental law context, European nature's best hope? London: Routledge, 2015. 526 p. doi: 10.4324/9781315777290

24. Woodnet webinar, Uncertainty and multifunctionality: legal challenges and opportunities for green infrastructure policy, 2020. [Internet resource] <https://www.forestplatform.org/event/woodnet-seminar-uncertainty-and-multifunctionality-legal-challenges-and-opportunities-for-green-infrastructure-gi-policy> (Accessed: 08.09. 2020).

## Влияние диальдерона на процесс инфицирования клеточных культур некоторыми вирусами

© 2020. М. А. Азиямов, к. в. н., в. н. с.,

Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого, 610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, д. 166а, e-mail: lazermikl@yandex.ru

Антропогенное воздействие на экологическую обстановку может приводить к изменению генома близкородственных вирусов животных и человека. Такая ситуация создаёт угрозу возникновения неконтролируемых эпидемических и эпизоотических процессов.

Применение химически синтезированных противовирусных препаратов вызывает появление резистентных мутантных типов вирусов герпеса и аденовирусов. Кроме того, химические препараты вызывают системные осложнения при терапии аденовириозов и герпесных заболеваний человека и животных.

С целью поиска безвредных противовирусных препаратов было изучено влияние диальдерона (декагидроксипролина-2-деценгидроизохинолина диметиламиноэтанола альбумината) на процесс инфицирования культуры клеток MDBK (культура клеток почек эмбриона коровы) аденовирусом 3 типа крупного рогатого скота и культуры ПЭК (почки эмбриона коровы) вирусом герпеса 1 типа (возбудителем инфекционного ринотрахеита). Установлено, что диальдерон в дозе 1000 мкг/мл не обладал цитотоксическим действием на клетки MDBK и ПЭК. Диальдерон в дозе 100 мкг/мл не обладал прямым вирулицидным действием на аденовирус 3 типа на культуре клеток MDBK, в то же время в течение 48 ч ингибировал репликацию вируса с инфицирующей активностью 2,2 lgTCID<sub>50/мл</sub> (тканевая цитопатогенная доза, вызывающая гибель 50% клеток монослоя). В течение 96 ч препарат снижал количество инфицированных клеток до 76,2±0,15% по сравнению с 99,8±0,11% (в контроле).

Исследуемый препарат полностью ингибировал репликацию вируса герпеса 1 типа на культуре клеток ПЭК и вызывал снижение титра вируса на 3,45 lgTCID<sub>50/мл</sub>. Диальдерон в течение 96 ч снижал количество инфицированных клеток ПЭК с 98,4±0,15% (в контроле) до 9,6±0,12% (в опыте). Препарат предотвращал закисление среды, понижал уровень малонового диальдегида и вызывал активацию выработки α-интерферона в культуре клеток ПЭК.

**Ключевые слова:** диальдерон, аденовирусы, вирусы герпеса, инфицирование, культуры клеток.

## Dialderon effect on cell cultures infection by some viruses

© 2020. M. A. Aziamov ORCID: 0000-0001-5718-9463\*

Federal Agricultural Research Center of North-East named N. V. Rudnitskiy, 166a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007, e-mail: lazermikl@yandex.ru

Anthropogenic effects on the ecological situation can change the genome of closely related animal and human viruses. This situation threatens the emergence of uncontrolled epidemic and epizootic processes.

The use of chemically synthesized antiviral drugs causes the appearance of resistant mutant types of herpes viruses and adenoviruses. Then chemical drugs cause systemic complications in the therapy of adenovirus and herpes diseases of humans and animals.

The virucidal effect of dialderon (decahydroxyproline-2-decenohydroisoquinoline dimethylaminoethanol albuminate) on the cell infection of MDBK (Madin-Darby bull kidney) cell culture with cattle type 3 adenovirus and herpes virus on the KEC (kidney embryo cow) culture was studied in order to search for harmless antiviral drugs. It was found that dialderone in a dose of 1000 µg/mL did not have cytotoxic effect on MDBK and KEC cells. The dialderone in a dose of 100 µg/mL had no direct virucidal effect on type 3 adenovirus on MDBK cell culture, while inhibit virus replication with infection activity of 2.2 lgTCID<sub>50/mL</sub> during 48 hours. The drug reduced the number of infected cells to 76.2±0.15% compared to 99.8±0.11% in the control after 96 hours.

The test drug inhibit completely the growth of herpes type 1 virus on the culture of KEC cells and reduced in the virus titer by 3.45 lgTCID<sub>50/mL</sub>. Dialderon reduced the number of infected KEC cells from 98.4±0.15% (in control) to 9.6±0.12% (in the test) during 96 hours. The drug prevented acidification of the medium, lowered the level of malondialdehyde and caused the activation of α-interferon production in the culture of KEC cells.

**Keywords:** dialderon, adenoviruses, herpes viruses, infection, cell culture.



В современной медицине эпидемический процесс рассматривается как сложная социально-экологическая система, в которой взаимодействуют популяции хозяина (человека, животного) и паразита (вируса, бактерии) в изменяющихся природных и социальных условиях [1, 2]. Загрязнение атмосферы экотоксикантами (гептилом, диоксинами, бенз[а]-пиреном, ксилолами и другими), парниковый эффект, вырубка лесов, высокая численность людей и сельскохозяйственных животных в ограниченных пространствах изменяют геном болезнетворных вирусов, усиливают их пассаж и контагиозность (способность передачи от больных к здоровым), повышают вирулентность (степень болезнетворности), что может приводить к смене видоспецифичности вируса. Наглядный пример этому – пандемия различных типов коронавируса SARS-COV (COVID-19), передавшихся человеку от летучих мышей (как природного резервуара) и промежуточных хозяев – верблюдов и циветт [3].

Кроме коронавируса SARS-COV значительное внимание вирусологов уделяется вирусам герпеса и аденовирусам человека и животных [4–6]. Вирусы герпеса и аденовирусы относятся к пантропным патогенам, то есть поражают дыхательные пути, желудочно-кишечную, мочеполовую и зрительную системы органов, лимфоидную и нервную ткани, а также могут вызывать онкологические заболевания. Эти вирусы строго видоспецифичны, но геном некоторых типов аденовирусов крупного рогатого скота на 92–94% сходен с геномом аденовируса человека [7, 8]. Такое антигенное сходство может привести к непредсказуемым результатам под действием различных экологических воздействий.

Вирусы герпеса обладают высокой латентцией – пожизненным сохранением вируса в нервных клетках регионарных ганглиев чувствительных нервов, что ведёт к угнетению гуморального и клеточного иммунитета и возникновению вторичных иммунодефицитов. Циклическая репликация вируса герпеса в инфицированных клетках тропных тканей создаёт угрозу обострения и возникновения эпидемического или эпизоотического процессов.

Аденовирусы, в силу своего филогенетического развития, обладают высокой устойчивостью к химическим детергентам и ультрафиолетовому облучению. Они высокоустойчивы и сохраняются в воде бассейнов и открытых водоёмов до трёх месяцев, в водопроводной воде – несколько недель. Соответственно, у них, кроме воздушно-капельного

и контактного пути заражения, существуют ещё фекально-оральный и водный пути [9, 10]. Это приводит к ухудшению эпидемиологической и экологической ситуации при потреблении такой воды.

Кроме того, аденовирусы способны образовывать внутриядерные включения в виде агломератов кристаллоподобного строения, что значительно может повышать их устойчивость к воздействию физических и химических факторов.

Современные исследователи считают представителей некоторых типов аденовирусов и вирусов герпеса «недооценённой угрозой человечеству», что реально подтверждается высокими процентами заболеваемости людей и животных при мониторинге вирусных заболеваний [11, 12].

В терапевтическом аспекте герпесвирусных и аденовирусных инфекций также существуют экологические проблемы. Химически синтезированные лекарственные препараты, такие как производные пирофосфата, аминоадамантана, ациклогуанозина, а также рибавирин, цидофовир, химерис (СМХ001), широко используемые в лечебной практике, вызывают появление резистентных мутантных форм вирусов, обусловленных мутациями тимидинкиназы и ДНК-полимеразы поражённых вирусами клеток [13, 14]. Некоторые мутантные типы аденовирусов и вирусов герпеса также приобретают устойчивость к интерферонам вследствие подавления противовирусного каскада реакций [15, 16]. Большинство противовирусных препаратов, несмотря на достаточно высокую терапевтическую эффективность, обладают нефротоксичностью, гепатотоксичностью и кардиоваскулярной токсичностью [17, 18].

В связи с этим весьма актуальными являются разработка и изучение новых противовирусных препаратов с минимальным побочным действием на макроорганизм.

Цель наших исследований заключалась в изучении противовирусного действия препарата диальдерон (декагидроксипролина-2-деценогидроизохинолина диметиламиноэтанола альбумината) в отношении возбудителей заболеваний крупного рогатого скота – аденовируса 3 типа и вируса герпеса 1 типа на культурах клеток.

### Материалы и методы исследования

Действие диальдерона на процесс инфицирования клеточной культуры аденовирусом

3 типа изучали на культуре клеток MDBK (Madin Darby Bull Kidney). Аденовирус 3 типа был выделен из экссудата носовой полости больного телёнка.

Культивирование клеток MDBK осуществляли на среде № 199 [19] с добавлением 10% инактивированной нагреванием эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco), 2 mmL глутамина (Sigma) и антибиотиков: 100 ЕД/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 100 мкг/мл нистатина на 1 мл среды.

Оценку цитостатического действия диальдерона на неинфицированные клетки проводили при введении диальдерона в количестве 1000 мкг/мл в составе среды № 199, которой покрывали слой клеток культуры. Использовали тест адсорбции – способность живых клеток поглощать и накапливать краситель нейтральный красный в лизосомах благодаря электростатическому притяжению. Повреждения лизосомных мембран приводило к снижению накопления красителя, поэтому окрашивание соответствовало количеству жизнеспособных клеток. Культуральные флаконы инкубировали в течение 96 ч. Действие препаратов оценивали ежедневно методом световой микроскопии по изменению клеточного монослоя.

Перед инфицированием клетки MDBK выращивали в культуральных флаконах (Orange Scientific, Бельгия) до образования монослоя при 37 °С во влажной атмосфере, содержащей 5% CO<sub>2</sub>, после чего клетки заражали аденовирусом 3 типа с инфекционной активностью 2,2 lg ТЦД<sub>50/мл</sub>.

Влияние диальдерона на процесс инфицирования клеток оценивали, вводя в культуру стерильный раствор диальдерона в дозе 100 мкг/мл. Результаты заражённости клеток и дегенерации монослоя оценивали визуально при 80-кратном увеличении микроскопа через 24, 48, 72 и 96 ч. Первичный морфологический анализ сводился к обнаружению изменений в структуре однородного клеточного слоя исследуемых культур MDBK и установлению цитопатического эффекта в них. Количество инфицированных аденовирусом клеток MDBK, окрашенных 0,01% раствором акридинового оранжевого (Sigma), выявляли через 24–96 ч цитофлюоресцентным методом под ультрафиолетовым излучением. Для определения количественных оценок инфекционной активности использовали метод титрования вируса по Риду и Менчу с расчётом ТЦД<sub>50/мл</sub> (lg тканевой цитопатогенной дозы) [20].

Вирулицидное действие диальдерона в дозе 100 мкг/мл на инфекционную активность вируса и интенсификацию закисления среды в культурах клеток ПЭК (почки эмбриона коров) оценивали при заражении вирусом герпеса 1 типа – возбудителем ИРТ (инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота) штаммом «Румын» (из коллекции ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина).

Культивирование клеток ПЭК осуществляли на среде № 199 с добавлением 10% фетальной сыворотки крупного рогатого скота. Антибиотики пенициллин, стрептомицин и нистатин добавляли в среду из расчёта 100 ЕД на 1 мл среды.

Перед инфицированием клетки ПЭК выращивали в культуральных флаконах (75 см<sup>2</sup>), по 10 штук – на контроль и опыт, до образования монослоя, после чего клетки заражали вирусом герпеса 1 типа с инфекционной активностью 6 lg ТЦД<sub>50/мл</sub>.

Влияние диальдерона на процесс инфицирования культуры клеток оценивали, вводя в культуру заражения раствор диальдерона в количестве 100 мкг/мл. Результаты заражённости клеток и дегенерации культуры оценивали визуально при 80-кратном увеличении микроскопа через 24, 48, 72, 96 ч. Первичный морфологический анализ сводился к обнаружению изменений в структуре однородного клеточного слоя исследуемых культур ПЭК и установлению цитопатического эффекта в них. Количество инфицированных вирусом герпеса 1 типа клеток, окрашенных 0,01% раствором акридинового оранжевого, выявляли через 24 ч цитофлюоресцентным методом под ультрафиолетовым излучением.

Интенсивность инфицирования монослоя определяли также по закислению среды и изменению цвета красителя (фенолового красного), реагирующего на сдвиги pH, обусловленные метаболическими процессами в клетках. Для определения количественных оценок по инфекционной активности вируса использовали метод титрования вируса по Риду и Менчу с расчётом lg ТЦД<sub>50/мл</sub>.

Количество малонового диальдегида (МДА) определяли на спектрофотометре «Spekol 1300» (Германия).

Уровень альфа-интерферона определяли методом иммуноферментного анализа диагностикумами «Cusabio Biotech Co» (Китай) на иммуноферментном анализаторе Zenyth 340 (Anthos).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ STATISTICA [21].

## Результаты и обсуждение

При исследовании цитотоксического действия на культуры клеток без вируса установили, что диальдерон в концентрации 1000 мкг/мл не вызывал микроскопических изменений монослоя культур. По данным теста адсорбции нейтрального красного процент жизнеспособных клеток не отличался от показателей в контроле.

Через 24 ч после заражения клеток аденовирусом 3 типа в титре  $2,2 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{мл}}$  в контроле отмечали процесс инфицирования клеток MDBK, по образованию в них одного включения, характерного для аденовируса 3 типа. Количество инфицированных клеток составило  $50,2 \pm 0,12\%$  (табл. 1). Через 48 ч в контроле отмечали дегенерацию монослоя, поражённые клетки округлялись, укрупнялись, в цитоплазме появлялась зернистость, клетки скапливались группами в виде кистей. Дегенерация монослоя начиналась с периферии.

Количество инфицированных клеток в контрольных культуральных флаконах к 96 ч наблюдения составило  $99,8 \pm 0,11\%$  с полной дегенерацией монослоя, а инфекционная активность аденовируса 3 типа с 24 до 96 ч повысилась с  $3,24 \pm 0,05$  до  $5,28 \pm 0,06 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{мл}}$ . Уровень МДА в культуральной среде контроля повышался, соответственно, с  $6,4 \pm 0,02$  до  $7,6 \pm 0,05$  пг/мл. В процессе инфицирования вирусами клеток, в их мембранных структурах создавались условия для интенсификации закисления среды ( $\text{pH} = 3,5$ ) в культуре клеток. Процесс закисления влиял на усиление инфицирования клеток вирусами, усиливая дегенерацию клеточной культуры. Альфа-интерферон под действием аденовируса 3 типа на MDBK после 48 часов наблюдения не образовывался (табл. 1).

В опыте действие диальдерона предотвращало инфицирование клеток в течение 48 ч в результате достаточно высокого антиоксидантного действия исследуемого препарата, что подтверждается отсутствием закисления среды и МДА. Образование альфа-интерферона было выявлено в очень низком количестве и не могло предотвратить инфицирование клеток.

С 72 до 96 ч наблюдения количество инфицированных клеток повышалось с  $36,5 \pm 0,09$  до  $76,2 \pm 0,15\%$ , а инфекционная активность аденовируса с  $3,82 \pm 0,07$  до  $5,22 \pm 0,02 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{мл}}$ , также повышался и уровень МДА, усиливая разрушение монослоя клеток (табл. 1). Дегенерацию монослоя клеток отмечали с 96 ч наблюдения.

Исследования показали, что диальдерон не обладал прямым противовирусным действием на аденовирус 3 типа.

Следует учесть, что прямым вирулицидным действием обладает достаточно небольшое количество препаратов, в основном, химические соединения с повышенной цитотоксичностью. Диальдерон не обладал токсическими свойствами [22].

При заражении культуры ПЭК вирусом герпеса 1 типа с инфекционной активностью  $6 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{мл}}$  через 24 ч в контроле отмечали процесс дегенерации клеток. Дегенерация заражённых клеток начиналась с периферии клеточного пласта, поражённые клетки принимали звездообразную форму и к 72 ч наблюдения формировали плоские синцитии, содержащие по 10–25 ядер. На четвёртые сутки дегенерированный клеточный пласт отслаивался в виде крупных хлопьев. К этому времени 98,4% клеток ПЭК были инфицированы вирусом (табл. 2).

Диальдерон в концентрации 100 мкг вызывал резкое замедление дегенерации культуры ПЭК, снижая процент инфицированности клеток к 96 ч наблюдения до  $9,6 \pm 0,12\%$  по сравнению с  $98,4 \pm 0,15\%$  в контроле (табл. 2).

Из данных таблицы 2 следует, что усиление инфицированности клеток ПЭК в контроле вызывал продукт окисления – МДА, накапливающийся в культуральной среде и способствующий разрушению оболочек клеток, через 96 ч в контроле до  $6,8 \pm 0,06$  пг/мл по сравнению с опытом –  $2,8 \pm 0,04$  пг/мл. Снижение МДА указывало на защитное мембранотропное действие диальдерона в культуре.

Кроме подавления образования МДА, диальдерон вызывал усиление выделения альфа-интерферона клетками ПЭК [23] с  $0,12 \pm 0,008$  (в контроле) до  $2,48 \pm 0,002$  пг/мл (в опыте), что подтверждало противовирусное действие через 96 ч наблюдения. Инфекционная активность вируса герпеса 1 типа под действием диальдерона снизилась на  $3,45 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{мл}}$ , что свидетельствовало о резком замедлении репликации вируса в клетках (табл. 2). При дальнейшем наблюдении, через 96 ч, инфекционная активность вируса продолжала снижаться до  $2,55 \pm 0,04 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{мл}}$ .

## Заключение

В результате выполненных исследований установлено, что диальдерон не вызывал микроскопических изменений в монослое

**Таблица 1 / Table 1**  
 Действие диальдерона на процесс инфицирования культуры клеток MDBK вирусом аденовируса крупного рогатого скота 3 типа  
 The dialderon effect on infection cell culture MDBK process with type 3 bovine adenovirus

Показатели Markers	Контроль, n = 10 / Control, n = 10				Опыт, n = 10 / Experimental, n = 10			
	24 ч 24 hour	48 ч 48 hour	72 ч 72 hour	96 ч 96 hour	24 ч 24 hour	48 ч 48 hour	72 ч 72 hour	96 ч 96 hour
Количество инфицированных клеток, % Quantity of the infected cages, %	50,02±0,12	81,5±0,14	96,4±0,06	99,8±0,11	0	0	36,5±0,09	76,2±0,15
Инфекционная активность вируса, lgТЦД <sub>50</sub> /мл Infectious activity of virus, lgTCID <sub>50</sub> /mL	3,24±0,05	4,51±0,08	5,24±0,06	5,28±0,04	2,20±0,02	2,15±0,04	3,82±0,07	5,22±0,02
Уровень малонового диальдегида в культуральной среде, пг/мл Malondialdehyde level in culture medium, pg/mL	6,4±0,02	7,2±0,05	7,4±0,08	7,6±0,05	0	0	5,6±0,04	6,8±0,07
Уровень альфа-интерферона в культуральной среде, пг/мл Alpha interferon level in culture medium, pg/mL	0	0	0	0	0,15±0,006	0,11±0,004	0	0

**Таблица 2 / Table 2**  
 Влияние диальдерона на процесс инфицирования культуры клеток ПЭК вирусом герпеса 1 типа  
 The dialderon effect on infection cell culture KES process with type 1 herpes virus

Показатели Markers	Контроль, n = 10 / Control, n = 10				Опыт, n = 10 / Experimental, n = 10			
	24 ч 24 hour	48 ч 48 hour	72 ч 72 hour	96 ч 96 hour	24 ч 24 hour	48 ч 48 hour	72 ч 72 hour	96 ч 96 hour
Количество инфицированных клеток, % Quantity of the infected cages, %	48,2±0,15	79,3±0,8	92,1±0,11	98,40±0,15	0	0	7,5±0,14	9,6±0,12
Инфекционная активность вируса, lgТЦД <sub>50</sub> /мл Infectious activity of virus, lgTCID <sub>50</sub> /mL	6,25±0,08	6,45±0,04	6,52±0,08	6,56±0,12	3,25±0,12	2,85±0,11	2,65±0,05	2,55±0,04
Уровень малонового диальдегида в культуральной среде, пг/мл Malondialdehyde level in culture medium, pg/mL	5,4±0,05	5,7±0,08	6,2±0,04	6,8±0,06	0	2,5±0,02	2,8±0,02	2,8±0,04
Уровень альфа-интерферона в культуральной среде, пг/мл Alpha interferon level in culture medium, pg/mL	0,06±0,004	0,08±0,005	0,15±0,002	0,12±0,008	1,25±0,008	1,48±0,006	2,45±0,004	2,48±0,002

и не обладал цитотоксическим действием на культуры клеток. Препарат блокировал выработку МДА и предотвращал инфицирование клеток MDBK аденовирусом 3 типа в течение 48 часов. Диальдерон не обладал прямым вирулицидным действием на аденовирус 3 типа и через 96 часов происходила дегенерация инфицированного монослоя клеток MDBK.

Диальдерон в 2,4 раза снижал уровень МДА в культуре клеток ПЭК, что подтверждало его защитное мембранотропное и антиоксидантное действие.

На основании полученных результатов было определено, что препарат замедлял процесс дегенерации культуры клеток ПЭК вирусом герпеса 1 типа и снижал на 89% инфицирование клеток. Диальдерон активировал выработку альфа-интерферона, подавлял репликацию вируса герпеса 1 типа на ПЭК и снижал его инфекционную активность на  $3,45 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{мл}}$ .

## References

1. Belov A.B. Problems of the theory of epidemiological science and possible ways of its development // *Fundamental'naya i klinicheskaya meditsina*. 2018. V. 3. No. 4. P. 94–106 (in Russian). doi: 10.23946/25500-0764-2018-3-4-93-106
2. Hatta M., Gao P., Halfmann P., Kawaoka Y. Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses // *Science*. 2001. V. 293. No. 5536. P. 1840–1842. doi: 10.1126/science.1062882
3. Forster P., Forster L., Renfrew C., Forster M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes // *PNAS*. 2020. V. 117. No. 17. P. 9241–9243. doi: 10.1073/pnas.2004999117
4. L'vov N.I., Zhdanov K.V., Lobzin Yu.V., Maleyev V.V. The experience of using antiviral drugs in acute respiratory diseases of adenoviral etiology // *Infektsionnyye bolezni*. 2013. V. 11. No. 4. P. 65–71 (in Russian).
5. Isaeva E.I., Vetrova E.N., Tyusheva V.V., Chernyshova A.I., Omelchenko L.V., Morozova O.V. Study of antiviral activity of azoximer bromide on an experimental in vitro model // *Zhurnal infektologii*. 2019. Application 1. V. 11. No. 1. P. 5–13 (in Russian).
6. Sandri-Goldin R.M. The many roles of the highly interactive HSV protein ICP27, a key regulator of infection // *Future Microbiology*. 2011. V. 6. No. 11. P. 1261–1277. doi: 10.2217/fmb.11.119
7. Lehmkuhl H.D., Hobbs L.A. Serologic and hexon phylogenetic analysis of ruminant adenoviruses // *Arch. Virol.* 2008. No. 153. P. 891–897. doi: 10.1007/s00705-008-0063-4
8. Zhu Y., Yu Z., Cai H., Gao Y., Dong X., Li Z., Shi H., Meng Q., Li C., Xue F. Isolation, identification and complete genome sequence of a bovine adenovirus type 3 from cattle in China // *Virology Journal*. 2011. V. 8. No. 557. P. 1–8. doi: 10.1186/1743-422X-8-557
9. D'Angelo L.J., Hierholzer J.C., Keenlyside R.A., Anderson L.J., Martone W.J. Pharyngoconjunctival fever caused by adenovirus type 4: Report of a swimming pool-related outbreak with recovery of virus from pool water // *Journal of Infectious Diseases*. 1979. V. 140. No. 1. P. 42–47. doi: 10.1093/infdis/140.1.42
10. Chapron C.D., Ballester N.A., Fontaine J.H., Frades C.N., Margolin A.B. Detection of astroviruses, enteroviruses and adenoviruses types 40 and 41 in surface waters collected and evaluated by the information collection rule and integrated cell culture-nested PCR procedure // *Applied and Environmental Microbiology*. 2000. V. 66. No. 6. P. 2520–2525. doi: 10.1128/AEM.66.6.2520-2525.2000
11. Lvov N.I., Peredelsky E.V., Grishin I.S. Frequency of isolation of adenovirus in young people from organized and the clinical significance of relevant serotypes 3rd Pan European // *Congress of Military Medicine: scientific abstracts*. Belgrade, 2014. P. 139.
12. Gaffarov Kh.Z., Yefimova M.A., Dupleva L.Sh., Gumerov V.G., Yarullin A.I., Karimullina I.G., Barbarova L.A., Kurbanova Z.B. A retrospective analysis of respiratory intestinal viruses circulating among cattle in the Middle Volga region // *Uchenyye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N.E. Bauman*. 2013. V. 216. P. 78–84 (in Russian).
13. Chen S., Pearson A., Coen D., Chen H. Failure of thymidine kinase-negative herpes simplex virus to reactivate from latency following efficient establishment // *Journal of Virology*. 2004. V. 78. No. 1. P. 520–523. doi: 10.1128/JVI.78.1.520-523.2004
14. Romanowski E.G., Gordon Y.J., Araullo-Cruz T., Yates K.A., Kinchington P.R. The antiviral resistance and replication of cidofovir-resistant adenovirus variants in the New Zealand white rabbit ocular model // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001. V. 42. No. 8. P. 1812–1815.
15. Al-Khatib K., Campbell I.L., Carr D.J. Resistance to ocular herpes simplex virus type 1 infection in IL-12 transgenic mice // *Journal of Neuroimmunology*. 2002. Nov. V. 132. No. 1–2. P. 41–48. doi: 10.1016/S0165-5728(02)00305-3
16. Jing X., Cerveny M., Yang R., He B. Replication of herpes simplex virus 1 depends on the gamma 134.5 functions that facilitate virus response to interferon and egress in the different stages of productive infection // *Journal of Virology*. 2004. V. 78. No. 14. P. 7653–7666. doi: 10.1128/jvi.78.14.7653-7666.2004
17. Malmgaard L., Paludan S.R. Interferon (IFN)- $\alpha/\beta$ , interleukin (IL)-12 and IL-18 coordinately induce production of IFN- $\gamma$  during infection with herpes simplex virus type 2 // *Journal of General Virology*. 2003. V. 84. No. 9. P. 2497–2500. doi: 10.1099/vir.0.19251-0
18. Coca S.G., Perazella M.A. Rapid communication: acute renal failure associated with tenofovir: evidence of drug-induced nephrotoxicity // *American Journal of the Medical Sciences*. 2002. V. 324. No. 6. P. 342–344.
19. Laboratory diagnostic methods of animals viral diseases / Eds. V.N. Syurin, R.V. Belousova, B.V. Solov'yev, N.F. Fomina. Moskva: Agropromizdat, 1986. P. 96–97 (in Russian).

20. Zarubayev V.V., Slita A.V., Sirotkin A.K., Nebol'sin V.E., Kiselev O.I. An experimental study of the antiviral activity of Ingavirin against human adenovirus // *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2010. No. 55. P. 9–10 (in Russian).

21. Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. Application of the application package STATISTICS. Moskva: Media Sfera. 2002. 312 p. (in Russian).

22. Azyamov M.A., Shirokikh A.A., Ashikhmina T.Ya. The toxicity comparison of antitumor substances: the

mushroom *Hericium erinaceus* BP 16 polysaccharides, dialderon and methotrexate // *Theoretical and Applied Ecology*. 2019. No. 4. P. 142–149 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-4-142-149

23. Chee A.V., Roizman B. Herpes simplex virus 1 gene products occlude the interferon signaling pathway at multiple sites // *Journal of Virology*. 2004. April. V. 78. No. 8. P. 4185–4196. doi: 10.1128/JVI.78.8.4185-4196.2004



Уважаемые коллеги!

Приглашаем Вас принять участие в работе **II Всероссийской научно-практической конференции «Утилизация отходов производства и потребления: инновационные подходы и технологии»**, которая будет проводиться в г. Кирове **16–18 ноября 2020 г.**

Программа включает проведение:

1. II Всероссийской научно-практической конференции «Утилизация отходов производства и потребления: инновационные подходы и технологии».
2. Круглого стола «Комплексная система контроля и мониторинга по обращению с отходами производства и потребления».
3. XVIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем».
4. II Всероссийского молодёжного конкурса научно-исследовательских проектов «Разработка методов и технологий обращения с отходами производства и потребления».
5. Интеллектуальной игры для студентов «Брейн-ринг».

Информация о конференции, регистрационная форма участника и правила оформления материалов размещены на сайте [http://forum\\_othody\\_kirov.tilda.ws](http://forum_othody_kirov.tilda.ws)  
**Контакты оргкомитета: e-mail: confbioeco@gmail.com, тел. (8332)37-02-77**

**II Всероссийская научно-практическая конференция «Утилизация отходов производства и потребления: инновационные подходы и технологии» (17 ноября 2020 г.)**

Конференция будет проводиться в форме пленарного заседания и работы секций:

- Секция 1. Технологии утилизации органических отходов и пришедших в негодность пестицидов
- Секция 2. Методы и технологии утилизации и рециклинга масел и нефтезагрязнённых шламов
- Секция 3. Утилизация и рециклинг отходов кислотного-щелочного производства, аккумуляторов, батареек, трансформаторов
- Секция 4. Технологии утилизации и рециклинг отходов, содержащих тяжёлые металлы, в том числе ртутьсодержащих отходов
- Секция 5. Биотехнологии утилизации и обезвреживания отходов производства и потребления
- Секция 6. Методы контроля и экологического мониторинга в районе предприятий утилизации и обезвреживания отходов производства и потребления

**Круглый стол «Комплексная система контроля и мониторинга по обращению с отходами производства и потребления» (18 ноября 2020 г.)**

Основные темы круглого стола:

Законодательные основы организации системы контроля и мониторинга по обращению с отходами производства и потребления: проблемы, пути решения.

Действующая система контроля и мониторинга по обращению с отходами производства и потребления на предприятиях – выступление представителей Росприроднадзора, Ростехнадзора, Роспотребнадзора.

Из опыта работы по организации системы контроля и мониторинга по обращению с отходами производства и потребления в регионах.

Из опыта работы по организации системы контроля и мониторинга по обращению с отходами производства и потребления на предприятиях.



## К ДНЮ РОЖДЕНИЯ Г. Я. КАНТОРА

*Григорий Яковлевич Кантор – кандидат технических наук, научный сотрудник с первого дня основания лаборатории биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и ВятГУ, многолетний член редколлегии нашего журнала «Теоретическая и прикладная экология» – в июне отметил свой юбилей.*

Родился Григорий Яковлевич 14 июня 1955 г. в г. Кирове. В 1972 г. после окончания средней школы № 53 поступил на физический факультет Томского государственного университета им. В.В. Куйбышева. С 1977 г. по 1979 г. работал учителем физики и астрономии в средней школе п. Усть-Тым Каргасокского района Томской области.

В период с 1979 г. по 1982 г. Григорий Яковлевич работал инженером НИС Кировского политехнического института. В 1982 г. он поступил в очную аспирантуру Физико-технического института АН СССР им. А.Ф. Иоффе по специальности «Астрофизика». С 1989 г. по 2006 г. работал в Кировском государственном педагогическом институте им. В.И. Ленина на должностях старшего научного сотрудника НИС и старшего преподавателя кафедры информатики.

В 2005 г. в Московском государственном университете геодезии и картографии Григорий Яковлевич успешно защитил кандидатскую диссертацию по теме «Разработка структуры информационно-аналитического обеспечения системы комплексного экологического мониторинга в районе размещения объектов по хранению и уничтожению химического оружия» по специальности «Геоэкология».

С 2000 г. и по настоящее время Григорий Яковлевич работает научным сотрудником в лаборатории биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и ВятГУ. Мы ценим Григория Яковлевича как глубокого исследователя и активного учёного. Одна из основных сфер научных интересов Григория Яковлевича – обработка данных экспериментов и наблюдений, в том числе с использованием ГИС-технологий, методов дистанционного зондирования Земли и математической статистики, разработка компьютерных программ для обработки данных. Григорий Яковлевич активно участвует в работах по государственному заданию Института биологии, а также в проектных работах лаборатории биомониторинга – в полевых и лабораторных исследованиях, в подготовке и оформлении научных и технических отчётов.

Григория Яковлевича отличает не только острый и незаурядный ум, но и «золотые» руки. Что бы ни случилось: вышел из строя компьютер или сложный аналитический прибор – Григорий Яковлевич всегда поможет, исправит, отремонтирует, усовершенствует, сделает лучше. Благодаря уме-

лым рукам Григория Яковлевича, для проведения полевых и лабораторных работ из подручных материалов созданы приборы и приспособления (например, батометр или климатическая камера), которые по своим эксплуатационным качествам не уступают дорогостоящим промышленным образцам. Отлично владея языками программирования, Григорий Яковлевич создал множество компьютерных программ по обработке массивов экспериментальных данных, сигналов с измерительных и аналитических приборов.

Григорий Яковлевич на протяжении многих лет является членом редколлегии журнала «Теоретическая и прикладная экология». Хорошее знание английского языка очень помогает работе редакции, и во многом благодаря его участию журнал вошёл в международные наукометрические базы данных Scopus и Web of Science Core Collection. Григорий Яковлевич активно принимает участие в редактировании и рецензировании статей на обоих языках, консультирует других членов редколлегии журнала.

Григорий Яковлевич – надёжный друг, истинный соратник в научных исследованиях, умный и деликатный человек. Его отличительные черты – высокая эрудиция, огромное личное обаяние, постоянная готовность помочь коллегам и ученикам. Благодаря помощи и поддержке Григория Яковлевича успешно защитили кандидатские диссертации по методам дистанционного зондирования Земли и экологического картографирования молодые сотрудники Вятского государственного университета А.С. Олькова, Т.А. Адамович, Е.А. Клековкина, Т.И. Кутявина. В настоящее время Г.Я. Кантор является научным руководителем аспиранта В.В. Рутмана. Григорий Яковлевич состоялся в жизни не только как учёный и изобретатель, но и как преданный муж и любящий отец.

Мы от всей души поздравляем Вас, Григорий Яковлевич, с Днём Рождения, с Юбилеем! Желаем крепкого здоровья, оптимизма, дальнейших успехов и вдохновения в всех делах, новых идей и их воплощения, большого счастья и благополучия Вам и Вашей семье!

*Коллектив редколлегии  
журнала «Теоретическая и прикладная  
экология» и лаборатории биомониторинга*

Индекс 82027, 48482



ISSN 1995-4301



9 771995 430004