

## ХИМИЯ

УДК 616.98:579.835.12-06-034.14-079.191.1(045)

### ВЛИЯНИЕ КАНТОМИНАЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ *Helicobacter pylori* НА РАЗВИТИЕ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ, РАКА ЖЕЛУДКА И ИХ ОСЛОЖНЕНИЙ

А.С. Толстокоров, И.В. Федотов, Н.А. Осина\*

Саратовский государственный медицинский университет  
E-mail: fedotov\_iv@rambler.ru

\* Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

В работе проведен анализ биоптатов 170 пациентов с язвенной болезнью и раком желудка по выявлению *Helicobacter pylori* с помощью гистологического и молекулярно-генетического методов. Определен уровень кантоминации *H. pylori* в различных клинических случаях. Выявлены наиболее вирулентные штаммы, ответственные за развитие осложнений, в том числе за перерождение язвы в рак.

**Ключевые слова:** *Helicobacter pylori*, язвенная болезнь, рак желудка, кантоминация, вирулентные штаммы, хирургические осложнения.

**Influence of the Cantomination of Several Strains of *Helicobacter pylori* on Ulcer Disease Development, Stomach Cancer, and Their Complications**

A.S. Tolstokorov, I.V. Fedotov, N.A. Osina

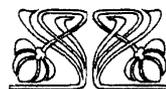
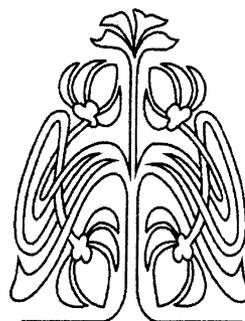
The bioplates of 170 patients with ulcer disease and stomach cancer were analyzed to reveal *Helicobacter pylori* with the help of histological and molecular-genetic techniques. The cantomination levels of *Helicobacter pylori* in various clinical cases were determined. The most virulent strains responsible for complication development, including ulcer-cancer transformations, were revealed.

**Key words:** *Helicobacter pylori*, ulcer disease, stomach cancer, cantomination, virulent strains, surgical complications.

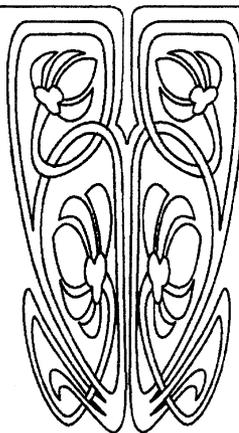
Открытие в 1983 г. J. Warren и В. Marshall микробов, отнесенных в 1989 г. к роду хеликобактер, изучение их роли в эпидемиологии и патогенезе гастродуоденальных заболеваний стали выдающимся достижением современной микробиологии, инфектологии и гастроэнтерологии. Аналитические данные Института им. Луи Пастера в Париже свидетельствуют о том, что более половины населения земного шара инфицированы *Helicobacter pylori*.

Патогенность *Helicobacter pylori* обусловлена наличием нескольких факторов вирулентности, прежде всего необходимых для достижения микробом поверхности клеток слизистой оболочки и проникновения в последнюю. К ним относятся жгутики, обеспечивающие подвижность, изогнутая гель-динамическая форма, экзоферменты: муциназа (приводит к частичной деструкции слизи), глюкофосфатаза, фосфолипаза и протеаза (нарушающие целостность эпителиального слоя), а также токсины – несколько типов цитотоксинов, вызывающих деструкцию эпителиоцитов.

*Helicobacter pylori*, как и другие грамотрицательные бактерии, имеет эндотоксин липополисахарид, обеспечивающий устойчивость к фагоцитозу и стимулирующий местное воспаление, а также участвующий в индукции, активации и стимуляции обра-



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ





зования клеточных продуктов воспаления: фактора активации тромбоцитов, лейкотриенов, прокоагулянтов, интерлейкинов. Выживаемость бактерий в кислых условиях среды обеспечивается активностью фермента уреазы, расщепляющей мочевины до аммиака и углекислого газа, что создает вокруг них защитное облако щелочных продуктов. К числу важных факторов вирулентности относятся также перекрестно-реагирующие антигены – наличие общих эпитопов с гастральной слизистой, что приводит к индукции аутоиммунных реакций [1].

Показано, что источником, или естественным резервуаром, хеликобактериоза является зараженный человек. Это доказал еще в 1985 году В. J. Marshall путем самозаражения культурой *Helicobacter pylori*, полученной от больного хроническим гастритом, с дальнейшим развитием клиники гастрита у экспериментатора. Однако заселение слизистой оболочки желудка *Helicobacter pylori* не всегда вызывает развернутую картину хронического гастрита. Порой течение заболевания бывает латентным или принимает характер бактерионосительства (низковирулентные штаммы) [2].

*H. pylori* связан с широким спектром гастроудоденальных заболеваний – от бессимптомного гастрита до рака желудка. В настоящее время не вызывает возражений тот факт, что *H. pylori* является причиной развития гастрита типа В. *H. pylori* представляет собой именно тот агент, который при колонизации слизистой оболочки желудка за счет факторов вирулентности инициирует, формирует и обеспечивает развитие характерных патологических изменений, определяемых как хеликобактерный (или бактериальный, или гастрит типа В). Влияние хеликобактериоза на развитие язвенной болезни и рака желудка не столь бесспорно, однако вызывает значительную заинтересованность гастроэнтерологов. Так, по различным данным, *Helicobacter pylori* обнаруживают у 70–100% больных язвенной болезнью желудка [3, 4]. Частое инфицирование *H. pylori* у больных язвой желудка подтверждает роль хеликобактериоза в развитии данной патологии. Так, при длительном наблюдении за НР-инфицированными пациентами язва развивается в

группе НР-инфицированных значительно чаще, чем в группе неинфицированных. При эрадикации НР наблюдается значительное снижение частоты рецидивов язвы – с 60–100 до менее чем 15% [5]. В некоторых работах отмечается прямая патогенетическая связь между НР-инфекцией и развитием рака и лимфомы желудка [6, 7]. Прослеживается корреляция между уровнем антител к НР и риском развития рака желудка. При серологических исследованиях антитела IgG к *H. pylori* чаще обнаруживались у больных раком желудка, чем у здоровых. В более молодом возрасте связь рака желудка и НР-инфекции прослеживается более четко, и чем раньше произошло инфицирование НР, тем выше риск развития рака желудка [3, 8]. Положительная корреляция между *H. pylori*-инфекцией и раком желудка касается некардиальной локализации поражения, в отличие от рака кардии, где связь с инфекцией не достоверна [6].

Для диагностики хеликобактериоза предложено множество различных методов, с каждым годом появляются все новые, а существующие совершенствуются. «Золотым стандартом» диагностики хеликобактерной инфекции считают гистологический метод [3]. Его специфичность оценивается как 97%, а чувствительность – 80–90%. Это прямой метод диагностики *H. pylori*, при котором используют окраски акридиновым оранжевым, по Гимзе, Грамму, толуидиновым синим, серебрение по Вартину-Старри и др. Возможность оценить состояние слизистой оболочки желудка, а не только наличие *H. pylori* – огромное преимущество гистологического метода. Поставить диагноз гастрита и классифицировать выявленные изменения по Сиднейской системе, в том числе оценить присутствие бактерий, можно только морфологически.

В последнее время все большее применение в выявлении *H. pylori* находит ПЦР (полимеразная цепная реакция) – диагностика, которая дает возможность идентифицировать видоспецифичный для *H. pylori* фрагмент ДНК. Этот метод является высокоспецифичным, дает возможность типировать и дифференцировать штаммы бактерий, что позволяет осуществить их эпидемиологическое изучение:



установить ответственность того или иного штамма за возникновение различной патологии, выявить наиболее вирулентные штаммы [9, 10].

Первым этапом научного исследования было 1) определение уровня кантоминации *H. pylori* у пациентов с язвенной болезнью и раком желудка, 2) установление частоты осложнений язвенной болезни и заболеваемости раком желудка от наличия хеликобактериоза.

В работе использованы метод статистической обработки архивных данных историй болезней пациентов ОКБ, морфологический и бактериологический методы работы с нативным материалом (биоптаты, взятые у больных с язвенной болезнью и раком желудка при ФГДС и с макропрепаратов, полученных при резекциях желудка указанных групп пациентов).

Морфологическая верификация биоптатов со слизистой желудка осуществлялась у 100 пациентов, находящихся на лечении в хирургических отделениях ОКБ в течение календарного года по поводу рака и осложнений язвенной болезни желудка. При определении степени и частоты обсемененности слизистой оболочки желудка *Helicobacter pylori* использовали стандартную методику с применением красителя Лейкодиф 200 и с оценкой результатов с помощью световой микроскопии.

Морфологическая верификация биоптатов со слизистой оболочки желудка осуществлялась у 59 пациентов с язвенной болезнью желудка и у 41 – с раком. Наличие *H. pylori* в биоптатах выявлялось: при язвенной болезни желудка в 78,5% случаев, при раке желудка – в 51,2% случаев.

При этом уровень кантоминации *H. pylori* был отрицательным либо, чаще, составлял от 10 до 50 микробных групп в поле зрения в биоптатах пациентов с язвенной болезнью. В отличие от этих показателей, при раке желудка обсемененность чаще носила выраженный характер – более 50 микробных групп в исследуемом поле зрения.

Количественное распределение анализируемых случаев по локализации патологического процесса и соответствующей хеликобактерной обсемененности представлено в табл. 1.

Таблица 1

Зависимость кантоминации *Helicobacter pylori* от локализации патологического процесса

Патология	Локализация процесса (обсемененность)				
	Субкардиальный отдел	Тело желудка	Антральный отдел	Антральный отдел + тело	Тотальное поражение
Язва желудка	4(1)	25(18)	30(26)	–	–
Рак желудка	12(2)	10(6)	16(10)	2(2)	1(0)

Примечание. В скобках указано число клинических случаев с хеликобактериозной обсемененностью.

При морфологической верификации выявлено: аденокарцинома – 24 пациента (в 14 случаях выявляли *Helicobacter pylori*); недифференцированный (перстневидно-клеточный) рак – 15(7); скирр – 2 случая без обсемененности.

Зависимость кантоминации *H. pylori* и осложнений язвенной болезни и рака желудка представлена в табл. 2.

Таблица 2

Влияние хеликобактериоза на возникновение различных осложнений язвы и рака желудка

Патология	Неосложненные	Осложнения (обсемененность)				
		Кровотечение	Перфорация	Пенетрация	Стеноз	Канцероматоз
Язва желудка	30(23)	15(12)	6(4)	3(2)	5(4)	–
Рак желудка	19(7)	8(5)	–	3(2)	6(4)	5(3)

Примечание. См. табл. 1.

Таким образом, кантоминация *H. pylori* возрастала доходя до 80% в случаях осложненного течения язвенной болезни и рака желудка.

Вторым этапом исследования стало: 1) выявление *Helicobacter pylori* в группах пациентов с неосложненным и осложненным течением язвенной болезни и рака желудка методом ПЦР-диагностики, 2) определение вирулентности штаммов *H. pylori*, ответственных за развитие той или иной нозологии. Выявление возбудителя осуществлялось по детекции гена, ответственного за выработку фермента уреазы, видоспецифичного к *Helicobacter pylori*. Вирулентность штаммов детерминировалась по наличию генов *ca*gA и



vacA, последний подразделялся на подтипы (*s1* и *s2*) и аллельные комбинации (*m1* и *m2*). По данным литературы, штаммы *s1/m1* имеют самые высокие уровни цитотоксичности и наибольшую плотность колонизации слизистой оболочки желудка, а *s2/m2* штаммы почти не обладают цитотоксической активностью [6].

В исследование было включено 70 пациентов, находящихся на лечении в хирургических отделениях ОКБ по поводу неосложненного и осложненного течения рака и язвенной болезни желудка. Забор материала для ПЦР-диагностики осуществлялся методом биопсии со слизистой оболочки желудка при ФГДС. В исследуемых группах пациентов нозологическая принадлежность распределялась следующим образом: 26 больных язвенной болезнью желудка, из которых возбудитель был выявлен в 17 случаях (65%); вторая группа пациентов подразделялась на 2 подгруппы: 10 больных с кардиоэзофагеальным раком – возбудитель выявлялся в 2 случаях (20%), и рак некардиальной локализации – 34 пациента, *H. pylori* обнаружен в 16 случаях (47%).

Важным этапом исследования явилось определение корреляции между уровнем вирулентности штаммов *Helicobacter pylori*, обнаруженных в биоптатах пациентов, и частотой возникновения осложнений язвенной болезни и рака желудка. Под осложнениями мы понимали развитие кровотечения из патологического очага, перфорацию стенки желудка, пенетрацию в близлежащие органы, стеноз выходного отдела желудка, канцероматоз. В отдельную группу мы выделили малигнизацию язвы желудка (предрак). Эта взаимосвязь представлена в табл. 3.

Таблица 3

Зависимость тяжести поражения желудка от степени вирулентности штаммов *Helicobacter pylori*

Виды патологии	Факторы вирулентности			Наличие <i>H. pylori</i>
	Наличие всех факторов вирулентности	Наличие cagA фактора	Наличие vacA фактора	
Неосложненная язва желудка	3(60)	2(40)	–	5(50)
Осложненная язва желудка	5(83.3)	–	1(16.7)	6(66.6)

Виды патологии	Факторы вирулентности			Наличие <i>H. pylori</i>
	Наличие всех факторов вирулентности	Наличие cagA фактора	Наличие vacA фактора	
Малигнизация язвы	5(83.3)	–	1(16.7)	6(85.7)
Неосложненный рак желудка некардиальной локализации	1(14.3)	–	6(85.7)	7(36.85)
Осложненный рак желудка некардиальной локализации	7(77.7)	–	2(22.3)	9(60)

Примечание. В скобках указана доля (%) от общего числа заболеваемости.

Исходя из приведенных данных видно, что в клинических случаях с осложненным течением заболевания встречаемость возбудителя и уровни вирулентности штаммов выше по сравнению с неосложненным течением.

#### Библиографический список

1. Баранская Е.К. История открытия *Helicobacter pylori* // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 1999. №4. С.61–66.
2. Поташов Л.В., Морозов В.П., Савранский В.М., Арутюнян А.А. Геликобактериоз в хирургической гастроэнтерологии. СПб., 1999. 143 с.
3. Аруин Л.И. Апоптоз в механизме поражений желудка, обусловленных влиянием *Helicobacter pylori* // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 1999. №2. С.26–30.
4. Толстокоров А.С. Современные проблемы оптимизации хирургического лечения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки: Дис. ... д-ра мед. наук. Саратов, 1994. 315 с.
5. Осадчук М.А., Горемыкин В.И., Козлова И.В. Гастроэнтерология. Саратов, 1998. Ч.1. 406 с.
6. Шкутин В.А., Штурина А.И., Старовойтов Г.Н. Роль *Helicobacter pylori* в патологии человека // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2002. №4. С.128–145.
7. Goodwin C.S., Gordon A., Burke V. *Helicobacter pylori* and duodenal ulcer // Med. J. Austral. 1990. Vol.153. P.66–67.
8. Graham D., Klein P., Opekun A. In vivo susceptibility of *Campylobacter pylori* // Amer. J. Gastroent. 1989. Vol.55, №1. P.228–230.
9. Латина Т.Л. Основные принципы диагностики *Helicobacter pylori* // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 1999. №2. С.41–45.
10. Qiang He, Jian-Ping Wang, Michael Osato, Lawrence B. Lachman Real-Time Quantitative PCR for Detection of *Helicobacter pylori* // J. of Clinical Microbiology. 2002. Oct. P.3720–3728.



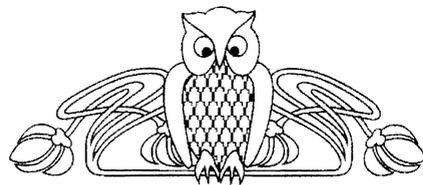
УДК 582.28:57.083

# КВАНТОВОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И QSAR-СВОЙСТВА АРОМАТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ 3-СЕЛЕНПЕНТАН-ДИОНА-1,5: ПРЕДПОСЫЛКИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С УГЛЕВОДСВЯЗЫВАЮЩИМИ БЕЛКАМИ

А.Н. Панкратов, О.М. Цивилева\*, Б.И. Древкин\*\*, В.Е. Никитина\*

Институт химии Саратовского государственного университета  
E-mail: PankratovAN@info.sgu.ru\* Учреждение Российской академии наук Институт биохимии  
и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: tsivileva@ibppm.sgu.ru

\*\* ЗАО «Сульфат», Саратов



Выяснена роль пространственной и электронной структуры, гидрофобных свойств и концентрации селеноорганических соединений при их взаимодействии с грибными метаболитами, углеводсвязывающими белками - внеклеточными лектинами высшего гриба шиитаке. Гибридным методом теории функционала плотности на уровне теории B3LYP/6-31G(d,p) изучена пространственная и электронная структура молекул 1,5-ди(4-R-фенил)-3-селенпентандионов-1,5. Посредством оценки QSAR-свойств по атомно-связево-аддитивным схемам показаны различия в гидрофобности указанных соединений. Полученные теоретические характеристики использованы при интерпретации экспериментальных данных об увеличении активности лектинов шиитаке в присутствии 1,5-ди(4-R-фенил)-3-селенпентандионов-1,5 и наиболее высокой эффективности этокси-производного.

**Ключевые слова:** теория функционала плотности, QSAR-свойства, 1,5-ди(4-R-фенил)-3-селенпентандионы-1,5, лектины, грибок шиитаке.

**Quantum Chemical Study and QSAR Properties of 3-Selenopentanediones-1,5 Aromatic Derivatives: Prerequisites for Interaction with the Carbohydrate-Binding Proteins**

A.N. Pankratov, O.M. Tsivileva, B.I. Drevko, V.E. Nikitina

The role of spatial and electronic structure, hydrophobic properties and concentration of organoselenium compounds on their interaction with fungal metabolites - carbohydrate-binding proteins, extracellular lectins of *Lentinula edodes* (shiitake mushroom) has been considered. By the hybrid density functional theory method at the B3LYP/6-31G(d,p) theory level, spatial and electronic structure of the 1,5-di(4-R-phenyl)-3-selenopentanediones-1,5 molecules has been studied. By means of the QSAR properties evaluation by the atomic-bonding-additive schemes, the distinct hydrophobicity of these compounds has been demonstrated. The theoretical characteristics thus obtained have been used for interpreting the experimental data on the lectin activity enhancement in the presence of 1,5-di(4-R-phenyl)-3-selenopentanediones-1,5, as well as on the greatest efficiency of ethoxy derivative.

**Key words:** density functional theory, QSAR properties, 1,5-di(4-R-phenyl)-3-selenopentanediones, lectins, shiitake mushroom.

Литературные данные свидетельствуют о непосредственном активном участии микроэлемента селена в биохимических и физиологических процессах. В настоящее время

очевидно, что суммарное содержание селена – совершенно недостаточный показатель для всесторонней оценки потенциальных биологических эффектов его в биообъекте, обогащенном селеном [1]. Отмечается отсутствие достаточно обоснованных сведений о механизмах действия селена, особенно селеноорганических соединений. Крайне мало информации о селеносодержащих веществах животных тканей. Требуется более детальная характеристика соединений селена в растениях и грибах, особенно представляющих биотехнологический интерес. Использование наиболее современных экспериментальных приемов, а особенно опирающихся на теоретические и расчетные методы исследования, позволит устранить указанные пробелы.

Повышенный интерес ученых вызывают углеводсвязывающие белки – лектины, найденные в том числе в высших грибах [2]. Привлекательными биохимическими объектами исследований являются обнаруженные нами внеклеточные лектины базидиомицета *Lentinus edodes* (шиитаке).

В связи с вышесказанным нами была поставлена задача изучения активности внеклеточных лектинов этого базидиомицета при различных условиях взаимодействия препаратов лектинов с некоторыми соединениями ряда 1,5-ди(4-R-фенил)-3-селенпентандионов-1,5, а также теоретической трактовки предпосылки взаимодействия названных селеносодержащих соединений с углеводсвязывающими белками с позиций квантовой химии и методологии QSAR.

## Материалы и методы исследования

Штамм F-249 базидиомицета *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler [*Lentinus edodes* (Berk.) Singer], использованный в работе, был получен из коллекции высших базидиальных грибов кафедры микологии и альгологии Московского государственного университета. При глубинном культивировании *L. edodes* использовали синтетические среды с источником углерода D-глюкоза (концентрация 300 ммоль/л по углероду); мольное соотношение углерод : азот в среде составляло 15 : 1.

Гемагглютинирующую (ГА) активность жидких сред определяли реакцией гемагглютинации с самопроизвольным оседанием эритроцитов, используя 2%-ную суспензию трипсинизированных кроличьих эритроцитов в серии последовательных разведений лектина [3]. Титр гемагглютинации (ТГА) выражали как наибольшее разведение раствора, вызывающее агглютинацию эритроцитов.

Внеклеточные лектины (L1 и L2) культуры *L. edodes* F-249 были выделены и очищены методом, разработанным и описанным нами ранее [4].

В ходе экспериментальных и теоретических исследований, описанных в настоящей работе, рассмотрены соединения селена (табл. 1), относящиеся к ряду 1,5-ди(4-R-фенил)-3-селенпентандионов-1,5.

В качестве растворителя селенорганических соединений служила смесь диметилсульфоксид (ДМСО): H<sub>2</sub>O (4 : 1, v/v). Растворы

селенорганических соединений I, III, IV в ДМСО использовали в таких максимальных концентрациях (C1), при которых собственная ГА активность ни ДМСО, ни I, III, IV не проявлялась; это также дополнительно контролировалось реакцией гемагглютинации I, III, IV при выбранных концентрациях C1, C2, C3. Минимальная из трех величина C3 равна концентрации соединения I при изучении лектиновой активности культуры, выращенной в присутствии I, в нашем более раннем исследовании [5], а C2 занимает промежуточное положение.

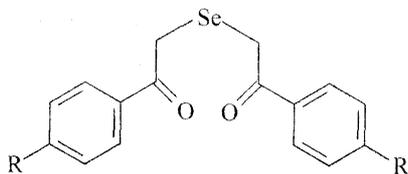
## Результаты и их обсуждение

Ранее нами исследована зависимость лектиновой активности и ростовых характеристик базидиального гриба *Lentinula edodes* от присутствия в жидких и агаризованных средах селенсодержащего компонента ДАФС-25 (1,5-дифенил-3-селенпентандион-1,5 – соединение I). Выяснилось, что стимуляция процесса накопления биомассы происходит при глубинном культивировании в присутствии селеновых добавок; относительно быстрорастущий мицелий более подвержен позитивному влиянию препарата. Выявлено положительное воздействие ДАФС-25 на ростовые показатели *L. edodes* на агаризованных средах, при этом максимальный эффект достигается в случае использования среды с наиболее низкой скоростью роста мицелия. Под воздействием ДАФС-25 лектиновая активность как культуральной жидкости, так и экстрактов из мицелия *L. edodes* в наибольшей степени возрастает в случае синтетической среды, характеризующейся высокой активностью внеклеточных лектинов изучаемой культуры и сравнительно низкой лектиновой активностью экстрактов из мицелия в отсутствие ДАФС-25 [5].

Получение данных по влиянию соединения I на лектиновую активность глубинной культуры *L. edodes* позволило нам перейти к следующему шагу работы, уже с препаратами внеклеточных лектинов. Логично было предположить, что если I проявляет значительный эффект в отношении титра гемагглютинации культуральной жидкости, то окажутся интересными результаты опре-

Таблица 1

Селенсодержащие соединения, рассмотренные в настоящей работе



Соединение	Название	R
I	1,5-Дифенил-3-селенпентандион-1,5	H
II	1,5-Ди(4-метоксифенил)-3-селенпентандион-1,5	OCH <sub>3</sub>
III	1,5-Ди(4-этоксифенил)-3-селенпентандион-1,5	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
IV	1,5-Ди(4-н-октилксифенил)-3-селенпентандион-1,5	n-OC <sub>8</sub> H <sub>17</sub>



деления указанной биологической активности в реакционных смесях с выделенными и очищенными белками-лектинами. Как и ожидалось, биологическая активность продуктов взаимодействия лектина с селенорганическим соединением оказалась различной в зависимости от стадии очистки белка; структура селенсодержащего компонента реакционных смесей, как и его концентрация, значительно влияет на гемагглютинирующую активность препарата белка.

Нами установлено, что стадия очистки препарата лектина оказывает наибольшее (если сравнивать с такими характеристиками, как концентрация **I**, **III**, **IV**) влияние на дифференциальный характер взаимодействия внеклеточных лектинов шиитаке с селенорганическими соединениями. Так, в случае вещества **I** при одной и той же концентрации *C1* селенсодержащего соединения титр ГА меняется от 64 до 1024, возрастая по мере степени чистоты препарата лектина *L2*, и почти так же резко снижается (от 1024 до 128 при *C3*) по мере очистки *L1*. Препарат ДАФС-25, таким образом, в гораздо большей степени повышает лектиновую активность очищенного *L2*, чем *L1*, однако для этого требуются относительно высокие концентрации селенового соединения (50 мг/л Se).

Заметно выражено «сродство» неочищенного *L1* к соединению **III**, причем и при самой высокой, и при самой низкой концентрации указанного соединения титр гемагглютинации очень высок (512 и 2048 соответственно). Однако по мере очистки лектина *L1* титр ГА в присутствии тех же концентраций этоксипроизводного (вещество **III**) становится равным 64. Наоборот, очищенный препарат лектина *L2* значительно повышает свою гемагглютинирующую активность при взаимодействии с **III** (до величины ТГА, равной 512 – заметим, до того же значения, что и неочищенный *L1*). И снова для этого требуются высокие концентрации (*C1*) селенового производного **III**. Самая низкая концентрация и ДАФС-25 (как только что говорилось), и вещества **III** несколько не эффективны в отношении стимулирования лектиновой активности очищенного *L2*: титры ГА 16 и 8 соответственно по сравнению с вели-

чиной 32 в отсутствие селенорганических соединений. Не оказывает ингибирующего действия только вещество **IV**: титр ГА – минимум 32, достигает 512 для обоих лектинов после первой стадии очистки. В то же время для **IV** менее всего из селенорганических соединений выражена зависимость его влияния на лектиновую активность от стадии очистки препарата. Это вещество достаточно индифферентно в отношении наличия примесей в препаратах лектинов на всех стадиях их очистки, зато наблюдается оптимальная в обсуждаемом аспекте концентрация **IV**, когда титр ГА равен 512 независимо от степени чистоты лектинов. Подобная неспецифичность взаимодействия *n*-октилоксипроизводного (вещество **IV**) с лектинами при наличии явно выраженной концентрационной зависимости реактанта привела нас к мысли о каком-то едином химизме этих процессов, возможно, гидрофобном взаимодействии с октильным радикалом.

Зависимость лектиновой активности обоих исследуемых белков на всех трех стадиях их очистки от концентрации селенорганических соединений проходит через максимум лишь в единственном случае – при использовании соединения **IV**. Признать возможность мицеллообразования в реакционной среде в данном случае вряд ли правомерно, поскольку после достижения критической концентрации мицеллообразования (ККМ) эффективность взаимодействия, отражаемая параметром ТГА в нашем эксперименте, должна оставаться на постоянном уровне при увеличении концентрации **IV**. Мы этого не наблюдаем, но тем не менее считаем очень вероятным, что вещество **IV**, содержащее *n*-октильный заместитель, более способно к мицеллообразованию по сравнению с **I** или **III**. Необходимы специальные исследования с определением ККМ. Наиболее очевиден тот факт, что явная гидрофобность соединения **IV** по сравнению с остальными изученными селеновыми веществами вносит существенный вклад во взаимодействие с лектинами *L. edodes*.

Как показывает эксперимент, соединение **III** в большей степени повышает лектиновую активность по сравнению с **I**, а при



переходе от III к IV активность лектинов снижается почти до уровня незамещенного ДАФС-25.

Для трактовки вышеописанных тенденций наблюдаемого химического поведения соединений I–IV в процессах их взаимодействия с лектинами *L. edodes* нами привлечены теоретические методы исследования.

Методом теории функционала плотности (DFT) [6] с использованием гибридного функционала B3LYP, сочетающего трехпараметровый обменный функционал Бекке [7, 8] и корреляционный функционал LYP [9], и базисного набора 6-31G(*d,p*) [10] нами рассчитана пространственная и электронная структура молекул 1,5-дифенил-3-селенпентандиона-1,5 (препарата ДАФС-25) (I), 1,5-ди(4-метоксифенил)-3-селенпентандиона-1,5 (II) и 1,5-ди(4-этоксифенил)-3-селенпентандиона-1,5 (III). Некоторые результаты расчетов приведены в табл. 2.

Таблица 2

Некоторые пространственные параметры и заряды на атомах молекул I–III по данным расчетов на уровне теории B3LYP/6-31G(*d,p*)

Параметр структуры	I	II	III
Длина связи C-Se, Å	1.984 и 1.990	1.983 и 1.989	1.989 и 1.990
Валентный угол C-Se-C, град	99.692	99.600	96.616
Расстояние между атомами углерода двух карбонильных групп, Å	5.142	5.135	5.628
Расстояние между атомами кислорода двух карбонильных групп, Å	7.050	7.027	6.904
Заряд на атоме Se*	0.048	0.043	0.029
Заряды на атомах углерода группы CH <sub>2</sub> *	-0.352 и -0.355	-0.351 и -0.355	-0.344 и -0.357
Заряды на атомах углерода карбонильных групп*	0.384 и 0.403	0.380 и 0.402	0.377 и 0.397
Заряды на атомах кислорода карбонильных групп*	-0.449 и -0.455	-0.451 и -0.457	-0.452 и -0.457

\* Заряды по Малликену.

Оказалось, что молекулы I–III очень близки по электронному и пространственному строению. Следовательно, различие во

влиянии селенсодержащих веществ на гем-агглютинирующую способность определяется не остовом молекул (включающим атом селена и фрагмент CH<sub>2</sub>COAr), а заместителем в положении 4 ароматического кольца. Поэтому возрастание ТГА при переходе от I к III может быть связано с тем, что неподделенная электронная пара атома кислорода этоксигруппы участвует в образовании водородной связи с подвижным атомом водорода OH-группы гликоконъюгата, присутствующего на поверхности эритроцита в реакции ГА.

При этом положительный заряд на атоме селена свидетельствует о том, что в процессах, в которых селен проявляет себя как антиоксидант, он является электрофильным центром и может взаимодействовать с электроноизбыточными частицами, например молекулами кислорода O<sub>2</sub>, пероксида водорода H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, супероксидным анион-радикалом O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, тиолами RSH и др. [11, 12]. Примечательная особенность селена состоит в его способности окислять тиолы в восстановительных условиях [11, 13–15].

На окислении тиолов следует остановиться особо. Можно выделить ряд общих свойств лектинов [3, 16–18]. К ним относятся сравнительно высокая гидрофобность молекул; участие гидрофобных аминокислот в связывании углеводов; совместная или близкая локализация в молекулах углеводсвязывающих участков, гидрофобных участков и катионсвязывающих участков; стабилизация углеводсвязывающих участков дисульфидными мостиками -S-S- и двухзарядными катионами металлов. То есть дополнительное образование дисульфидных мостиков в молекулах исследуемых лектинов вполне может способствовать посредством стабилизации углеводсвязывающих участков этих белков усилению способности последних к взаимодействию с углеводными структурами эритроцитов, иными словами, увеличению титров ГА.

Кроме того, что касается эффекта положительного заряда на атоме селена в отношении изучаемой биологической активности, мы предполагаем, что некоторые органические соединения, подобно исследуемым (I–III), включены в распознавание углеводных структур (гликоконъюгатов) либо опо-



средованно, путем модифицирования углеводсвязывающих участков, либо посредством прямого связывания углевода с органическим соединением.

Для выявления других возможных факторов, влияющих на химическое поведение селенорганических соединений при взаимодействии с лектинами, нами рассчитаны QSAR-свойства [19–27] молекул **I–III**, а также 1,5-ди(4-*n*-октилоксифенил)-3-селенпентандиона-1,5 (**IV**) (табл. 3).

Таблица 3

Некоторые QSAR-свойства молекул **I–IV**

Соединение	Ван-дер-ваальсова поверхность, Å <sup>2</sup>		Объем, Å <sup>3</sup>	lgP***	Рефракция***, Å <sup>3</sup>	Поляризуемость, Å <sup>3</sup>
	*	**				
<b>I</b>	389.90	481.28	789.53	1.97	71.20	29.86
<b>II</b>	512.52	560.59	940.80	1.47	84.12	34.80
<b>III</b>	583.02	631.70	1055.54	2.15	93.62	38.47
<b>IV</b>	1015.59	1000.50	1694.71	7.05	148.68	60.49

\* Приближенный подход [19, 20].

\*\* Grid-метод [21, 22].

\*\*\* Атомно-связево-аддитивная схема не включает параметра для атома селена.

При переходе от ДАФС-25 (**I**) к его метокси- (**II**), этокси- (**III**) и *n*-октилокси- (**IV**) производным закономерно возрастают ван-дер-ваальсова поверхность [19–22] и объем [21] молекул, а также рефракция [24, 25] и поляризуемость [26].

Индекс гидрофобности (липофильности) lgP [23–25, 27] (*P* – коэффициент распределения в системе 1-октанол – вода, служащий общепринятой мерой гидрофобности) при переходе от **I** к **II** несколько снижается, что связано с вхождением в молекулу двух гидрофильных атомов кислорода в составе группы ОСН<sub>3</sub>. Компенсирующий вклад в lgP имеет место при переходе от **II** к **III** вследствие введения в молекулу двух достаточно гидрофобных метиленовых звеньев СН<sub>2</sub>.

Как показывают значения lgP, вещества **I–III** занимают среднее положение в ряду гидрофобности ввиду наличия в молекулах как неполярных гидрофобных ароматических и алкильных фрагментов, так и сильнополярных карбонильных групп и эфирных атомов кислорода. К сожалению, атом селена в соответствующей атомно-связево-аддитивной

схеме [23–25, 27] не учтен. Для сравнения отметим, что в случае явно гидрофобных гексана и 1-октанола величины lgP составляют 2.88 и 2.53 соответственно, для гидрофильного метанола lgP = –0.27, а для воды lgP = –0.51.

Напротив, соединение **IV** является явно гидрофобным, что обусловлено присутствием длинноцепочечных углеводородных заместителей *n*-С<sub>8</sub>H<sub>17</sub>.

Возможно, различие в реакционной способности селенсодержащих молекул в некоторой степени связано с их дифференциальной гидрофобностью.

Из общих свойств лектинов разного происхождения следует, что углеводы взаимодействуют с лектинами посредством водородных связей, координирования металлов, ван-дер-ваальсова, гидрофобного взаимодействия [18]. Несмотря на преобладающий гидрофильный характер углеводов, гидрофобное взаимодействие играет важную роль в их распознавании лектинами. Особенно примечательно взаимодействие между ароматическими фрагментами аминокислот и галактозой в углеводсвязывающих участках галактозоспецифических лектинов, что приписывается взаимодействию между частично заряженными алифатическими протонами на поверхности кольца гексозы и частичным отрицательным зарядом π-электронов ароматической системы [18].

Участки гидрофобного связывания вообще очень характерны для лектинов. К ним относят и липидсвязывающие фрагменты, хорошо изученные в случае бактериальных лектинов (адгезинов и токсинов) [16]. Повидимому, липидсвязывающие участки присутствуют и в лектинах растений и животных, специфичность к липидам и гликолипидам которых была исследована. На примере некоторых бактериальных и вирусных лектинов показано, что липидсвязывающие участки характеризуются выраженными гидрофобными свойствами. Кроме того, можно предположить и особую роль ароматического кольца в структуре исследованных нами селенорганических соединений; наличие этого кольца могло бы оказать дополнительный положительный эффект в отношении углеводов



связывающих свойств лектинов *L. edodes*. Так, на примере лектинов бобовых показано, что гидрофобные пептиды в составе гидрофобной полости на поверхности лектиновых молекул участвуют во взаимодействии с фенильными и метильными производными сахаридов, поскольку такие пептиды располагаются в непосредственной близости от углеводсвязывающих участков [3, 17].

Если, согласно [3, 17], принять ключевую роль ароматических фрагментов молекул I–IV в связывании с лектинами, то ясно, что остальная часть молекулы по-разному, из очевидных пространственных соображений, влияет на «арил-лектиновое» взаимодействие с результирующим разным ТГА реакционной смеси. Вероятно, значительное увеличение длины углеводородной цепи в *n*-октилпроизводном (IV) может отчасти экранировать участвующий во взаимодействии с гликоконъюгатами эритроцитов арильный участок молекулы IV. Этому способствует гидрофобное взаимодействие, стремящееся уменьшить поверхность контакта между гидрофобной частью молекулы (ароматическим фрагментом и углеводородной цепью) и водой. При этом алкильная цепь может частично «обволакивать» атомы ароматического кольца, стерически экранируя его и препятствуя тем самым взаимодействию с лектином.

Таким образом, изменение активности внеклеточных лектинов *L. edodes* при различных условиях взаимодействия их препаратов с соединениями – представителями ряда 1,5-ди(4-*R*-фенил)-3-селенпентандионов-1,5 – в зависимости от структуры селенсодержащего компонента реакционных смесей, его концентрации, от стадии очистки белков позволяет выявить влияние электрофильных свойств реагента и гидрофобного взаимодействия в химических процессах с участием лектинов.

#### Библиографический список

1. Whanger P.D. Selenocompounds in Plants and Animals and Their Biological Significance // J. Amer. Coll. Nutr. 2002. Vol.21, №3. P.223–232.
2. Mikiashvili N., Elisashvili V., Wasser S.P., Nevo E. Comparative Study of Lectin Activity of Higher Basidiomycetes // Int. J. Med. Mushrooms. 2006. Vol.8, Iss.1. P.31–38.
3. Луцук М.Д., Панасюк Е.Н., Луцук А.Д. Лектины. Львов, 1981. 156 с.

4. Цивилева О.М., Никитина В.Е., Лоцинина Е.А. Выделение и характеристика внеклеточных лектинов *Lentinus edodes* (Berk.) Sing // Биохимия. 2008. Т.73, №10. С.1438–1446.
5. Цивилева О.М., Никитина В.Е., Панкратов А.Н., Древоко Б.И., Лоцинина Е.А., Гарибова Л.В. Влияние селенсодержащего препарата ДАФС-25 на рост и лектиновую активность *Lentinus edodes* // Биотехнология. 2005. №2. С.56–62.
6. Кон В. Электронная структура вещества – волновые функции и функционалы плотности // УФН. 2002. Т.172, №3. С.336–348.
7. Becke A.D. Density-Functional Exchange-Energy Approximation with Correct Asymptotic Behavior // Physical Review A. 1988. Vol.38, №6. P.3098–3100.
8. Becke A.D. Density-Functional Thermochemistry. III. The Role of Exact Exchange // J. Chem. Phys. 1993. Vol.98, №7. P.5648–5652.
9. Lee C., Yang W., Parr R.G. Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density // Physical Review B. 1988. Vol.37, №2. P.785–789.
10. Ditchfield R., Hehre W.J., Pople J.A. A Self-Consistent Molecular-Orbital Methods. IX. An Extended Gaussian-Type Basis for Molecular-Orbital Studies of Organic Molecules // J. Chem. Phys. 1971. Vol.54, №2. P.724–728.
11. Blessing H., Kraus S., Heindl P., Bal W., Hartwig A. Interaction of selenium compounds with zinc finger proteins involved in DNA repair // Eur. J. Biochem. 2004. Vol.271, №15. P.3190–3199.
12. Jacob C., Maret W., Vallee B.L. Selenium redox biochemistry of zinc-sulfur coordination sites in proteins and enzymes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. Vol.96, №5. P.1910–1914.
13. Turan B., Fliiss H., Desilets M. Oxidants increase the intracellular free Zn<sup>2+</sup> concentration in rabbit ventricular myocytes // Amer. J. Physiol. 1997. Vol.272, №5 (Pt.2). P.2095–2106.
14. Ganther H.E. Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase // Carcinogenesis. 1999. Vol.20, №9. P.1657–1666.
15. Jacob C., Giles G.I., Giles N.M., Sies H. Sulfur and selenium: the role of oxidation state in protein structure and function // Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 2003. Vol.42, №39. P.4742–4758.
16. Лахтин В.М. Биотехнология лектинов // Биотехнология. 1989. Т.5, №6. С.676–691.
17. Лахтин В.М. Молекулярная организация лектинов // Молекулярная биология. 1994. Т.28, вып.2. С.245–273.
18. Elgavish S., Shaanan B. Lectin-Carbohydrate Interactions: Different Folds, Common Recognition Principles // Trends Biochem. Sci. 1997. Vol.22, №12. P.462–467.
19. Hasel W., Hendrickson T.F., Still W.C. A Rapid Approximation to the Solvent-Accessible Surface Areas of Atoms // Tetrahedron Computer Methodology. 1988. Vol.1, №2. P.103–116.
20. Still W.C., Tempezyk A., Hawley R.C., Hendrickson Th. Semianalytical Treatment of Solvation for Molecular Mechanics and Dynamics // J. Amer. Chem. Soc. 1990. Vol.112, №16. P.6127–6129.



21. Bodor N., Gabanyi Z., Wong Chu-Kuok. A New Method for the Estimation of Partition Coefficient // J. Amer. Chem. Soc. 1989. Vol.111, №11. P.3783–3786.
22. Gavezotti A. The Calculation of Molecular Volumes and the Use of Volume Analysis in the Investigation of Structured Media and of Solid-State Organic Reactivity // J. Amer. Chem. Soc. 1983. Vol.105, №16. P.5220–5225.
23. Ghose A.K., Crippen G.M. Atomic Physicochemical Parameters for Three-Dimensional Structure-Directed Quantitative Structure – Activity Relationships. I. Partition Coefficients As a Measure of Hydrophobicity // J. Comput. Chem. 1986. Vol.7, №4. P.565–577.
24. Ghose A.K., Crippen G.M. Atomic Physicochemical Parameters for Three-Dimensional-Structure-Directed Quantitative Structure – Activity Relationships. 2. Modelling Disperse and Hydrophobic Interactions // J. Chem. Inf. and Comput. Sci. 1987. Vol.27, №1. P.21–35.

25. Viswanadhan V.N., Ghose A.K., Revankar G.N., Robins R.K. Atomic Physicochemical Parameters for Three Dimensional Structure Directed Quantitative Structure – Activity Relationships. 4. Additional Parameters for Hydrophobic and Dispersive Interactions and Their Application for an Automated Superposition of Certain Naturally Occurring Nucleoside Antibiotics // J. Chem. Inf. and Comput. Sci. 1989. Vol.29, №3. P.163–172.

26. Miller K.J. Additivity Methods in Molecular Polarisability // J. Amer. Chem. Soc. 1990. Vol.112, №23. P.8533–8542.

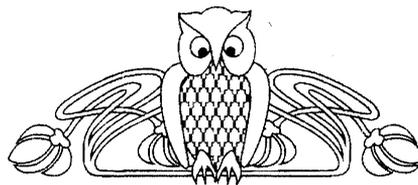
27. Ghose A.K., Pritchett A., Crippen G.M. Atomic Physicochemical Parameters for Three Dimensional Structure Directed Quantitative Structure – Activity Relationships III. Modelling Hydrophobic Interactions // J. Comput. Chem. 1988. Vol.99, №1. P.80–90.

УДК 546.65-38

## ТЕРМОДИНАМИКА ПРОЦЕССА КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ В СИСТЕМЕ РЗЭ – О-ФТАЛЕВАЯ КИСЛОТА

Г.Н. Макушова, Е.Е. Воронщикова

Институт химии Саратовского государственного университета  
E-mail: zacharova\_tv@mail.ru



Потенциометрическим методом исследовано комплексообразование редкоземельных элементов (РЗЭ) La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm и Yb с о-фталевой кислотой при  $\mu = 0.2(\text{KCl})$  в интервале температур 298–328 К. В области pH = 3.8–5 обнаружено существование комплексной частицы состава  $\text{LnL}^+$ , где Ln – РЗЭ, L –  $\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_4^{2-}$ . По зависимости констант устойчивости комплексных частиц от температуры рассчитаны термодинамические функции образования комплексов  $\Delta G$ ,  $\Delta H$  и  $\Delta S$ . Положительные величины  $\Delta H$  и  $\Delta S$  позволили предположить значительные разрушения гидратных оболочек и образование внутрисферных комплексов. Высокие положительные значения  $\Delta S$  свидетельствуют о том, что фталевая кислота является бидентатным лигандом.

**Ключевые слова:** комплексная частица, редкоземельные элементы, раствор, термодинамические функции.

### Thermodynamics of Complex Formation in the System of Rare-Earth Elements – Phthalic Acid

G.N. Makushova, E.E. Voronschikova

Using the method of rating potentials we researched the problem of interaction between rare-earth elements – La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb and o-phthalic acid and forming complexes in condition that  $\mu = 0.2(\text{KCl})$  and a range of temperatures 298–328 K. As a result of our experiments, we ascertained the existence of a complex particle –  $\text{LnL}^+$  where Ln – rare-earth elements, L –  $\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_4^{2-}$ . According to the dependence of constants of stability of complex particles from the temperatures thermodynamic functions of forming complexes ( $\Delta G$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta S$ ) were calculated. We think, that positive quantities  $\Delta H$  and  $\Delta S$  suppose significant destructions of hydrated envelopes and formation of first sphere complexes. High values  $\Delta S$  indicate phthalic acid to be a ligand.

**Key words:** complex particle, rare-earth elements, solution, thermodynamic functions.

В работе [1] исследовано комплексообразование РЗЭ с о-фталевой кислотой при температуре 298 К. Обнаружено существование комплексных частиц состава  $\text{MHA}^{2-}$  и  $\text{MA}^+$ , где M – РЗЭ, A –  $\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_4^{2-}$ . Определены области pH существования комплексов и константы их устойчивости. Данная работа является продолжением этих исследований. В ней исследовано комплексообразование РЗЭ с о-фталевой кислотой в политермическом режиме 298–328 К в водных растворах. По зависимости констант устойчивости комплексных частиц от температуры рассчитаны термодинамические функции образования комплексов.

Для исследования процесса комплексообразования было проведено pH-метрическое титрование систем хлоридов РЗЭ с о-фталевой кислотой при соотношении металл – лиганд 1:1 раствором щелочи (KOH) и ионной силе раствора  $\mu = 0.2$  (KCl). Исходные концентрации компонентов равны  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л.

В литературе имеются значения констант диссоциации о-фталевой кислоты только при температуре 298 К, кроме того не указаны условия определения [2]. Поэтому нами были определены константы диссоциации



21. Bodor N., Gabanyi Z., Wong Chu-Kuok. A New Method for the Estimation of Partition Coefficient // J. Amer. Chem. Soc. 1989. Vol.111, №11. P.3783–3786.
22. Gavezotti A. The Calculation of Molecular Volumes and the Use of Volume Analysis in the Investigation of Structured Media and of Solid-State Organic Reactivity // J. Amer. Chem. Soc. 1983. Vol.105, №16. P.5220–5225.
23. Ghose A.K., Crippen G.M. Atomic Physicochemical Parameters for Three-Dimensional Structure-Directed Quantitative Structure – Activity Relationships. I. Partition Coefficients As a Measure of Hydrophobicity // J. Comput. Chem. 1986. Vol.7, №4. P.565–577.
24. Ghose A.K., Crippen G.M. Atomic Physicochemical Parameters for Three-Dimensional-Structure-Directed Quantitative Structure – Activity Relationships. 2. Modelling Disperse and Hydrophobic Interactions // J. Chem. Inf. and Comput. Sci. 1987. Vol.27, №1. P.21–35.

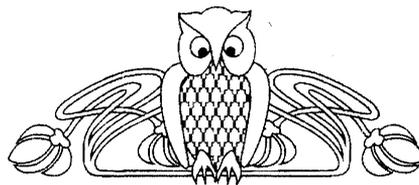
25. Viswanadhan V.N., Ghose A.K., Revankar G.N., Robins R.K. Atomic Physicochemical Parameters for Three Dimensional Structure Directed Quantitative Structure – Activity Relationships. 4. Additional Parameters for Hydrophobic and Dispersive Interactions and Their Application for an Automated Superposition of Certain Naturally Occurring Nucleoside Antibiotics // J. Chem. Inf. and Comput. Sci. 1989. Vol.29, №3. P.163–172.
26. Miller K.J. Additivity Methods in Molecular Polarisability // J. Amer. Chem. Soc. 1990. Vol.112, №23. P.8533–8542.
27. Ghose A.K., Pritchett A., Crippen G.M. Atomic Physicochemical Parameters for Three Dimensional Structure Directed Quantitative Structure – Activity Relationships III. Modelling Hydrophobic Interactions // J. Comput. Chem. 1988. Vol.99, №1. P.80–90.

УДК 546.65-38

## ТЕРМОДИНАМИКА ПРОЦЕССА КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ В СИСТЕМЕ РЗЭ – О-ФТАЛЕВАЯ КИСЛОТА

Г.Н. Макушова, Е.Е. Воронщикова

Институт химии Саратовского государственного университета  
E-mail: zacharova\_tv@mail.ru



Потенциометрическим методом исследовано комплексообразование редкоземельных элементов (РЗЭ) La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm и Yb с о-фталевой кислотой при  $\mu = 0.2(\text{KCl})$  в интервале температур 298–328 К. В области pH = 3.8–5 обнаружено существование комплексной частицы состава  $\text{LnL}^+$ , где Ln – РЗЭ, L –  $\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_4^{2-}$ . По зависимости констант устойчивости комплексных частиц от температуры рассчитаны термодинамические функции образования комплексов  $\Delta G$ ,  $\Delta H$  и  $\Delta S$ . Положительные величины  $\Delta H$  и  $\Delta S$  позволили предположить значительные разрушения гидратных оболочек и образование внутрисферных комплексов. Высокие положительные значения  $\Delta S$  свидетельствуют о том, что фталевая кислота является бидентатным лигандом.

**Ключевые слова:** комплексная частица, редкоземельные элементы, раствор, термодинамические функции.

### Thermodynamics of Complex Formation in the System of Rare-Earth Elements – Phthalic Acid

G.N. Makushova, E.E. Voronschikova

Using the method of rating potentials we researched the problem of interaction between rare-earth elements – La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb and o-phthalic acid and forming complexes in condition that  $\mu = 0.2(\text{KCl})$  and a range of temperatures 298–328 K. As a result of our experiments, we ascertained the existence of a complex particle –  $\text{LnL}^+$  where Ln – rare-earth elements, L –  $\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_4^{2-}$ . According to the dependence of constants of stability of complex particles from the temperatures thermodynamic functions of forming complexes ( $\Delta G$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta S$ ) were calculated. We think, that positive quantities  $\Delta H$  and  $\Delta S$  suppose significant destructions of hydrated envelopes and formation of first sphere complexes. High values  $\Delta S$  indicate phthalic acid to be a ligand.

**Key words:** complex particle, rare-earth elements, solution, thermodynamic functions.

В работе [1] исследовано комплексообразование РЗЭ с о-фталевой кислотой при температуре 298 К. Обнаружено существование комплексных частиц состава  $\text{MHA}^{2-}$  и  $\text{MA}^+$ , где M – РЗЭ, A –  $\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_4^{2-}$ . Определены области pH существования комплексов и константы их устойчивости. Данная работа является продолжением этих исследований. В ней исследовано комплексообразование РЗЭ с о-фталевой кислотой в политермическом режиме 298–328 К в водных растворах. По зависимости констант устойчивости комплексных частиц от температуры рассчитаны термодинамические функции образования комплексов.

Для исследования процесса комплексообразования было проведено pH-метрическое титрование систем хлоридов РЗЭ с о-фталевой кислотой при соотношении металл – лиганд 1:1 раствором щелочи (KOH) и ионной силе раствора  $\mu = 0.2$  (KCl). Исходные концентрации компонентов равны  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л.

В литературе имеются значения констант диссоциации о-фталевой кислоты только при температуре 298 К, кроме того не указаны условия определения [2]. Поэтому нами были определены константы диссоциации



о-фталевой кислоты при температурах 298, 308, 318, 328 К и ионной силе  $\mu = 0.2$  (KCl). Расчет последовательных констант диссоциации о-фталевой кислоты производился по методу Нойеса [2]. Для этого метода была составлена программа для персонального компьютера. Обработка результатов проводилась по методу средней квадратичной ошибки при коэффициенте надежности 0.95.

В табл. 1 представлены константы диссоциации о-фталевой кислоты при различных температурах.

Таблица 1

Константы диссоциации о-фталевой кислоты при различных температурах

T, K	$K_1 \cdot 10^3$	$K_2 \cdot 10^6$
298	1.23±0.06	4.07±0.08
308	1.07±0.07	3.72±0.09
318	0.93±0.04	3.16±0.06
328	0.81±0.05	3.02±0.07

Исходя из полученных экспериментальных данных процесса комплексообразования РЗЭ с о-фталевой кислотой, ранее было установлено [1], что в области pH = 3.8–5 образуется комплексная частица  $MA^+$ , константу устойчивости которой можно выразить уравнением

$$K_{уст} = \frac{[MA^+]}{[M^{3+}][A^{2-}]}$$

Для расчета  $K_{уст}$  использовался алгебраический метод Чаберека и Маргелла [3].

Рассчитанные значения  $\lg K_{уст}$  при  $T = 298, 308, 318, 328$  К представлены в табл. 2.

Таблица 2

$\lg K_{уст}$  комплексов состава  $MA^+$  при различных температурах ( $C_M = C_A = 5 \cdot 10^{-3}$  моль/л,  $\mu = 0.2$  (KCl))

T, K РЗЭ	298	308	318	328
La	3.35±0.05	3.61±0.07	3.78±0.05	3.87±0.05
Ce	3.62±0.04	3.71±0.05	3.90±0.03	3.91±0.05
Pr	3.47±0.05	3.65±0.03	3.88±0.05	3.92±0.03
Nd	3.72±0.03	3.81±0.02	4.05±0.03	4.03±0.04
Sm	3.68±0.08	3.86±0.07	3.87±0.05	3.88±0.04
Eu	3.69±0.05	3.87±0.02	4.00±0.03	4.08±0.06
Gd	3.53±0.06	3.75±0.02	3.88±0.04	3.98±0.05
Tb	3.87±0.03	3.94±0.04	3.99±0.04	4.11±0.06
Dy	3.77±0.05	3.90±0.04	4.05±0.03	4.26±0.03
Ho	3.88±0.04	3.91±0.05	4.25±0.03	4.31±0.07
Er	3.81±0.02	3.88±0.03	3.99±0.02	4.06±0.03
Tm	3.85±0.09	3.96±0.04	4.06±0.06	4.20±0.03
Yb	3.76±0.05	3.79±0.07	3.95±0.07	4.02±0.04

Как видно из табл. 2, для каждого из элементов с повышением температуры наблюдается некоторое увеличение  $\lg K_{уст}$ .

По температурной зависимости  $K_{уст}$  рассчитаны термодинамические функции образования комплексов состава  $MA^+$ .

Расчет  $\Delta H$ ,  $\Delta S$  проводился при условии, что в данном температурном интервале они не изменяются.

В табл. 3 приведены рассчитанные значения свободной энергии Гиббса процесса комплексообразования.

Таблица 3

$-\Delta G$  (кДж/моль) образования комплексов состава  $MA^+$  в системе  $MCl_3$ -о-фталевая кислота при  $T = 298, 308, 318, 328$  К

T, K РЗЭ	298	308	318	328
La	18.58±0.05	21.29±0.04	23.02±0.08	24.30±0.05
Ce	21.50±0.03	21.88±0.09	23.75±0.06	24.56±0.06
Pr	19.40±0.07	21.52±0.07	23.63±0.03	24.62±0.03
Nd	20.96±0.04	22.47±0.03	24.66±0.02	25.31±0.04
Sm	20.90±0.06	22.76±0.04	23.56±0.03	24.37±0.08
Eu	21.93±0.06	22.82±0.05	24.36±0.04	25.62±0.07
Gd	18.95±0.05	22.11±0.06	23.63±0.06	25.00±0.08
Tb	21.78±0.06	23.23±0.04	24.30±0.08	25.81±0.07
Dy	21.01±0.04	23.00±0.10	24.66±0.05	26.75±0.05
Ho	20.65±0.09	23.06±0.07	25.88±0.03	27.07±0.06
Er	21.81±0.07	22.88±0.08	24.30±0.04	25.50±0.08
Tm	18.97±0.03	23.35±0.05	24.72±0.09	26.38±0.04
Yb	20.90±0.05	22.35±0.04	24.05±0.08	25.25±0.09

Как видно из табл. 3,  $\Delta G$  процесса комплексообразования имеет отрицательные величины, что свидетельствует о самопроизвольном протекании процесса.

В табл. 4 приведены термодинамические функции образования комплексов состава  $MA^+$  в системе  $MCl_3$ -о-фталевая кислота.

Таблица 4

Термодинамические функции образования комплексов состава  $MA^+$  в системе  $MCl_3$ -о-фталевая кислота

РЗЭ	$\Delta S$ , Дж/мольК	$\Delta H$ , кДж/моль
La	161	29.4
Ce	140	20.2
Pr	136	21.0
Nd	155	25.1
Sm	102	9.6
Eu	149	22.3
Gd	154	26.9
Tb	116	12.5
Dy	163	27.6
Ho	223	45.8
Er	123	14.8
Tm	140	22.8
Yb	120	14.9



Как видно из табл. 4, положительные значения энтальпии и энтропии позволяют предположить внутрисферный характер комплексообразования. В пользу этого говорит и величина  $pK_2 = 5.39$  фталевой кислоты. Согласно [4], чем слабее кислота, тем больше вероятность образования внутрисферных комплексов. Авторам работы [5] спектроскопическое исследование фталата Eu также позволило сделать вывод о том, что в образующихся комплексах две молекулы воды аквакомплексообразователя замещаются на фталат-ион, т.е. комплексы внутрисферные, а сам фталат-ион является бидентатным лигандом. В нашем случае о бидентатном характере фталат-иона свидетельствуют высокие значения  $\Delta S$ .

УДК [544.344.016+536.44]:[544.344.2+544.344.015.33]

## ФАЗОВАЯ ДИАГРАММА ДВОЙНОЙ СИСТЕМЫ ФОРМИАТ КАЛИЯ – ВОДА

М.П. Смотров, Д.Г. Черкасов

Институт химии Саратовского государственного университета  
E-mail: ilinkk@info.sgu.ru

Разработана методика лабораторного синтеза формиата калия. Визуально-политермическим методом исследованы фазовые равновесия в смесях компонентов двойной системы формиат калия – вода в интервале от  $-70$  до  $+170^\circ\text{C}$ . Впервые построена фазовая диаграмма указанной системы и определены координаты эвтектической точки. Установлено образование в этой системе инконгруэнтно плавящегося при  $-9.2^\circ\text{C}$  кристаллогидрата состава  $\text{KHC}\text{O}\text{O}\cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ . Состав выделенного кристаллогидрата установлен методом сухого остатка.

**Ключевые слова:** фазовая диаграмма, политермическое исследование, двойная система, вода, формиат калия, растворимость, кристаллогидрат, эвтектика, перитектика.

Phase Diagram of the Binary System Potassium Formate – Water

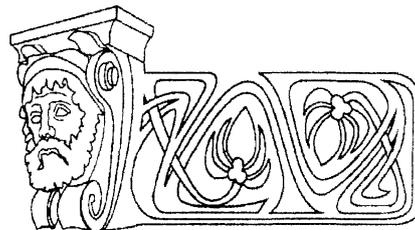
M.P. Smotrov, D.G. Cherkasov

A technique of laboratory synthesis of potassium formate has been developed. Phase equilibria in mixtures of the components of the binary system potassium formate – water in the range from  $-70$  to  $+170^\circ\text{C}$  were investigated by the visual-polythermal method. For the first time the phase diagram of the specified system has been constructed and the coordinates of an eutectic point has been established. The formation of a crystalline hydrate  $\text{KHC}\text{O}\text{O}\cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$  incongruous melting at  $-9.2^\circ\text{C}$  was found in this system. The composition of this crystalline hydrate was estimated by dry residue.

**Key words:** phase diagram, polythermal research, binary system, water, potassium formate, solubility, crystallohydrate, eutectic, peritectic.

### Библиографический список

1. Макушова Г.Н., Воронщикова Е.Е. Комплексообразование РЗЭ с о-фталевой кислотой в водных растворах // Изв. Саратов. ун-та. Новая сер. 2008. Сер. Химия. Биология. Экология. Т.8; вып.1. С.16–19.
2. Альберт А., Сержент Е. Константы ионизации кислот и оснований. М.; Л., 1964. 178 с.
3. Chaberek S., Martell A.E. Stability of Metal Chelates chmindiactic and chmindi propionic acids // J. Amer. Chem. Soc. 1952. Vol.74, №20. P.5052–5056.
4. Choppin G.R. Thermodynamics of lanthanideorganic ligand complexes // J. Less-Common metals. 1985. №9. P.193–205.
5. Wang Z.M., Burgt L.J., Choppin G.R. Spectroscopic study of lanthanide(III) complexes with carboxylic acids // Inorg. Chim. Acta. 1999. Vol.293, iss.2. P.167.



Водные растворы формиата калия находят применение как восстановители в органическом синтезе [1], хладоносители, экологически чистые противогололедные реагенты [2]. Для их эффективного использования необходимо иметь достоверную информацию о фазовых равновесиях в двойной системе формиат калия – вода. Проведенный нами обзор литературы [1–3] по физико-химическим свойствам формиата калия показал, что его растворимость исследована в узком температурном интервале, координаты эвтектической точки не были установлены. Настоящая работа посвящена политермическому изучению фазовых равновесий в смесях компонентов двойной системы формиат калия – вода в интервале  $-70\dots+170^\circ\text{C}$  с целью построения ее фазовой диаграммы.

### Экспериментальная часть и обсуждение результатов

Воду получали на бидистилляторе DEM-20 «MERA-POLNA». Муравьиную кислоту квалификации «ч.» и безводный кар-



Как видно из табл. 4, положительные значения энтальпии и энтропии позволяют предположить внутрисферный характер комплексообразования. В пользу этого говорит и величина  $pK_2 = 5.39$  фталевой кислоты. Согласно [4], чем слабее кислота, тем больше вероятность образования внутрисферных комплексов. Авторам работы [5] спектроскопическое исследование фталата Eu также позволило сделать вывод о том, что в образующихся комплексах две молекулы воды аквакомплексообразователя замещаются на фталат-ион, т.е. комплексы внутрисферные, а сам фталат-ион является бидентатным лигандом. В нашем случае о бидентатном характере фталат-иона свидетельствуют высокие значения  $\Delta S$ .

УДК [544.344.016+536.44]:[544.344.2+544.344.015.33]

## ФАЗОВАЯ ДИАГРАММА ДВОЙНОЙ СИСТЕМЫ ФОРМИАТ КАЛИЯ – ВОДА

М.П. Смотров, Д.Г. Черкасов

Институт химии Саратовского государственного университета  
E-mail: ilinkk@info.sgu.ru

Разработана методика лабораторного синтеза формиата калия. Визуально-политермическим методом исследованы фазовые равновесия в смесях компонентов двойной системы формиат калия – вода в интервале от  $-70$  до  $+170^\circ\text{C}$ . Впервые построена фазовая диаграмма указанной системы и определены координаты эвтектической точки. Установлено образование в этой системе инконгруэнтно плавящегося при  $-9.2^\circ\text{C}$  кристаллогидрата состава  $\text{KHC}\text{O}\text{O}\cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ . Состав выделенного кристаллогидрата установлен методом сухого остатка.

**Ключевые слова:** фазовая диаграмма, политермическое исследование, двойная система, вода, формиат калия, растворимость, кристаллогидрат, эвтектика, перитектика.

Phase Diagram of the Binary System Potassium Formate – Water

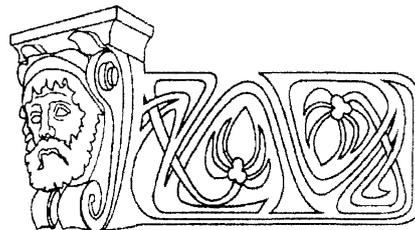
M.P. Smotrov, D.G. Cherkasov

A technique of laboratory synthesis of potassium formate has been developed. Phase equilibria in mixtures of the components of the binary system potassium formate – water in the range from  $-70$  to  $+170^\circ\text{C}$  were investigated by the visual-polythermal method. For the first time the phase diagram of the specified system has been constructed and the coordinates of an eutectic point has been established. The formation of a crystalline hydrate  $\text{KHC}\text{O}\text{O}\cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$  incongruous melting at  $-9.2^\circ\text{C}$  was found in this system. The composition of this crystalline hydrate was estimated by dry residue.

**Key words:** phase diagram, polythermal research, binary system, water, potassium formate, solubility, crystallohydrate, eutectic, peritectic.

### Библиографический список

1. Макушова Г.Н., Воронщикова Е.Е. Комплексообразование РЗЭ с о-фталевой кислотой в водных растворах // Изв. Сарат. ун-та. Новая сер. 2008. Сер. Химия. Биология. Экология. Т.8; вып.1. С.16–19.
2. Альберт А., Сержент Е. Константы ионизации кислот и оснований. М.; Л., 1964. 178 с.
3. Chaberek S., Martell A.E. Stability of Metal Chelates chmindiactic and chmindiopropionic acids // J. Amer. Chem. Soc. 1952. Vol.74, №20. P.5052–5056.
4. Choppin G.R. Thermodynamics of lanthanideorganic ligand complexes // J. Less-Common metals. 1985. №9. P.193–205.
5. Wang Z.M., Burgt L.J., Choppin G.R. Spectroscopic study of lanthanide(III) complexes with carboxylic acids // Inorg. Chim. Acta. 1999. Vol.293, iss.2. P.167.



Водные растворы формиата калия находят применение как восстановители в органическом синтезе [1], хладоносители, экологически чистые противогололедные реагенты [2]. Для их эффективного использования необходимо иметь достоверную информацию о фазовых равновесиях в двойной системе формиат калия – вода. Проведенный нами обзор литературы [1–3] по физико-химическим свойствам формиата калия показал, что его растворимость исследована в узком температурном интервале, координаты эвтектической точки не были установлены. Настоящая работа посвящена политермическому изучению фазовых равновесий в смесях компонентов двойной системы формиат калия – вода в интервале  $-70\dots+170^\circ\text{C}$  с целью построения ее фазовой диаграммы.

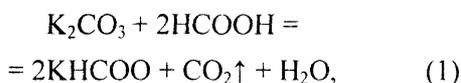
### Экспериментальная часть и обсуждение результатов

Воду получали на бидистилляторе DEM-20 «MERA-POLNA». Муравьиную кислоту квалификации «ч.» и безводный кар-



бонат калия квалификации «х.ч.» использовали без предварительной очистки.

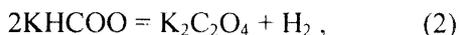
На основе существующей методики лабораторного синтеза формиата натрия [4] нами был разработан способ синтеза формиата калия. Муравьиную кислоту разбавляли 1 : 1 водой, затем небольшими порциями добавляли карбонат калия, взятый в эквимольном соотношении. После прохождения реакции, описываемой уравнением



полученный раствор разбавляли бидистиллированной водой несколько раз и упаривали для удаления следов кислоты. Затем раствор упаривали до образования пленки кристаллов и охлаждали. Соль досушивали до постоянной массы в вакуумном шкафу при 115°C над оксидом фосфора (V).

Полученный препарат соли идентифицировали методами термического и рентгенофазового анализов. Термогравиметрию образца снимали на дериватографе Paulik-Paulik-Erdey OD-102 со скоростью нагрева 10 град/мин с постоянным сопротивлением цепи ДТА – 1/5 и ДТГ – 1/10 в кварцевом тигле. Навеска образца составляла 200 мг, цена деления весовой шкалы 2 мг, эталон – оксид алюминия. Абсолютная погрешность определения температуры составляла ±5°C. Полученная термогравиметрия формиата калия представлена на рис. 1.

На кривой ДТА зафиксированы два эндотермических эффекта, не связанные с потерей массы, и один экзотермический, сопровождающийся изменением массы образца. Первый эндотермический эффект осуществляется при 170°C, что хорошо согласуется со справочными данными по температуре плавления соли (167,5°C [1]). По литературным данным [5] в интервале от 250 до 360°C формиат калия разлагается с образованием оксалата калия, выделяется и сгорает водород:



В интервале 440–470°C [5] происходит разложение оксалата калия, наблюдается

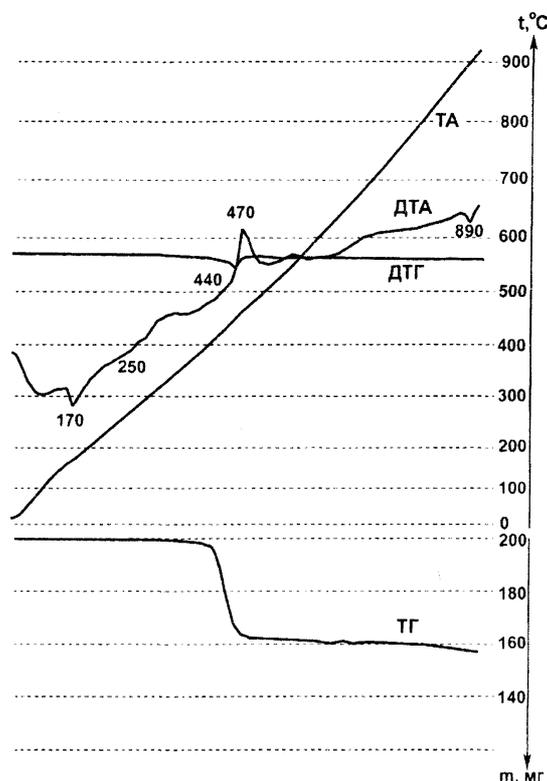
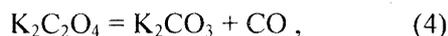


Рис. 1. Термогравиметрия формиата калия

уменьшение массы образца и сгорание образующегося оксида углерода (II):



Последний эндотермический эффект при 890°C связан с плавлением карбоната калия (891°C [1]).

Рентгенограмму снимали на дифрактометре ДРОН-2,  $\text{CuK}\alpha$ -излучение. Образец в сухой атмосфере бокса помещали в кварцевую кювету и защищали от влаги воздуха тонкой полиэтиленовой пленкой. При обработке рентгенограммы учитывали фоновый спектр пленки. Определение значений межплоскостных расстояний проводили по данным международной картотеки ASTM. Полученные результаты свидетельствовали о том, что образец соли представлял собой индивидуальный формиат калия.

Подготовленный к работе препарат соли хранили над прокаленным  $\text{CaCl}_2$  в эксикаторе, защищенном от прямого воздействия световых лучей.



Политермическое исследование фазовых равновесий в двойной системе *формиат калия – вода* проводили визуально-политермическим методом [6]. Методика эксперимента заключалась в следующем. Смеси двух компонентов, взвешивая на аналитических весах, готовили в ампулах из термостойкого стекла объемом 6 мл. Ампулы со смесями запаивали и поочередно помещали в термостатируемый химический стакан объемом 800 мл. В качестве теплоносителя в интервале температур 5–90°C применяли бидистиллированную воду, в интервале 90–170°C – глицерин. При температурах от 5 до –70°C определение температур фазовых переходов проводили в жидкостном низкотемпературном термостате «Крио-вист-Т-05», снабженном прозрачным окошком для визуальных наблюдений. Вблизи значения температуры фазового перехода нагревание и охлаждение теплоносителя осуществляли с малой скоростью. Температуры фазовых переходов определяли при последовательном нагревании каждой смеси и периодическом встряхивании ампулы, отмечая визуально исчезновение последнего кристалла твердой фазы. Каждое значение температуры фазового перехода являлось средним результатом нескольких повторных измерений и характеризовалось погрешностью  $\pm 0.1^\circ\text{C}$ . Признаком установления равновесия в гетерогенной смеси была воспроизводимость результатов измерений температуры фазового перехода. Температуру измеряли с погрешностью  $\pm 0.1^\circ\text{C}$  калиброванными десятичными ртутными термометрами с диапазонами  $-30\dots+20$ ,  $0\dots+50$ ,  $50\dots100$ ,  $100\dots150$  и  $150\dots200^\circ\text{C}$  и электронным термометром термостата «Крио-вист-Т-05» в интервале от  $-75$  до  $-30^\circ\text{C}$ . Относительная погрешность определения составов смесей, отвечающих точкам фазовых переходов при выбранных температурах, была  $\pm 0.5$ – $1.0\%$ .

Состав кристаллогидрата определяли по сухому остатку. После установления равновесия твердую фазу отделяли от жидкой фазы на охлаждаемом фильтре Шотта №4 при умеренном вакуумировании. Содержание безводной соли определяли в образце гравиметрически после прокаливания при  $130^\circ\text{C}$  и рассчитывали состав кристаллогидрата.

Фазовые равновесия были исследованы в 26 смесях компонентов двойной системы *формиат калия – вода*. Между водой и солью обнаружено образование инконгруэнтно плавящегося при  $-9.2^\circ\text{C}$  кристаллогидрата состава  $\text{KHC00}\cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ . Этот кристаллогидрат в литературе не описан и его состав впервые установлен нами.

Была построена фазовая диаграмма двойной системы *формиат калия–вода* (рис. 2).

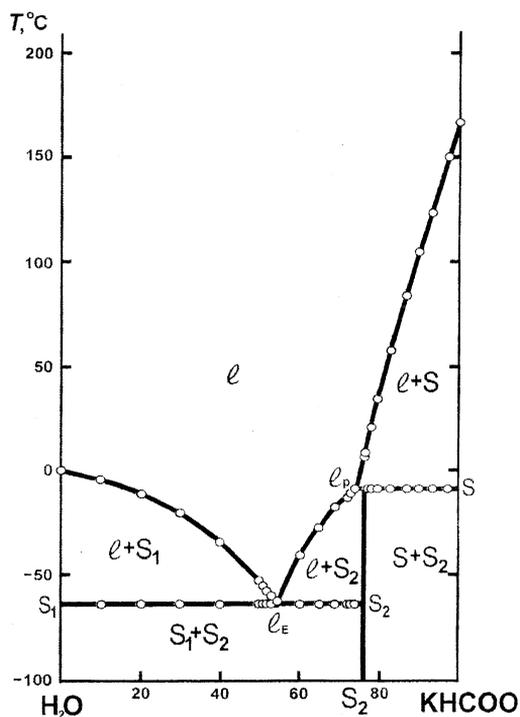


Рис. 2. Фазовая диаграмма двойной системы формиат калия – вода ( $S_2$  –  $\text{KHC00}\cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ )

Диаграмма характеризуется наличием двух трехфазных невариантных равновесий. При температуре  $-9.2^\circ\text{C}$  в системе осуществляется трехфазное равновесие перитектического типа, твердыми фазами которого являются индивидуальная соль  $S$  и кристаллогидрат  $S_2$ . При более высоких температурах на диаграмме существует поле насыщенных растворов  $l + S$ , отделенное плавной линией от поля гомогенных растворов  $l$ . Эта линия заканчивается на оси ординат при температуре плавления формиата калия ( $167.3^\circ\text{C}$ ). Содержание соли в жидкой фазе перитектического равновесия равно 74.3 мас.%. При температуре  $-64.4^\circ\text{C}$  в системе осуществляется второе трехфазное невариантное рав-



новесие эвтектического типа, твердыми фазами которого являются лед  $S_1$  и кристаллогидрат формиата калия  $S_2$ . Содержание соли в эвтектической смеси ( $l_E$ ) составляет 54.1 мас.%. При более высокой температуре диаграмма характеризуется наличием двух полей растворов, насыщенных относительно льда  $l + S_1$  и кристаллогидрата  $l + S_2$  (см. рис. 2). Составы жидких фаз эвтектики и перитектики определяли экстраполяцией ветвей линии растворимости до взаимного пересечения. Отметим, что кристаллогидрат и соль имеют положительные температурные коэффициенты растворимости. Данные по растворимости компонентов представлены в таблице.

Растворимость компонентов двойной системы формиат калия – вода

$T, ^\circ\text{C}$	КНСОО, мас.%	Состав равновесной твердой фазы
0.0	0.00	Лед
-4.4	10.10	-//-
-10.9	19.99	-//-
-20.4	30.02	-//-
-34.3	40.00	-//-
-52.7	49.68	-//-
-55.7	50.96	-//-
-58.2	52.02	-//-
-58.7	52.34	-//-
-59.9	53.06	-//-
-64.4	54.1	Лед + КНСОО·1.5H <sub>2</sub> O
-62.7	54.50	КНСОО·1.5H <sub>2</sub> O
-40.9	60.06	-//-
-27.5	64.86	-//-
-17.3	68.77	-//-
-12.9	71.94	-//-
-10.5	73.14	-//-
-9.7	73.89	-//-
-9.2	74.3	КНСОО·1.5H <sub>2</sub> O + КНСОО

Окончание таблицы

$T, ^\circ\text{C}$	КНСОО, мас.%	Состав равновесной твердой фазы
6.4	76.01	КНСОО
8.5	76.41	-//-
21.1	77.97	-//-
31.5	79.28	-//-
57.5	82.72	-//-
83.7	86.59	-//-
105.2	89.87	-//-
123.7	93.28	-//-
150.8	97.43	-//-
167.3	100.00	-//-

Анализ полученной диаграммы показывает, что формиат калия и его водные растворы (50–75 мас.% соли) обладают высокими антиобледенительными характеристиками. Даже при достаточно низких температурах (вплоть до  $-50^\circ\text{C}$ ) формиат калия может удалять лед, вызывая его плавление, с различных поверхностей.

#### Библиографический список

1. Химический энциклопедический словарь / Гл. ред. И.Л. Кнунянц. М., 1983. 792 с.
2. <http://www.antiled.biz>
3. Справочник по растворимости: Бинарные системы / Под ред. В.В. Кафарова. М.: Л., 1961. Т.1, кн.1. 860 с.
4. Соколов Н.М. Взаимодействие натриевых солей карбоновых кислот в расплавах // Журн. общ. химии. 1954. Т.24. №9. С.1581–1593.
5. Shishido Sunsuke, Masuda Yoshio. Термическое разложение формиатов щелочных металлов // J. Chem. Soc. Jap., Chem. and Ind. Chem. 1976. №1. P.66–70 (цит. по РЖХ. 1976. 15B910).
6. Аносов В.Я., Озерова М.И., Фиалков Ю.Я. Основы физико-химического анализа. М., 1976. 504 с.



## БИОЛОГИЯ

УДК [595.7:591.5](574)

### ИССЛЕДОВАНИЕ ЭНТОМОКОМПЛЕКСОВ ЧИНАРЁВСКОГО НЕФТЕГАЗОКОНДЕНСАТНОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ КАЗАХСТАНА

В.В. Аникин, О.А. Савченко

Саратовский государственный университет  
E-mail: AnikinVV@info.sgu.ru

Проведены исследования фауны энтомокомплексов 25-километровой санитарно-защитной зоны Чинарёвского нефтегазоконденсатного месторождения Казахстана. Энтомофауна исследуемой территории насчитывает 173 фоновых видов насекомых, из которых 12 являются редкими для Западного региона Казахстана. Виды *Euchromius rayatellus* и *Leptidea reali tchuvilini* в ходе исследования лепидоптерокомплексов отмечены нами впервые для Волго-Уральского региона.

**Ключевые слова:** мониторинг, энтомофауна, нефтегазоконденсатные комплексы, Волго-Уральский регион, Западный Казахстан.

Research of Insect's Fauna of Chinarevskoye Oil and Gas Condensate Field in Kazakhstan

V.V. Anikin, O.A. Savchenko

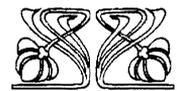
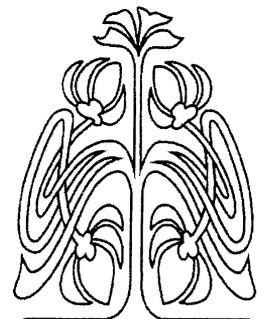
In 25 km sanitary-hygienic zone of Chinarev oil and gas condensate field in Kazakhstan were investigated the insects fauna. From this territory known 173 background species and 12 are rare for Western Region of republic. The insects of Lepidoptera – *Euchromius rayatellus* and *Leptidea reali tchuvilin* noted for the first time in Volgo-Ural Region.

**Key words:** monitoring, insects fauna, oil and gas condensate field, Volgo-Ural Region, Western Kazakhstan.

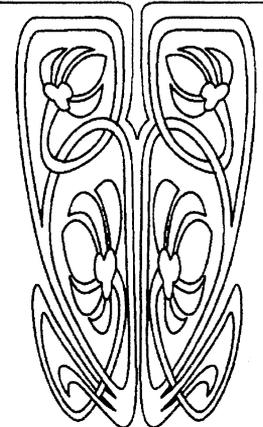
В ходе экологического мониторинга состояния окружающей среды в целях выяснения изменений экологии энтомофауны в районах интенсивной добычи нефти и газа, поиска возможных индикаторов степени нарушенности биоценозов проведен анализ энтомокомплексов 25-км санитарно-защитной зоны Чинарёвского нефтегазоконденсатного месторождения (ЧНГКМ), с выявлением основных фоновых, а также редких и охраняемых видов беспозвоночных животных, миграции которых не выходят за пределы исследуемой территории. При этом совмещалось детальное исследование почвенного покрова и растительного мира.

Определение состава энтомофауны, выполненное в весенне-летне-осенние сезоны в период 2003–2007 гг., позволило судить о его изменениях при антропогенной нагрузке ЧНГКМ на природные комплексы.

Для поиска и отлова насекомых применялись классические методы: дневной, сумеречный и ночной (на искусственные источники света) сборы. Осуществлялось воспитание и выведение личинок из преимагинальных фаз в лабораторных условиях. Сборы хранились, препарировались по общепринятым методикам. Микроскопия объектов осуществлялась с помощью стереоскопического микроскопа МБС-9 и микроскопа «Биолам». Видо-



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ



вое определение материала проводилось по отечественным и зарубежным литературным источникам [1–4], а также коллекциям Зоологического института РАН (г. Санкт-Петербург).

Для проведения комплексного экологического исследования 25-километровой санитарно-защитной зоны ЧНГКМ было заложено шесть стационарных пунктов контроля (10 м × 10 м). Три из этих пунктов находятся на территории ЧНГКМ, а три – в санитарно-защитной зоне, в биотопах, разнообразных по естественным условиям с разной степенью антропогенной нагрузки, и на территориях, не подверженных антропогенному давлению, для оценки условного эталонного уровня (рис. 1, таблица). В ходе предварительного анализа учитывались основные свойства растительности, почв, характер розы ветров.

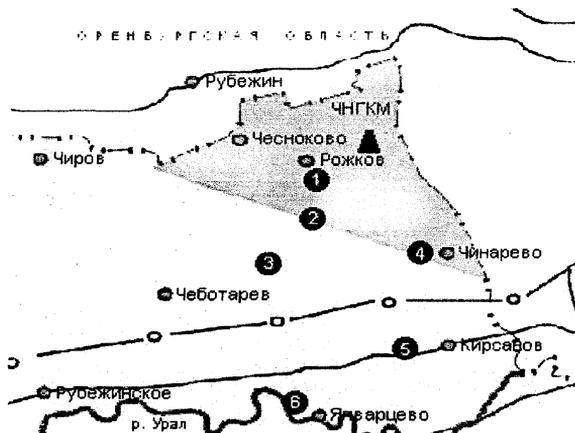


Рис. 1. Места расположения стационарных пунктов контроля фонового состояния окружающей среды ЧНГКМ: ▲ – центральная нефтяная скважина №10; 1 – бурьянистая залежь (ассоциация полныи горькой); 2 – полевые лесные насаждения (ассоциация вейника наземного); 3 – участок пастбищного сбоя (ассоциация овсяницы желобчатой); 4 – участок целинной типчаково-ковыльной степи; 5 – участок целинной ковыльно-разнотравной степи (ассоциация ковыля днепровского); 6 – пойменный участок р. Урал (дубрава вейниковая)

#### Характеристика исследуемых площадок

Характеристика	Модельные площадки					
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Микрорельеф	Не выражен	Слабо выражен	Холмистый	Холмистый	Холмистый	Пойма р. Урал
Тип почв	Южный чернозем	Южный чернозем	Суглинистые темно-каштановые	Супесчаные темно-каштановые	Супесчаные темно-каштановые	Песчаные аллювиальные почвы
Растительные ассоциации	Полыни горькой	Вейника наземного	Овсяницы желобчатой	Типчаково-ковыльная	Ковыля днепровского	Дубрава вейниковая
Число фоновых видов насекомых	50	45	68	77	80	95

Выделенные модельные участки представляют основные типы схожих фитоценозов, объединенные в растительные ассоциации в пределах 25-километровой санитарно-защитной зоны исследования ЧНГКМ.

#### Учетная площадка № 1

Доминантами из энтомофауны в разных отрядах являются: лютка-дриада (*Lestes dryas*), дедка обыкновенный (*Gomphus vulgatissimus*), стрелка-девушка (*Coenagrion puella*) из отряда стрекозы (Insecta, Odonata); кобылка степная (*Asiotmethis muricatus*) из отряда прямокрылые (Insecta, Orthoptera); прус итальянский (*Calliptamus italicus*), кобылка трескучая (*Psophus stridulus*); из отряда чешуекрылые (Insecta, Lepidoptera) доминируют бабочки семейства белянки (*Pieridae*) – белянка

капустная (*Pieris brassicae*), белянка брюквенная (*Pieris napi*) и пяденицы (Geometridae) – *Lythria purpuraria*, пяденица травяная (*Ematurga atomaria*); из отряд жесткокрылые (Insecta, Coleoptera) доминантными являются виды семейства жукилицы (Carabidae) – скакун полевой (*Cicindella campestris*), стафилины (Staphylinidae) – стафилин рыжий (*Oxyporus rufus*), пластинчатоусые (Scarabaeidae) – кузька хлебный (*Anisoplia austriaca*).

#### Учетная площадка № 2

Доминантами из насекомых являются: лютка-дриада (*Lestes dryas*) из отряда стрекозы (Insecta, Odonata); из отряда прямокрылые (Insecta, Orthoptera) – кузнечик серый (*Decticus verrucivorus*), кобылка степная (*Asiotmethis muricatus*), прус итальянский (*Callipta-*



*mus italicus*); из отряда чешуекрылые (Insecta, Lepidoptera) доминируют бабочки семейства совки (Noctuidae) – совка-ипсилон (*Agrotis ipsilon*), совка дерновая (*Tholera cespitis*) и толстоголовки (Hesperidae) – *Thymelicus lineola*, *Hesperia comma*; из отряда жесткокрылые (Insecta, Coleoptera) доминируют виды семейства жулики (Carabidae) – жулики зернистая (*Carabus granulatus*), пластинчатосые (Scarabaeidae) – кузья хлебный (*Anisoplia austriaca*), бронзовка золотистая (*Cetonia aurata*).

#### Учетная площадка № 3

Из энтомофауны доминируют: лютка-дриада (*Lestes dryas*) из отряда стрекозы (Insecta, Odonata); из отряда прямокрылые (Insecta, Orthoptera) – кузнечик серый (*Decticus verrucivorus*), кобылка голубокрылая (*Oedipoda coerulescens*), кобылка степная (*Asiotmethis muricatus*), прус итальянский (*Calliptamus italicus*); липедоптерофауна исследуемого биотопа характеризуется доминированием семейств белянки (Pieridae) – белянка рапсовая (*Pontia daplidice*), желтушка шафрановая (*Colias croceus*), совки (Noctuidae) – совка восклицательная (*Agrotis exclamationis*), совка дерновая (*Tholera cespitis*), сатиры (Satyridae) – *Proterebia afra*; из отряда жесткокрылые (Insecta, Coleoptera) доминируют виды семейства нарывники (Meloidae) – нарывник-крошка (*Mylabris pusilla*), нарывник Шеффера (*Cerocomia schaefferi*), пластинчатосые (Scarabaeidae) – майский хрущ восточный (*Melolontha hippocastani*), кузья хлебный (*Anisoplia austriaca*).

#### Учетная площадка № 4

Энтомокомплекс типчаково-ковыльной степи сложен из насекомых, относящихся к разным отрядам, среди которых доминантными являются: лютка-дриада (*Lestes dryas*), стрелка-девушка (*Coenagrion puella*) из отряда стрекозы (Insecta, Odonata); из отряда прямокрылые (Insecta, Orthoptera) – кузнечик серый (*Decticus verrucivorus*), кобылка трескучая (*Psophus stridulus*), кобылка голубокрылая (*Oedipoda coerulescens*), кобылка степная (*Asiotmethis muricatus*), прус итальянский (*Calliptamus italicus*); липедоптерофауна характеризуется доминированием ксерофильной группы бабочек семейств пяденицы

(Geometridae) – *Lythria purpuraria*, *Tephрина murinaria uralica*, белянки (Pieridae) – белянка рапсовая (*Pontia daplidice*), лимонница обыкновенная (*Gonepteryx rhamni*), *Plutella xylostella* из семейства серпокрылые моли (Plutellidae); сатиры (Satyridae) – *Proterebia afra*; из отряда жесткокрылые (Insecta, Coleoptera) доминируют виды семейства стафилины (Staphylinidae) – стафилин рыжий (*Oxyporus rufus*); пластинчатосые (Scarabaeidae) – кузья хлебный (*Anisoplia austriaca*).

#### Учетная площадка № 5

Энтомокомплекс ковыльно-разнотравной степи составляют следующие фоновые виды: лютка-дриада (*Lestes dryas*), бабка двупятнистая (*Epitheca bimaculata*) из отряда стрекозы (Insecta, Odonata); из отряда прямокрылые (Insecta, Orthoptera) – кузнечик зеленый (*Tettigonia viridissima*), дыбка степная (*Sago pedo*), прус итальянский (*Calliptamus italicus*), кобылка трескучая (*Psophus stridulus*); из отряда жесткокрылые (Insecta, Coleoptera) доминируют виды скакун-межняк (*Cicindela hybrida*), стафилин рыжий (*Oxyporus rufus*), златка пятнистая (*Ancylocheira novemmaculata*). Лепидоптерокомплексы ковыльно-разнотравной степи характеризуются преобладанием ксерофильной группы бабочек – *Casignetella artemisiella*, *Carpochena trientella*, *Crambus luteellus*, *Homoeosoma nebulella*, *Oncocera semirubella*, *Selagia argyrella*, *Lythria purpuraria*, *Eupithecia ochridata*, *Scopula immorata*, *Cidaria fluctuata*, *Ematurga atomaria*, соподчиненное положение занимает мезофильная группа – *Euxanthia zoegana*, *Trachysmia rigana*, *Agrotis exclamations*, *Rhyacia putris*, *Cerapteryx graminis*, *Thymelicus lineola*, *Ochlodes faunus*. Интерес представляет *Leptidea reali tchuvilini* – первая находка в Волго-Уральском регионе. Наиболее богатыми по количеству видов в типчаково-ковыльной и ковыльно-разнотравной степи нами выделены семейства: белянки (Pieridae), пяденицы (Geometridae), сатиры (Satyridae), медведицы (Arctiidae), на долю которых приходится 53% липедоптерофауны исследуемых биотопов.

#### Учетная площадка № 6

Пойменный участок р. Урал является самым многочисленным по количеству видов представителей энтомофауны. Доминирую-



щими видами из отряда стрекозы (Insecta, Odonata) являются: лютка-дриада (*Lestes dryas*), дедка обыкновенный (*Gomphus vulgatissimus*), бабка двупятнистая (*Epiheca bimaculata*) коромысло синее (*Aeschna cyanea*) стрекоза обыкновенная (*Sympetrum vulgatum*); из отряда прямокрылые (Insecta, Orthoptera) – пластинокрыл обыкновенный (*Phaneroptera falcata*), кузнечик серый (*Decticus verrucivorus*), кобылка пестрая (*Arcyptera fusca*). Лепидоптерофауна насчитывает 49 видов бабочек, относящихся к 22 семействам, из которых доминируют моли-чехлоноски (Coleophoridae), пяденицы (Geometridae), хохлатки (Notodontidae). В данном лепидоптерокомплексе преобладает мезофильная группа бабочек, среди которых большое количество отмеченных видов являются дендрофильными, однако численность их невелика – *Cossus cossus*, *Tortrix viridana*, *Gastropacha quercifolia*, *Oporinia autumnata*, *Lygris prunata*, *Dicranura ulmi*, *Dicranura vinula*, *Dicranura erminea*, *Notodonta tritopha*, *Notodonta anceps*, *Stauropus fagi*, *Cerura bifida*). Соподчиненное положение принадлежит мезофильной группе бабочек, которая занимает надпойменную террасу – *Ecebalia eichleri*, *Ecebalia anabaeae*, *Pyroderces argyrogrammos*, *Casignetella remizella*, *Proterebia afra*, *Argynnis adippe*, *Argynnis paphia*, *Dicranura vinula*, *Dicranura erminea*, *Notodonta tritopha*, *Notodonta anceps*, *Stauropus fagi*. Впервые в исследуемом биотопе для Волго-Уральского региона нами отмечена *Euchromius rayatellus*.

Проведенные нами исследования энтомокомплексов 25-километровой санитарно-защитной зоны ЧНГКМ показали, что животный мир беспозвоночных достаточно разнообразен. На исследуемой территории обитают типичные представители степных и лесостепных ландшафтов. Энтомофауна исследуемой территории насчитывает 173 фоновых вида, из которых 12 видов являются редкими для Западного региона Казахстана (*Acathaclisis occitanica*, *Oryctes nasicornis*, *Lucanus cervus*, *Papilio machaon*, *Zerynthia polyxena*, *Proterebia afra*, *Calopteryx splendens*, *Calopteryx virgo*, *Anax imperator*, *Aeshna cyanea*, *Lycaena amanda*, *Colias croceus*).

Видовой состав фоновых насекомых района исследований несёт все признаки, характерные для комплексов субаридных экосистем. Основной группировкой являются ксерофильные насекомые с летней эстивацией и моноциклические виды весенней и осенней группировок. Личинки этих видов в своей массе представляют ранневесеннюю группу хортобионтов, весенне-летне-осеннюю группировку корнегрызущих насекомых и осеннюю группировку карпофагов. Сходство видовых энтомокомплексов исследованных площадок на участках однотипных местообитаний (1 и 2, 3–5-я) степных ландшафтов достаточно высокое, но от них заметно отличается 6-я (рис. 2), представляющая собой пойменный биотоп р.Урал и состоящая из мезофильных и мезо-ксерофильных видов насекомых.

Наибольшим видовым разнообразием энтомофауны по средним показателям за время исследований (рис. 2) отличаются растительные ассоциации: дубрава вейниковая, которая насчитывает 22.8% от общего числа видов насекомых на исследуемой территории; ковыля днепровского – 19.8%; овсяницы желобчатой – 17.1%; типчаково-ковыльная ассоциация, насчитывающая 16.6% соответственно. Изученные ассоциации полыни горькой и вейника наземного насчитывают 12.4% и 11.3% соответственно.

Различия между группировками насекомых однотипных биотопов варьируют в зависимости от ряда абиотических и биотических факторов. Исследование динамики видового состава за 5-летний срок позволило нам убедиться, что эти изменения незначительны во временном континууме и отражают отсутствие заметных подвижек в сукцессионных процессах данных степных биогеоценозов в районе научных изысканий.

На рис. 3 представлены кривые динамики энтомокомплексов по видовому составу исследуемых учетных площадок 25-километровой санитарно-защитной зоны ЧНГКМ за период исследования с 2003 по 2007 год.

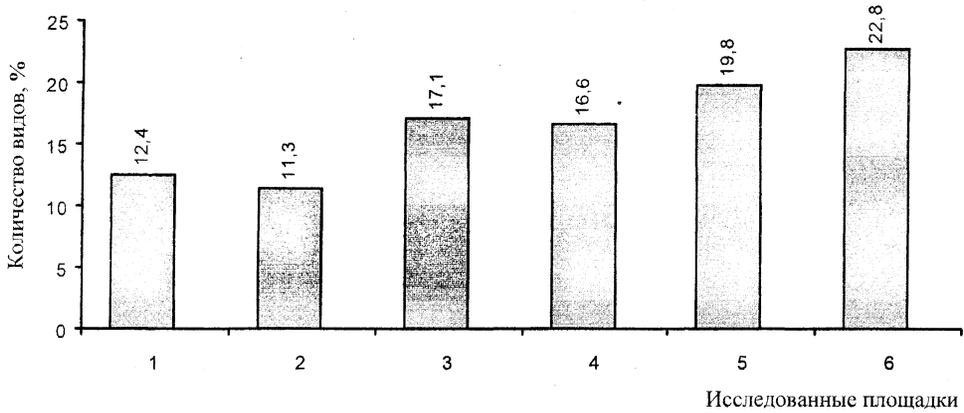


Рис. 2. Количественное распределение насекомых по площадкам в растительных ассоциациях: 1 – полынни горькой; 2 – вейника наземного; 3 – овсяницы желобчатой; 4 – типчаково-ковыльной; 5 – ковыля днепроовского; 6 – дубраве вейниковой

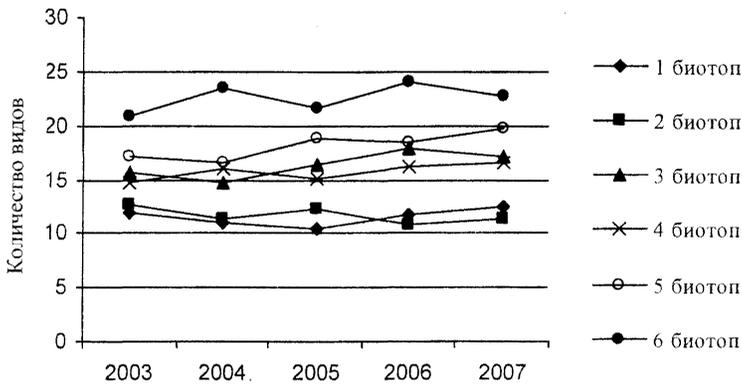


Рис. 3. Кривые динамики энтомокомплексов по видовому составу модельных площадок 25-километровой санитарно-защитной зоны исследования Чинарёвского нефтегазоконденсатного месторождения: 1 биотоп – бурьянистая залежь; 2 биотоп – полезащитные лесные насаждения; 3 биотоп – участок пастбищного сбоя; 4 биотоп – целинная типчаково-ковыльная степь; 5 биотоп – целинная ковыльно-разнотравная степь; 6 биотоп – пойменный участок р. Урал

На учетных площадках за период исследования (2003–2007 гг.) не выявлены тенденции к смене видового состава и изменению численности популяций изученных видов насекомых.

В целом можно констатировать, что состав и структура видовых энтомокомплексов модельных площадок (1–5) отражают общий облик биотических комплексов наземных групп насекомых степной ландшафтной зоны Западного Казахстана, за исключением интразональной группировки пойменного биогеоценоза р. Урал (6).

#### Библиографический список

1. Горбунов П.Ю., Ольшванг В.Н. Бабочки Среднего Урала: Справочник-определитель. Екатеринбург, 2007. 351 с.
2. Коршунов Ю.П., Горбунов П.Ю. Дневные бабочки азиатской части России: Справочник. Екатеринбург, 1995. 202 с.
3. Саранчовые Казахстана, Средней Азии и сопредельных территорий / А.В. Лачининский, М.Г. Сергеев, М.К. Чильдебаев и др. Ларамы, 2002. 387 с.
4. Плавильщиков Н.Н. Определитель насекомых. М., 1994. 544 с.

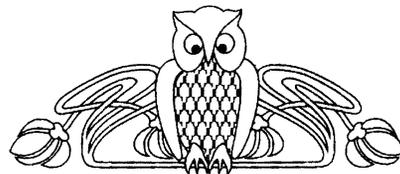


УДК [599.742.41:591.52/53]

## ОСОБЕННОСТИ ПРОСТРАНСТВЕННОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ КУНЬИХ (CARNIVORA, MUSTELIDAE) НА СЕВЕРЕ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

А.О. Филиппечев, А.В. Беляченко, К.С. Захаров

Саратовский государственный университет  
E-mail: badger13@yandex.ru



Установлены особенности распространения 9 видов семейства Куньих на севере Нижнего Поволжья. Рассчитаны ширина пространственных ниш для данных хищников и степень их перекрытия. Широко распространенными видами куньих в данном регионе являются ласка, горностаи и барсук. Черный хорь, лесная и каменная куницы занимают примерно половину из возможных биотопов, а норки и степной хорь встречаются только в ограниченном числе местообитаний.

**Ключевые слова:** семейство Куньи, распространение, пространство, экологические ниши, Нижнее Поволжье.

### Spatial Distribution Features of Some Species of Mustelids (Carnivora, Mustelidae) in the North of the Lower Volga Region

A.O. Filipechev, A.V. Belyachenko, C.S. Zacharov

Specific distributions features of distribution of 9 species of martens in the north of the Lower Volga region have been demonstrated. Calculated width of the spatial niches for these predators and their degree of overlap. Widespread species of martens in this region are the weasel, stoat and badger. Black polecat, pine and stone martens occupy about half of the possible biotopes, but mink and steppe polecat are found only in a limited number of habitats.

**Key words:** Mustelidae, distribution, space, ecological niches, the Lower Volga Region.

Изучение пространственной структуры популяций является одним из важнейших этапов экологических исследований. При изучении пространственного распределения хищников, относящихся к одному семейству, в первую очередь необходимо выявить особенности совместного использования ими жизненно важных ресурсов и возможность сосуществования в пределах ограниченных территорий.

В настоящее время ощущается явный недостаток в работах, направленных на изучение организации сообществ близкородственных видов млекопитающих, а имеющиеся работы носят частный характер и не отражают в полной мере всех особенностей данного явления.

Целью настоящей работы стало изучение особенностей пространственной органи-

зации сообщества куньих в различных местообитаниях севера Нижнего Поволжья. Разносторонние исследования экологии хищных млекопитающих позволят дополнить представления о взаимосвязи организма и среды, а также получить конкретные данные, необходимые в работе по практическому использованию ресурсов среды и сохранению биоразнообразия.

### Материал и методика

Основной объем материала по пространственному распределению хищников семейства Куньих был собран в 1997–2007 гг. на территории севера Нижнего Поволжья в результате маршрутных учетов и картирования индивидуальных участков на стационарах и во время экспедиционных выездов. Общая протяженность маршрутных учетов, пролегающих по территориям Саратовского, Татищевского, Ртищевского, Лысогорского, Красноармейского, Вольского, Балаковского, Петровского, Энгельсского, Воскресенского, Пугачевского, Аткарского районов Саратовской области, Камышинского, Михайловского, Палласовского районов Волгоградской области, Пестравского района Самарской области и Бековского района Пензенской области, составила 8762 км. При изучении пространственной структуры популяций куньих применялись маршрутные учеты по следам на снегу [1–3]. Для определения следов различных видов использовались рекомендации, изложенные в работах В.Е. Сидоровича [3, 4].

Для оценки влияния неоднородностей природной среды и ее антропогенной трансформации на видовое разнообразие и биотопическое распределение куньих была выбрана схема описания территорий, рекомендуе-



мая В.Е. Сидоровичем [3]. В качестве результирующих показателей видового обилия использовано количество наследов, пересекающих маршрут на 1 км. Регистрация активности кунных по следам проходила как в снежный, так и в бесснежный период. В бесснежный период использовалась методика изучения численности кунных по экскрементам [5]. В качестве показателя обилия барсука, проводящего зиму в состоянии спячки, использовалось количество обнаруженных жилых поселений на 1 км на двухкилометровой трансекте [3]. Непосредственно на маршруте определялись лесистость, водность, заболоченность, распаханность территории; площади, занятые поселениями человека, рекреационными постройками, открытыми пространствами. Протяженность учетов обследования по этой методике составила 1435 км.

Ширина пространственной ниши рассчитывалась по индексу Шеннона ( $H^*$ ), достоверность определялась с помощью критерия Стьюдента ( $t$ ) [6, 7]. Статистическая обработка выполнялась с использованием пакетов программ Excel 2000, Matcad 2000 Pro, Statistica 6.0.

#### Результаты и их обсуждение

Исследованный район имеет сложную ландшафтную структуру. Физико-географические особенности района исследования подробно рассмотрены в ряде специальных работ [8–13], но классификация различных биотопов разработана явно недостаточно. Она не отражает изменения ландшафтной структуры, вызванные деятельностью человека за последние десятилетия, и для большинства регионов является слишком общей, не отражающей особенностей геоморфологического строения конкретных местообитаний животных. Поэтому нами была разработана более подробная классификация природных биотопов, где проводились исследования экологии хищников.

#### **I. Приустьевые и центральная пойма**

1. Заросли тростника и рогоза вдоль границы «вода–суша».

2. Песчаные приустьевые валы с ксерофитной травяной растительностью и ивняком.

3. Пойменные старичные водоемы.
4. Пойменные леса: а) зрелые; б) молодые; в) границы леса; г) вырубки, гари.
5. Мезофитные луга среднего уровня.
6. Ксерофитные луга высокого уровня.
7. Песчаные, галечные отмели и небольшие острова.

#### **II. Первая надпойменная терраса**

8. Притеррасные ольшаники, ивняки: а) зрелые; б) молодые; в) границы леса; г) вырубки, гари.
9. Открытые притеррасные водоемы.
10. Притеррасные лесные старицы.
11. Ксерофитные луга высокого уровня.

#### **III. Вторая надпойменная терраса**

12. Дубравы, осокорники, липняки надпойменной террасы: а) зрелые; б) молодые; в) границы леса; г) вырубки, гари.
13. Мезофитные луга.
14. Ксерофитные луга.
15. Хвойные лесополосы: а) зрелые; б) молодые.
16. Лесополосы смешанного типа: а) зрелые; б) молодые.
17. Лиственные лесополосы: а) зрелые; б) молодые.

#### **IV. Байрачные леса**

18. Дубравы: а) зрелые; б) молодые; в) границы леса; г) вырубки, гари.
19. Липняки: а) зрелые; б) молодые; в) границы леса; г) вырубки, гари.
20. Кленовники, березняки, осинники и пр.: а) зрелые; б) молодые; в) границы леса; г) вырубки, гари.

#### **V. Овражно-балочная сеть**

21. Овраги облесенные с ручьями.
22. Овраги облесенные сухие.
23. Овраги безлесные с ручьями.
24. Овраги безлесные сухие.
25. Балки облесенные с ручьями.
26. Балки облесенные сухие.
27. Балки безлесные с ручьями.
28. Балки безлесные сухие.

#### **VI. Антропогенный ландшафт**

29. Урбанизированный ландшафт: а) кварталы старой застройки; б) кварталы новой застройки; в) парки, кладбища; г) пустыри, свалки.
30. Селитебный ландшафт: а) жилые надворные постройки, используемые постоянно;



но; б) надворные постройки, используемые временно; в) нежилые поселения и разрушенные постройки; г) возделываемые сады; д) заброшенные сады; е) огороды, выгоны; ж) дачные участки.

31. Водоёмы: а) оросительные и мелиоративные каналы; б) пруды с прибрежной древесной растительностью в населенных пунктах; в) пруды с открытыми берегами в населенных пунктах; г) пруды с прибрежной древесной растительностью в агроценозах; д) пруды с открытыми берегами в агроценозах.

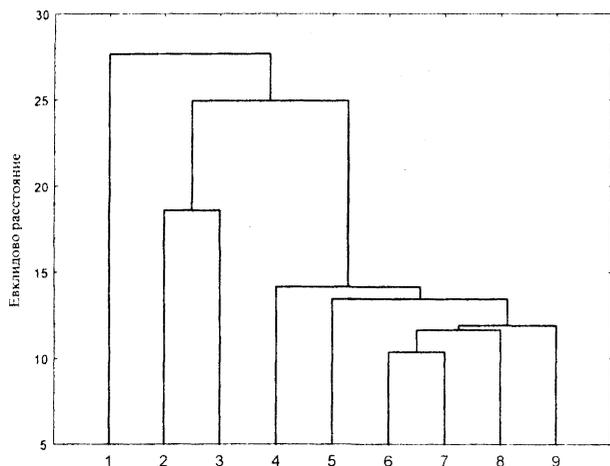
32. Агроценозы: а) посевы сельскохозяйственных культур; б) залежи; в) посевы луговых трав.

### VII. Степи

33. Типчаково-ковыльковые, полынно-ковыльковые, полынно-типчаковые степи.

34. Берега степных водоёмов.

В каждом из биотопов проводился учет численности хищников в разные сезоны года. Анализ материалов показывает, что наиболее широко распространенными видами куньих являются ласка, горностай и барсук. Черный хорь, лесная и каменная куницы занимают примерно половину из возможных биотопов, а норки и степной хорь встречаются только в ограниченном числе местообитаний. Применение метода кластерного анализа позволило выделить пары видов, для которых характерно совместное использование пространства (рисунок).



Пространственное распределение куньих севера Нижнего Поволжья: 1 – степной хорь; 2 – европейская норка; 3 – американская норка; 4 – черный хорь; 5 – лесная куница; 6 – горностай; 7 – ласка; 8 – каменная куница; 9 – барсук

Такие пары образуют американская и европейская норки, горностай и ласка. У видов, заселяющих большое число пригодных местообитаний (ласка, горностай), пространственная конкуренция слабее. Например, ласка тяготеет к открытым сухим биотопам, где плотность этого хищника может в два и более раз превышать плотность популяции горностая, и, напротив, в поймах рек и по лесным опушкам, где численность горностая максимальна, ласка встречается значительно реже. Подобное явление наблюдается и в других частях ареалов этих хищников [14, 15]. Каменная куница использует биотопы, занимаемые как лаской (например, она также довольно часто селится в антропогенном ландшафте), так и горностаем (овражно-балочные системы, поймы малых рек), поэтому близка к этим видам на диаграмме. Барсук образует с горностаем, лаской и каменной куницей компактную группу. Этот вид использует значительное количество биотопов, причем является одним из немногих хищников, встречающихся в сухих степях. С другой стороны, барсук редко заселяет антропогенный ландшафт, в особенности территории городов, что позволяет разобщить этого хищника с каменной куницей в кластере.

Лесная куница и черный хорь используют меньшее количество специфичных местообитаний. Для черного хоря наиболее характерными биотопами являются поймы рек, заливные луга; он часто заселяет и селитебный ландшафт, встречаясь на территории как заброшенных, так и жилых деревень. Такое разделение местообитаний наблюдается на северо-западе России [16, 17] и в Беларуси [3]. Лесная куница обычна в зрелых массивах леса, встречается в заросших балках, на вырубках, в лесополосах, но открытых ландшафтов и антропогенных территорий избегает. Сравнивая этих хищников с барсуком и мелкими куньими, можно отметить, что они используют сходные пространственные ресурсы, но лесная куница и черный хорь более избирательны в выборе участка. Поэтому на диаграмме они стоят несколько особняком, хотя и связаны с первой группой более тесно, чем с другими видами.



У каменной куницы и черного хоря, которые часто совместно заселяют участки селитебного ландшафта, отмечается различное использование территории биотопов. Каменная куница в основном охотится и устраивает убежища на чердаках стросений, в развалинах временных построек, старых садах. Черный хорь предпочитает заселять подвалы зданий, сеновалы, старые выгоны и очень редко устраивает убежища над поверхностью земли. Подобная картина наблюдается на территории Воронежской области [18, 19] и в Беларуси [3].

Околоводные хищники – европейская и американская норки заселяют поймы рек, берега водоемов различных типов и отличаются своеобразным использованием пространства. У норок, распространенных в ограниченном числе биотопов (берега рек, ручьев, реке озер и водохранилищ), конкуренция за участки обитания более напряженная. Физически более сильная и агрессивная американская норка вытесняет аборигенный вид норки из большинства пригодных местообитаний [20]. Подобное явление наносит популяциям европейской норки заметно больший урон, чем возможная трофическая конкуренция. Это соотносится с данными, полученными в других областях России [21, 22] и Беларуси [3]. При совместном обитании с лесной

куницей и горностаем норки используют совершенно иные ярусы, а их убежища частично или полностью располагаются под водой, что не характерно для других видов куньих, включая экологически близкий вид – черного хоря.

Иной способ использования пространства характерен для другого специализированного хищника – степного хоря, который заселяет преимущественно открытые степные участки и очень редко заходит на облесенные территории. В местах своего обитания он встречается совместно только с такими широко распространенными видами, как барсук и ласка, но из-за невысокой плотности всех видов куньих в степных биотопах ни о какой территориальной конкуренции не может быть и речи.

Более точную картину размещения хищников на территории района исследования дает расчет индекса Шеннона, а также данные о взаимном перекрытии пространственных ниш, представленные в таблице.

Ширина пространственной ниши не определена только для степного хоря из-за малой выборки данных. Наибольшая ширина пространственной ниши наблюдается у ласки, наименьшая – у европейской норки. У остальных видов куньих значение индекса Шеннона различается незначительно.

Ширина пространственных ниш (Н\*) некоторых видов куньих и их взаимное перекрытие, %

Виды	Барсук	Лесная куница	Каменная куница	Американская норка	Европейская норка	Ласка	Горностаи	Черный хорь
Барсук	–	80.95* 1.79	72.30 0.44	29.70 6.25	20.67 10.73	79.29 1.03	76.25 1.72	67.93 0.11
Лесная куница		–	70.97 1.11	34.93 5.37	18.03 11.26	75.45 4.29	73.43 2.88	56.15 2.35
Каменная куница			–	32.21 4.77	21.08 8.57	81.6 1.45	79.08 6.99	68.66 0.44
Американская норка				–	82.33 11.92	33.94 21.9	44.37 13.78	36.89 10.99
Европейская норка					–	25.53 38.78	33.59 24.26	25.86 19.44
Ласка						–	86.07 1.99	73.78 2.18
Горностаи							–	74.99 4.89
Индекс Шеннона (Н*)	3.616	3.337	3.530	2.803	2.235	3.747	3.639	3.601

Примечание. \* Верхняя цифра в каждой ячейке – величина перекрытия ниш (%); нижняя – значение критерия Стьюдента (*t*). Жирным шрифтом выделены достоверные значения.



Максимальное перекрытие пространственных ниш наблюдается между лаской и горностаем – 86%, у ласки и каменной куницы – 81,6%, барсука и лесной куницы – 81%, американской и европейской норки – 82%. Меньшее перекрытие ниш (не более 44%) отмечено между обоими видами норки и остальными куньиными. Перекрытие пространственных ниш между другими видами сообщества значительно и в большинстве случаев превышает 70%. Это может указывать на конкуренцию за местообитания между видами.

Куньи Нижнего Поволжья заметно отличаются друг от друга по характеру использования участка обитания. Среди них встречаются как оседлые виды, например, барсуки, использующие постоянные норы десятилетиями, так и кочевые виды (степной хорь). Размер участка обитания заметно варьирует у разных видов хищников и определяется, в первую очередь, доступностью кормовых ресурсов. У всех видов куньих, кроме степного хоря, на индивидуальной территории можно выделить ядро участка, на котором располагаются основные используемые убежища, кормовую зону, которая используется с различной интенсивностью в разные периоды года, и периферический или буферный участок, служащий для контакта с соседями и обмена информацией.

#### Библиографический список

1. Новиков Г.А. Полевые исследования по экологии наземных позвоночных. М., 1953. 499 с.
2. Корытин С.А., Соломин И.Н. Суточная активность и учеты зверей // Охотоведение и природопользование: Тез. докл. науч.-произв. конф. Киров, 1995. С.49–51.
3. Сидорович В.Е. Куньи в Беларуси. Эволюция, биология, демография и биоценотические связи. Минск, 1997. 263 с.
4. Сидорович В.Е. Норка, выдра, ласка и другие куньи. Минск, 1995. 191 с.
5. Петухов А.Г. Методы определения численности животных, трофические связи и влияние на них антропогенных воздействий. М., 1989. 214 с.
6. Мэгарран Э.Е. Экологическое разнообразие и его изменение. М., 1992. 184 с.
7. Batten L. A. Bird communities of some Killarney woodlands // Proc. Roy. Irish Acad. 1976. Vol.76. P.285–313.
8. Мильков Ф.Н. Среднее Поволжье. Физико-географическое описание. М., 1953. 260 с.
9. Природа Волгоградской области: Сб. ст. / Под ред. Г.П. Озолина. Волгоград, 1977. Сер.1: Охрана растительности. 175 с.
10. Алексеевская Н.К., Крылова А.И. Физическая география Поволжья: Учеб. пособие для студентов геогр. фак. Саратов, 1991. 41 с.
11. География Саратовской области / Н.Д. Добрин, Т.Д. Крысанова, В.К. Штырова и др.; Под ред. И.В. Тельтевской. Саратов, 1993. 217 с.
12. Тарасов А.О. Структура растительного покрова Нижнего Поволжья // Бюл. МОИП. Отдел биол. 1991. Т.96, вып.5. С.92–100.
13. Тарасов А.О. Биогеоценотические комплексы Нижнего Поволжья // Изв. Сарат. ун-та. Саратов, 2001. Сер. Биол., вып. спец. С.11–17.
14. Гептнер В.Г., Наумов Н.П., Юргенсон П.Б., Слудский А.А., Чирков А.Ф., Банников А.Г. Млекопитающие Советского Союза. Т.2. Ч.1. Морские коровы и хищные. М., 1967. С.585–604.
15. Туманов И.Л. Биологические особенности хищных млекопитающих России. СПб., 2003. 448 с.
16. Данилов П.И., Русаков О.С. Особенности экологии черного хоря (*Mustela putorius*) в северо-западных областях европейской части СССР // Зоол. журн. 1969. Т.68, вып.9. С.1383–1393.
17. Данилов П.И., Туманов И.Л. Куньи Северо-Запада СССР. Л., 1976. 256 с.
18. Рябов Л.С. Каменная и лесная куница в Воронежской области // Бюл. МОИП. Отдел биол. 1976. Т.81, вып.4. С.21–37.
19. Рябов Л.С. Каменная куница в городе Воронеже // Бюл. МОИП. Отдел биол. 1977. Т.82, вып.3. С.12–22.
20. Филиппчев А.О. Эколого-фаунистическая характеристика хищных млекопитающих семейства Куньи (*Carnivora, Mustelidae*) севера Нижнего Поволжья: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 2006. 24 с.
21. Туманов И.Л. Состояние природных популяций европейской норки и перспективы сохранения вида // Сохранение европейской норки в России – итоги и перспективы: Материалы эколого-просвет. семинара. СПб., 2002. С.29–34.
22. Скуматов Д.В. Европейская норка в России (современное состояние и перспективы сохранения в условиях охотничьего промысла): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Киров, 2005. 23 с.



УДК 579.22.577.112.083

## ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТАБОЛИТОВ ГЛИКОПРОТЕИНОВОЙ ПРИРОДЫ КСИЛОТРОФНОГО БАЗИДИОМИЦЕТА *Lentinus edodes* В УСЛОВИЯХ ГЛУБИННОГО И ПОВЕРХНОСТНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

А.А. Галицкая, Е.П. Ветчинкина\*, В.Е. Никитина\*,  
В.Г. Бабицкая\*\*, В.В. Щерба\*\*, Т.А. Пучкова\*\*

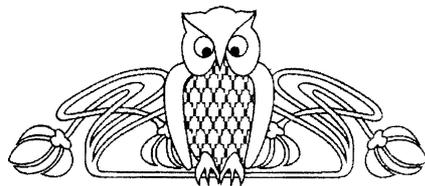
Саратовский государственный университет

\* Учреждение Российской академии наук

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

E-mail: elenavetrus@yandex.ru

\*\* Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь



Установлено, что экзо- и эндогликополимеры гриба *L. edodes* являются гликопротеинами, по мономерному составу представляющие собой гетерогликаны с преобладающим мономером – глюкозой. Показано, что способ культивирования оказывает определенное влияние на строение образуемых грибом экзо- и эндогликопротеинов. Обнаружено, что углеводная часть экзо- и эндогликопротеинов представлена разветвленными гликанами, содержащими  $\alpha$ - и  $\beta$ - гликозидные связи, основная цепь представлена гликанами с  $C_1 \rightarrow C_3$ , боковые цепи – гликанами с  $C_1 \rightarrow C_4$  и  $C_1 \rightarrow C_6$  гликозидными связями.

**Ключевые слова:** экзо- и эндогликопротеины, ксилотрофные базидиомицеты, *Lentinus edodes*, глубинное и поверхностное культивирование.

### Characterization of Glycoproteinaceous Metabolites from the Xylotrophic Basidiomycete *Lentinus edodes* under Submerged and Surface Cultivation

A.A. Galitskaya, E.P. Vetchinkina, V.E. Nikitina, V.G. Babitskaya,  
V.V. Shcherba, T.A. Puchkova

The exo- and endoglycopolymers of the fungus *L. edodes* were found to be glycoproteins that, by their monomeric composition, were heteroglycans with glucose as the predominant monomer. The structure of the exo- and endoglycoproteins formed by the fungus was found to depend to some extent on the cultivation method used. The carbohydrate moieties of the exo- and endoglycoproteins were represented by branched glycans containing  $\alpha$ - and  $\beta$ -glycosidic links. The main chain was represented by glycans with the  $C_1 \rightarrow C_3$  glycosidic links, and the sidechains contained glycans with the  $C_1 \rightarrow C_4$  and  $C_1 \rightarrow C_6$  glycosidic links.

**Key words:** exo- and endoglycoproteins, xylotrophic basidiomycetes, *Lentinus edodes*, submerged and surface cultivation.

Одной из приоритетных задач современной биотехнологии является поиск новых источников физиологически активных соединений с целью получения эффективных и безопасных продуктов. Лекарственные грибы представляют огромный потенциал в качестве источников биологически активных метаболитов углеводной, липидной, белковой природы, терпеноидов, стероидов, алкалои-

дов, фенольных соединений, витаминов, минеральных элементов [1].

Особое внимание уделяется лекарственному грибу *Lentinus edodes* (шиитакэ), который обладает антиоксидантными и противовирусными свойствами, является хорошим адаптогеном. Фармакологическая активность этого гриба подтверждается современными исследованиями, проведенными в Японии, Китае, США и Европе [2].

Уникальные свойства, полифункциональность гликополимеров, в том числе и лектинов, являющихся гликопротеинами, позволяют использовать их для создания диагностических и лечебно-профилактических препаратов [3]. Данные соединения дикариотического мицелия практически не изучены, в отличие от плодовых тел.

**Целью работы** явилось изучение метаболитов гликопротеиновой природы ксилотрофного базидиомицета *Lentinus edodes* при глубинном и твердофазном культивировании.

### Материалы и методы исследований

**Объекты исследований и условия культивирования.** В работе использовали 25 штаммов гриба *Lentinus edodes* из коллекции высших базидиальных грибов лаборатории экспериментальной микологии Института микробиологии НАН Беларуси, а так же из коллекции высших базидиальных грибов кафедры микологии и альгологии МГУ.

Грибы выращивали в колбах Эрленмейера на качалке на среде с пивным суслом ( $4^0$  по Баллингу), стационарное культивирование



проводили на той же среде без перемешивания. Количество инокулюма составляло 10%. Поверхностное культивирование осуществляли на чашках Петри с сусло-агаром. Температура культивирования была оптимальной для данного вида и составляла 26°C.

**Методы экстракции.** Фракцию **эндогликопротеинов** получали следующим способом: 100 мг гомогенизированного сухого мицелия экстрагировали в 5 мл 1М NaOH при 60°C в течение 1 ч [4], осадок отделяли центрифугированием (20 мин при 8000 об/мин.). В супернатанте определяли содержание гликопротеинов фенол-сернохлоридным методом [5]. Измерения вели на фотоэлектроколориметре при 490 нм.

Фракцию **экзогликопротеинов** получали в результате последующих операций: культуральную жидкость упаривали в 2–3 раза, гликопротеины осаждали этиловым спиртом (1:1) при температуре 4°C, осажденную фракцию отделяли центрифугированием и диализовали против воды, затем гликопротеины пересаждали спиртом и сушили при температуре 4°C [6].

**Гельхроматографию гликопротеинов** осуществляли на Sephadex G-75 в качестве элюента использовали 20 mM Tris-HCl, pH = 8,0, а также Toyopearl HW 65, элюент – 0.25% LiOH. Молекулярную массу определяли по калибровочной кривой, построенной по декстранам, имеющим молекулярную массу 20, 40, 70, 500 кДа «Fluka». Свободный объём колонки устанавливали по голубому декстрану 2000 кДа «Pharmacia».

**ИК-спектры** поглощения снимали на «Specord M-80» (Германия), **УФ-спектры** – на спектрофотометре «Shimadzu UV-2401PC».

**Кинематическую вязкость** ( $\nu$ ) 0.1% растворов гликополимеров определяли с помощью вискозиметра ВПЖ-4 с диаметром капилляра 0.82 мм при 25°C и рассчитывали по формуле  $\nu = g \cdot t \cdot k / 9.807$ , где  $t$  – время истечения;  $k$  – коэффициент вискозиметра – 0.0303;  $g$  – ускорение свободного падения – 9.807 м/с<sup>2</sup>.

Белок в мицелии определяли по Лоури [7], в гликопротеинах – по Бредфорд [8].

**Состав углеводов экзо- и эндополисахаридов** (после предварительного гидролиза

их 7%-ной серной кислотой на кипящей водяной бане в течение 5ч) определяли методом ГЖХ в виде триметилсилильных (ТМС) производных сахаров. ТМС производные углеводов и метчиков, которыми служили ксилоза, манноза, галактоза, глюкоза, трегалоза, арабит и маннит («Sigma», США), получали по методу [9]. Хроматографию проводили на приборе «Chrom 5» (Чехия) с плазменно-ионизационным детектором, используя колонку из нержавеющей стали длиной 2,8 м, заполненную хроматоном N-AW-HMDS с 5% жидкой фазы SE-30, при программировании температуры в пределах от 140 до 280°C со скоростью 5° в минуту. Содержание каждого моносахарида рассчитывали как процент от суммы площадей пиков.

**Химическую структуру фракций полисахаридов** устанавливали с помощью метода периодатного окисления с последующим боргидридным восстановлением окисленных продуктов.

Окисление полисахаридов проводили в 0.015 М растворе периодата натрия при температуре 5–6°C в течение 7 суток. Через определённые промежутки времени отбирали аликвотные пробы растворов и измеряли расход периодата и количество выделившейся муравьиной кислоты. В этих же условиях проводили контрольный опыт. За расходом периодата следили по уменьшению поглощения иона периодата при 223 нм [10]. Количественное определение муравьиной кислоты проводили на хроматографе «Chrom 5» (Чехия) с пламенно-ионизационным детектором, используя колонку из нержавеющей стали длиной 2.8 м, заполненную носителем «Seracon SCN» в изотермическом режиме при температуре термостата 170°C, испарителя 200°C. В качестве внутреннего стандарта использовали 0.4% раствор пропанола.

Окисленные периодатом натрия растворы полисахаридов восстанавливали боргидридом натрия по [10, 11], затем гидролизовали в 1 н HCl в течение 6 ч при 100°C (мягкий гидролиз) и 0,5N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> в течение 6 ч при 100°C (жесткий гидролиз). Гидролизаты нейтрализовали, выпаривали досуха при 45°C, продукты гидролиза определяли методом ГЖХ в виде ТМС производных сахаров.



Поскольку существенных межштаммовых различий не наблюдалось, результаты исследований показаны на примере штаммов *L. edodes* 19 и 25.

**Результаты исследований и их обсуждение**

**Растворимость эндо- и экзогликополимеров гриба *L. edodes*.** При культивировании на жидких питательных средах (глубинном и стационарном) и при поверхностном культивировании гриб *L. edodes* продуцирует эндогликополимеры и выделяет в среду внеклеточные гликополимеры.

Исследование растворимости показало, что эндо- и экзогликополимеры гриба независимо от способа культивирования полностью растворяются в воде при нагревании до 80–90°C, а также в слабых растворах неорганических и органических кислот, растворах щелочей и диметилсульфоксиде, но не растворяются в органических растворителях: спиртах, ацетоне, хлороформе.

**Определение вязкости гликополимеров *L. edodes*.** Важной характеристикой гликополимеров является вязкость. Растворы гликополимеров *L. edodes* имели больший показатель кинематической вязкости (от 0.99 до 1.85 мм<sup>2</sup>/с), чем таковой воды (0.89 мм<sup>2</sup>/с). Отличие по данному показателю между эндогликополимерами глубинного и стационарного мицелия незначительно (1.02 и 0.99 мм<sup>2</sup>/с). Аналогичная закономерность наблюдается и в случае экзогликополимеров (1.78 и 1.85 мм<sup>2</sup>/с). Как при глубинном, так и стационарном культивировании кинематическая вязкость экзогликополимеров больше таковой эндогликополимеров. Показатель кинематической вязкости гликополимеров, синтезируемых грибом при твердофазном культивировании,

имеет промежуточное значение (1.39 мм<sup>2</sup>/с) между показателем экзо- и эндогликополимеров.

**Угол вращения гликополимеров *L. edodes*.** Удельное вращение плоскости поляризации 0.1% растворов экзогликополимеров *L. edodes* составило  $[\alpha]_D^{20} +84^\circ$ , эндогликополимеров  $[\alpha]_D^{20} - 18^\circ$ .

**Фракционирование и молекулярная масса эндо- и экзогликополимеров гриба *L. edodes*.** Нами было установлено присутствие белка в растворах гликополимеров в количестве 2–9% от веса гликана. Как при глубинном, так и стационарном культивировании содержание белка больше в экзогликополимерах. Наибольшее количество белка отмечено в растворах гликополимеров, образуемых при стационарном культивировании.

При гельфильтрации на Toyopearl HW 65 экзо- и эндогликополимеры гриба разделялись на две фракции: высокомолекулярную ( $M_r \geq 1000$  кДа) и низкомолекулярную – 70 кДа и менее. В экзо- и эндогликополимерах, образуемых при стационарном культивировании, преобладают высокомолекулярные фракции, при глубинном культивировании – низкомолекулярные фракции. Эндогликополимеры, образуемые грибом при твердофазном культивировании, элюируются с колонки двумя пиками приблизительно равной площади.

**Определение углеводного и аминокислотного состава экзо- и эндогликопротеинов.** Образуемые при разных условиях культивирования гликополимеры *L. edodes* незначительно отличаются по качественному мономерному составу и являются гетерогликанами с преобладающим мономером глюкозой: 55–96% (табл. 1).

Таблица 1

Углеводный состав гликополимеров, образуемых *L. edodes* при различных типах культивирования

Тип культивирования и фракция гликополимеров	Мономеры, %							
	Ксилоза		Манноза		Галактоза		Глюкоза	
	штамм 19	штамм 25	штамм 19	штамм 25	штамм 19	штамм 25	штамм 19	штамм 25
Стационарное культивирование	–	–	5.9	7.2	4.5	5.8	89.6	87.0
	8.3	4.5	29.7	30.5	7.3	6.5	54.7	58.5
Глубинное культивирование	–	–	15.0	8.2	10.6	10.5	74.4	81.3
	–	–	4.5	7.0	–	–	95.5	91.0
Поверхностное культивирование	–	–	6.7	7.5	14.3	12.5	79.0	80.0



Маннозы больше всего отмечено в эндогликополимерах, образуемых при стационарном и глубинном культивировании гриба, галактозы – в эндогликополимерах, образуемых при глубинном и поверхностном культивировании. Минимальное количество глюкозы установлено в экзогликополимерах при стационарном выращивании обоих штаммов (54.7 и 58.5%).

Все мицелиальные экстракты исследованных нами штаммов *L. edodes* проявляли в той или иной степени лектиновую активность.

Методом гель-фильтрации на Sephadex G-75 нами были выделены внутриклеточные лектины *L. edodes* штамма F-249, обладающего очень высокой лектиновой активностью. Для сравнения лектины выделяли из разных морфоструктур, образующихся в процессе развития гриба. Установили, что данные лектины являются гликопротеинами, однако они различаются по содержанию углеводов (табл. 2). Углеводная часть в них составляет 3.3% (непигментированный мицелий), 18.1% (коричневая мицелиальная пленка) и 19.8 % (плодовое тело).

Таблица 2

Состав углеводной части лектинов *L. edodes*

Лектины	Сахара, % от суммы					Сахара, % от сухой массы лектинов
	Манноза	Галактоза	Глюкоза	Инозит	Итого	
Белый мицелий	–	17.36	25.00	57.64	100.0	3.29
Коричневая мицелиальная пленка	12.50	–	45.83	41.67	100.0	18.06
Плодовые тела	–	12.50	79.16	8.34	100.0	19.83

В составе гликополимеров гриба, выращенного глубинным способом, установлено наличие белка – до 9% (табл. 3). В экзогликопротеинах содержалось 8.7 и 9.2% белка, в эндогликопротеинах – 5.5 и 6.4% (соответственно штаммы 19 и 25). Анализ аминокислотного состава гидролизатов гликопротеинов показал наличие в них 17 аминокислот. Сумма их в гликопротеинах составила 55.62 и 64.89 мг/г (эндогликопротеины), 86.9 и 92.3 мг/г (экзогликопротеины). Самое низкое со-

держание белка (2.0 и 3.5%) отмечено в гликопротеинах, выделенных из поверхностно выращенного мицелия. В гидролизатах содержалось также 17 аминокислот (табл. 4).

Таблица 3

Аминокислотный состав гликопротеинов глубинной культуры *L. edodes*

Аминокислота, мг/г	Эндогликопротеины		Экзогликопротеины	
	штамм 19	штамм 25	штамм 19	штамм 25
Лиз	2.95	3.45	2.81	2.45
Гис	0.62	1.52	1.37	1.67
Арг	3.71	3.43	1.73	2.32
Асп	6.20	8.17	8.57	10.20
Тре	3.82	4.18	7.90	8.52
Сер	4.15	5.42	8.23	7.63
Глу	9.24	9.70	10.83	12.30
Про	2.56	2.13	3.48	4.55
Гли	2.58	3.65	6.34	6.01
Ала	3.61	4.50	5.39	6.11
Цис	2.61	2.34	3.00	5.40
Вал	2.78	4.32	4.43	5.38
Мет	1.78	1.65	1.51	1.92
Иле	1.66	2.30	3.48	3.67
Лей	3.93	4.28	7.01	7.28
Тир	1.32	1.10	6.55	2.79
Фен	2.10	2.75	4.27	4.10
Всего	55.62	64.89	86.9	92.3

Таблица 4

Аминокислотный состав гликопротеинов гриба *L. edodes*, выращенного поверхностным способом

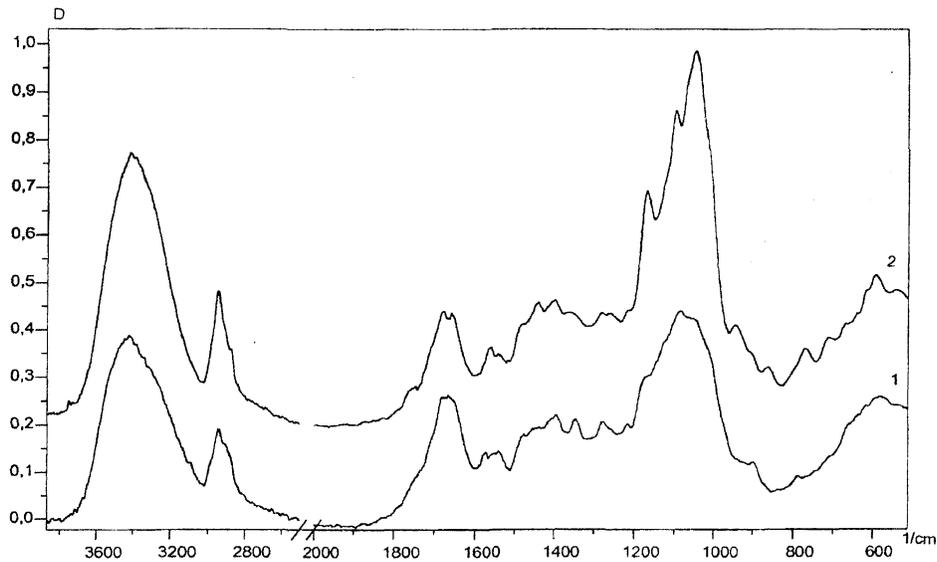
Аминокислота, мг/г	Эндогликопротеины	
	штамм 19	штамм 25
Лиз	2.64	1.78
Гис	1.23	0.28
Арг	2.12	2.15
Асп	1.47	3.79
Тре	1.50	0.60
Сер	1.32	1.39
Глу	3.72	2.09
Про	2.00	1.22
Гли	2.26	1.53
Ала	3.10	1.34
Цис	1.61	0.76
Вал	2.90	1.10
Мет	1.15	0.18
Иле	2.55	0.66
Лей	1.93	1.13
Тир	2.25	0.31
Фен	1.30	0.44
Всего	35.11	20.75



Белковая часть выделенных лектинов *L. edodes* штамма F-249 составляет – 96.7% (непигментированный мицелий), 81.9% (коричневая мицелиальная пленка) и 80.2% (плодовое тело). В составе белка 17 аминокислот: асп, тре, сер, глут, про, гли, ала, вал, мет, иле, лей, тир, фен, гис, лиз, арг, три и следовые количества цистина. В больших количествах присутствует сер (7.5%), гли (10%), тре (13%), про и вал (7.3 и 7.5%).

### ИК-спектроскопия препаратов гликопротеинов. Определение структуры и конфигурации экзо- и эндогликопротеинов.

Для определения строения гликопротеинов анализировали их ИК-спектры. Исследованы гликопротеины, выделенные из глубинного мицелия и культуральной жидкости. На рисунке представлены ИК-спектры эндо- и экзогликопротеинов гриба *L. edodes* 19.



ИК-спектры экзо- (1) и эндогликопротеинов (2), выделенных из глубинного мицелия и КЖ гриба *L. edodes* 19

Наиболее сильные полосы находятся в области  $3400\text{ см}^{-1}$ . Их следует рассматривать как проявление валентных колебаний  $\text{OH}$ -групп. В обоих образцах  $\text{OH}$ -группы включены в меж- и внутримолекулярные водородные связи, о чём свидетельствует смещение максимума в область меньших волновых чисел относительно максимума поглощения свободного гидроксила ( $3615\text{ см}^{-1}$ ). Полоса  $2940\text{ см}^{-1}$  с плечом в коротковолновой области говорит о проявлении колебаний  $\text{CH}_2$ -групп.

Полосу  $1550\text{ см}^{-1}$ , присутствовавшую в ИК-спектрах обоих образцов, можно однозначно отнести к колебаниям  $\text{=NH}$ -групп. Степень аминирования в эндогликопротеине (образец 2) выше, чем в экзогликопротеине (1). Полоса поглощения при  $1550\text{ см}^{-1}$  является подтверждением того, что оба гликопротеина содержат азот (белок) и относятся к пептидогликанам.

Наличие полосы при  $1415\text{ см}^{-1}$  (симметричные колебания групп  $\text{COOH}$ ) указывает на кислый характер обоих полисахаридов.

Самой главной областью является  $1200\text{--}800\text{ см}^{-1}$  – область «отпечатков пальцев углеводов». В обоих образцах присутствовали полосы, свойственные деформационным колебаниям  $\text{C-C}$ -,  $\text{C-O}$ -,  $\text{CH}$ - и  $\text{OH}$ - групп. В ИК-спектре эндогликопротеина (2) присутствует интенсивная полоса в области  $1150\text{ см}^{-1}$ , которая обусловлена колебанием связи  $\text{C-O}$  при втором углеродном атоме кольца ( $\text{C}_2\text{-O}$ ).

Для образца 1 (экзогликопротеин) наиболее интенсивной полосой в области  $1200\text{--}800\text{ см}^{-1}$  является пик  $1070\text{--}1075\text{ см}^{-1}$ , что присуще таким биополимерам как хитин и хитозан. Для образца 2 наиболее сильная полоса в этом диапазоне –  $1020\text{ см}^{-1}$ , характеризующая присутствие остатков уроновых кислот. В аномерном регионе ( $800\text{--}900\text{ см}^{-1}$ )



присутствуют полосы, характеризующие тип и направление связей. Полосы  $940-945\text{ см}^{-1}$  и  $850-860\text{ см}^{-1}$  в спектре эндогликопротеина (2) однозначно указывает на  $\alpha$ -аномерный тип связи. Плечо при  $890-900\text{ см}^{-1}$  говорит и о наличии в этом образце  $\beta$ -связей. Следовательно, можно считать, что в образце 2 одновременно присутствуют и  $\alpha$ -(1→4) и  $\beta$ -(1→3)-связи. В спектре экзогликопротеина (1) присутствует только полоса  $890-900\text{ см}^{-1}$ , однозначно указывающая на  $\beta$ -тип связи  $\beta$ -(1→3).

На основании проведенных исследований можно считать, что эндо- и экзогликопротеины, синтезируемые грибом *L. edodes* 19, являются пептидогликанами. Экзогликопротеин – глюкан с  $\beta$ -(1→3)-связью. Эндогликопротеин – смесь глюканов с  $\alpha$ -(1→4) и  $\beta$ -(1→3)-связями.

Аналогичные ИК-спектры имеют гликопротеины *L. edodes* 25.

Таким образом, ИК-спектры экзо- и эндогликопротеинов гриба обнаружили большое сходство между собой. Эндогликопротеин *L. edodes* – гликан с  $\alpha$ - и  $\beta$ -типом гликозидных связей, в экзогликопротеине присутствует только  $\beta$ -гликозидная связь.

Как следует из данных табл. 5, при периодатном окислении с последующим боргидридным восстановлением гликопротеинов потребляется периодат натрия и образуется муравьиная кислота, а продуктами гидролиза восстановленных гликопротеинов являлись глицерин, эритрит и непрогидролизованый остаток гликопротеинов. При проведении жесткого гидролиза гликопротеинов основным компонентом гидролизатов являлась интактная глюкоза, что указывает на наличие (1→3)-связи в основной цепи полимеров. Наличие в продуктах гидролиза эритрита указывает на присутствие (1→4)-связей, а образование глицерина и муравьиной кислоты при окислении – (1→6)-связей.

Таблица 5

Результат периодатного окисления полисахаридов *L. edodes*

Фракции полисахаридов	Расход периодата, моль/моль ангидрогексоз	Образование формиата, моль/моль ангидрогексоз	Продукты гидролиза	Тип связи в боковых цепях
<i>L. edodes</i> 19				
Экзогликопротеин	1.7	0.9	эритрит	1-4
Эндогликопротеин	0.4	0.1	глицерин, эритрит	1-4; 1-6*
<i>L. edodes</i> 25				
Экзогликопротеин	1.5	0.6	эритрит	1-4
Эндогликопротеин	0.2	0.2	глицерин, эритрит	1-4; 1-6*

Примечание: \* – незначительное количество.

Таким образом установлено, что гликопротеины *L. edodes* являются разветвленными структурами. Боковые цепи эндогликопротеинов содержат преимущественно  $C_1-C_4$  гликозидные связи и небольшое количество  $C_1-C_6$  связей, а экзогликопротеины содержат только  $C_1-C_4$  связи в боковых цепях молекул гликанов. Изучение абсолютной конфигурации моносахаридов, входящих в состав гликопротеинов гриба, показало, что все они относятся к D-ряду (D- глюкоза, D- манноза и D- галактоза).

Экзо- и эндогликополимеры гриба являются гликопротеинами с содержанием белка от 2.0 до 9.2% и с преобладающим мономером

глюкозой. Показано, что способ культивирования оказывает определенное влияние на строение образуемых *L. edodes* экзо- и эндогликопротеинов.

На основании исследования структуры гликопротеинов с использованием ИК-спектроскопии и деградации по Смитсу установлено, что углеводная часть экзо- и эндогликопротеинов представлена разветвленными гликанами, содержащими  $\alpha$ - и  $\beta$ -гликозидные связи, основная цепь представлена гликанами с  $C_1 \rightarrow C_3$ , боковые цепи – гликанами с  $C_1 \rightarrow C_4$  и  $C_1 \rightarrow C_6$  гликозидными связями.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 06-04-81042 Бел\_а).



### Библиографический список

1. Ву Т. Благоприятные лечебные эффекты экзотических съедобных грибов // Бюл. МАГ. 1996. С.12–17.
2. Bender S., Lonergan G.T., Backhaus J., Cross R.F., Dumitrac-Anghel C.N. The antibiotic activity of the edible and medicinal mushroom *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. // Intern. J. Medicinal Mushrooms. 2001. Vol.3. P.118.
3. Белова Н.В. Перспективы использования биологически активных соединений высших базидиомитетов в России // Микол. и фитопатол. 2004. Т.38, вып.2. С.1–7.
4. Tang Y.J., Zhong J.J. Fed-batch fermentation of *Ganoderma lucidum* for hyperproduction of polysaccharide and ganoderic acid // Enzyme and Microbial Technology. 2002. Vol. 31. P.20–28.
5. Грушенко М.М. Совместное использование фенол-серноокислотного и толуидинового способов определения сахаров как метод изучения углеводного состава лигноуглеводного комплекса // Лигноуглеводные комплексы древесины. Рига, 1978. С.32–35.
6. Babitskaya V.G., Scherba V.V., Mitropolskaya N.Y. Exopolysaccharides of some medicinal mushrooms: production and composition // Intern. J. Medicinal Mushrooms. 2000. Vol.2. P.51–54.
7. Lowry O.M. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. №193. P.265–275.
8. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. Vol.72, №1–2. P.248–254.
9. Бробст К.М. Методы исследования углеводов / Под ред. А.Я. Хорлина. М., 1975. 445 с.
10. Gutiérrez A., Prieto A., Martínez A.T. Structural characterization of extracellular polysaccharides produced by fungi from the genus *Pleurotus* // Carbohydrate Research. 1996. Vol.281. P.143–154.
11. Mizuno T. The extraction and development of antitumour-active polysaccharides from medicinal mushrooms // Intern. J. Medicinal Mushrooms. 1999. Vol.1, №1. P.9–29.

УДК 577. 124

## ОЦЕНКА ПЕРСПЕКТИВНЫХ СОРТОВ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ ПО СОДЕРЖАНИЮ ЛЕКТИНА

Н.И. Старичкова, Е.В. Надкерничная\*, Л.И. Крапивина\*\*,  
Н.В. Безверхова, Л.П. Антонюк\*\*

Саратовский государственный университет

E-mail: biofak@sgu.ru

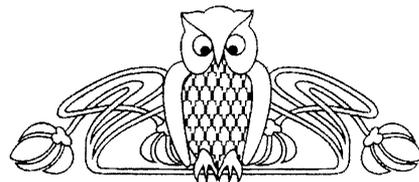
\*Институт сельскохозяйственной микробиологии Украинской академии аграрных наук

E-mail: yugb@rambler.ru

\*\*Учреждение Российской академии наук

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН

E-mail: Ant306@ibppm.sgu.ru



Для получения более полных сведений о функциях лектина пшеницы (агглютинина зародышей, АЗП) актуальным стало выявление сортов, резко контрастных по содержанию данного белка. С этой целью была оценена сортовая вариабельность АЗП в семенах 33 сортов яровой пшеницы, выведенной в двух разных селекционных центрах: Саратовском и Харьковском. Кроме того, оценивали модификационную изменчивость пластичного сорта Саратовская 29. Установлено, что наибольшая вариабельность по содержанию лектина характерна для сортов мягкой пшеницы саратовской селекции. Так как у вегетирующих растений АЗП принимает участие в адаптации к стрессам и взаимодействует с корневой микрофлорой, предполагается, что высокая сортовая вариабельность признака у саратовских пшениц связана с более континентальным климатом, в котором велась селекция.

**Ключевые слова:** пшеница, лектин, агглютинин зародышей пшеницы, изменчивость.

### Estimation of Perspective Varieties of Spring Wheat on the Lectin Content

N.I. Starichkova, E.V. Nadkernichnaya, L.I. Krapivina,  
N.V. Bezverkhova, L.P. Antonyuk

For field experiments in an effort to elucidate functions of the wheat lectin (wheat germ agglutinin, WGA), the establishment of varieties sharply contrasting in the lectin content is very important. As the starting point for solution of this problem we studied the WGA vari-

ability in the seeds of 33 spring wheat varieties obtained in two different breeding centers: Saratov's and Kharkov's those. The variability in response to environment for Saratovskaya 29 was also estimated. It was found that the maximal variability in the WGA seed content is intrinsic to varieties of soft wheat originated from Saratov's breeding center. WGA is known to involve in the wheat adaptation to stresses and to interact with root microflora; taking into account this fact we propose that the high variability of wheats from Saratov region is associated with more continental climate in which the breeding of the tested varieties was performed.

**Key words:** wheat, lectin, wheat germ agglutinin, variability.

Пшеница занимает самые большие посевные площади в мировом земледелии. Неудивительно, что эта культура вызывает большой интерес исследователей; по пшеницам накоплен обширный массив экспериментальных данных, в том числе и по белкам зерновки [1–5]. Тем не менее многие вопросы остаются до сих пор неисследованными; в частности, пока не получены строгие доказательства функций одного из белков – агглютинина зародышей пшеницы (АЗП).



### Библиографический список

1. Ву Т. Благоприятные лечебные эффекты экзотических съедобных грибов // Бюл. МАГ. 1996. С.12–17.
2. Bender S., Lonergan G.T., Backhaus J., Cross R.F., Dumitrac-Anghel C.N. The antibiotic activity of the edible and medicinal mushroom *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. // Intern. J. Medicinal Mushrooms. 2001. Vol.3. P.118.
3. Белова Н.В. Перспективы использования биологически активных соединений высших базидиомитетов в России // Микол. и фитопатол. 2004. Т.38, вып.2. С.1–7.
4. Tang Y.J., Zhong J.J. Fed-batch fermentation of *Ganoderma lucidum* for hyperproduction of polysaccharide and ganoderic acid // Enzyme and Microbial Technology. 2002. Vol. 31. P.20–28.
5. Грушенко М.М. Совместное использование фенол-серникоксидного и толуидинового способов определения сахаров как метод изучения углеводного состава лигноуглеводного комплекса // Лигноуглеводные комплексы древесины. Рига, 1978. С.32–35.
6. Babitskaya V.G., Scherba V.V., Mitropolskaya N.Y. Exopolysaccharides of some medicinal mushrooms: production and composition // Intern. J. Medicinal Mushrooms. 2000. Vol.2. P.51–54.
7. Lowry O.M. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. №193. P.265–275.
8. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. Vol.72, №1–2. P.248–254.
9. Бробст К.М. Методы исследования углеводов / Под ред. А.Я. Хорлина. М., 1975. 445 с.
10. Gutiérrez A., Prieto A., Martínez A.T. Structural characterization of extracellular polysaccharides produced by fungi from the genus *Pleurotus* // Carbohydrate Research. 1996. Vol.281. P.143–154.
11. Mizuno T. The extraction and development of antitumour-active polysaccharides from medicinal mushrooms // Intern. J. Medicinal Mushrooms. 1999. Vol.1, №1. P.9–29.

УДК 577. 124

## ОЦЕНКА ПЕРСПЕКТИВНЫХ СОРТОВ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ ПО СОДЕРЖАНИЮ ЛЕКТИНА

Н.И. Старичкова, Е.В. Надкерничная\*, Л.И. Крапивина\*\*,  
Н.В. Безверхова, Л.П. Антонюк\*\*

Саратовский государственный университет

E-mail: biofak@sgu.ru

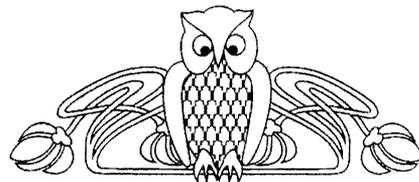
\*Институт сельскохозяйственной микробиологии Украинской академии аграрных наук

E-mail: yugb@rambler.ru

\*\*Учреждение Российской академии наук

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН

E-mail: Ant306@ibppm.sgu.ru



Для получения более полных сведений о функциях лектина пшеницы (агглютинина зародышей, АЗП) актуальным стало выявление сортов, резко контрастных по содержанию данного белка. С этой целью была оценена сортовая вариабельность АЗП в семенах 33 сортов яровой пшеницы, выведенной в двух разных селекционных центрах: Саратовском и Харьковском. Кроме того, оценивали модификационную изменчивость пластичного сорта Саратовская 29. Установлено, что наибольшая вариабельность по содержанию лектина характерна для сортов мягкой пшеницы саратовской селекции. Так как у вегетирующих растений АЗП принимает участие в адаптации к стрессам и взаимодействует с корневой микрофлорой, предполагается, что высокая сортовая вариабельность признака у саратовских пшениц связана с более континентальным климатом, в котором велась селекция.

**Ключевые слова:** пшеница, лектин, агглютинин зародышей пшеницы, изменчивость.

### Estimation of Perspective Varieties of Spring Wheat on the Lectin Content

N.I. Starichkova, E.V. Nadkernichnaya, L.I. Krapivina,  
N.V. Bezverkhova, L.P. Antonyuk

For field experiments in an effort to elucidate functions of the wheat lectin (wheat germ agglutinin, WGA), the establishment of varieties sharply contrasting in the lectin content is very important. As the starting point for solution of this problem we studied the WGA vari-

ability in the seeds of 33 spring wheat varieties obtained in two different breeding centers: Saratov's and Kharkov's those. The variability in response to environment for Saratovskaya 29 was also estimated. It was found that the maximal variability in the WGA seed content is intrinsic to varieties of soft wheat originated from Saratov's breeding center. WGA is known to involve in the wheat adaptation to stresses and to interact with root microflora; taking into account this fact we propose that the high variability of wheats from Saratov region is associated with more continental climate in which the breeding of the tested varieties was performed.

**Key words:** wheat, lectin, wheat germ agglutinin, variability.

Пшеница занимает самые большие посевные площади в мировом земледелии. Неудивительно, что эта культура вызывает большой интерес исследователей; по пшеницам накоплен обширный массив экспериментальных данных, в том числе и по белкам зерновки [1–5]. Тем не менее многие вопросы остаются до сих пор неисследованными; в частности, пока не получены строгие доказательства функций одного из белков – агглютинина зародышей пшеницы (АЗП).



АЗП – лектин (т.е. белок, способный обратимо и специфично связываться с простыми углеводами и углеводными фрагментами сложных молекул), причем лектин высококонсервативный: АЗП-подобные (иммунохимически родственные АЗП) лектины обнаружены у 90 видов злаков [6]. Мягкие пшеницы (*Triticum aestivum*), занимающие наибольшие посевные площади, имеют гексаплоидный геном, образованный слиянием трех геномов – А<sup>u</sup>, В и D; и поскольку АЗП состоит из двух одинаковых субъединиц, растения мягкой пшеницы могут содержать 6 изолектинов, характеризующихся 93–95-процентной идентичностью по нуклеотидным и аминокислотным последовательностям [7–8]. В твердых пшеницах (*T. durum*, геном А<sup>u</sup>В) АЗП представлен также несколькими изоформами, однако изоформный состав лектина вряд ли жестко связан с его функцией. АЗП, независимо от числа изоформ, является хитинспецифичным лектином, т.е. связывается с N-ацетил-D-глюкозамином, его олигомерами или полимером – хитином. Известно, что функции данного лектина связаны с его специфичностью.

АЗП впервые обнаружен и выделен из зародышей пшеницы (что и предопределило его название), однако этот белок присутствует в растениях на протяжении всего онтогенеза и, как оказалось, важен для нормального роста растения и его адаптации к биотическим и абиотическим факторам внешней среды [6, 9]. Известно, что состав белков растения предопределен генетически, однако уровень синтеза того или иного белка в семенах пшеницы зависит от многих факторов, в том числе и от условий питания растения, на котором сформированы анализируемые семена [10]. Аналогичные закономерности имеют место и в случае взрослых растений пшеницы [11].

Важной особенностью АЗП является то, что он экскретируется корнями в местах наибольшего скопления микробов [6, 9], в частности азоспирилл. Накоплено много экспериментальных данных, свидетельствующих о том, что лектин пшеницы в естественных условиях вовлечен в несколько жизненно важных для растения процессов. Во-первых,

он принимает участие в ответе растения на стрессы, в частности, в формировании состояния неспецифической устойчивости к стрессам [6, 12]. Во-вторых, этот белок взаимодействует с грибами-патогенами, препятствуя колонизации и заражению растения [6, 13]. И наконец, лектин пшеницы взаимодействует с рост-стимулирующими ризобактериями. Предполагается, что он способствует как колонизации растения полезными для него микробами, так и формированию устойчивых и эффективных фитосимбиозов, по крайней мере с азоспириллами [9, 12, 15].

Важно получить прямые доказательства хотя бы одной из предполагаемых функций АЗП, что, как оказалось, связано с большими методическими трудностями. Это обусловлено в первую очередь невозможностью получения безлектиновых мутантов пшениц: подобные попытки оказываются безуспешными, видимо, из-за летальности мутации. Реализовать подходы, связанные с ингибированием углеводсвязывающих сайтов лектина, также не удастся – растение почти немедленно отвечает на подобные попытки резким увеличением синтеза лектина. В связи с этим большое значение приобретает создание наборов образцов семян, близких генетически (или генетически идентичных), но значительно различающихся по содержанию АЗП. Это, в свою очередь, ставит задачу оценки сортов пшеницы по признаку «содержание АЗП». Так как симбиоз растений пшеницы с его корневой микрофлорой формируется в самом начале вегетационного периода, целесообразно оценивать уровень лектина не только в семенах, но и в проростках.

#### Материалы и методы

Материалом для исследования служили сорта мягких и твердых пшениц саратовской селекции (предоставленные сотрудниками Института сельского хозяйства Юго-Востока, г. Саратов) и украинской селекции (Институт растениеводства им. В.Я. Юрьева, г. Харьков). Все использованные в работе сорта приведены в табл. 1 и 2. Содержание АЗП в семенах и проростках пшеницы оценивали по биологической активности этого лектина – его способности агглютинировать



Таблица 1

**Вариабельность признака «содержание АЗП»  
у сортов яровой пшеницы саратовской селекции**

Сорт пшеницы	Титр РГА
Мягкая пшеница	
Саратовская 29	1 : 1024
Саратовская 33	1 : 416
Саратовская 36	1 : 416
Саратовская 38	1 : 181
Саратовская 39	1 : 181
Саратовская 42	1 : 223
Саратовская 44	1 : 416
Саратовская 45	1 : 223
Саратовская 46	1 : 3104
Саратовская 48	1 : 416
Саратовская 49	1 : 223
Саратовская 50	1 : 362
Саратовская 51	1 : 832
Саратовская 52	1 : 6208
Саратовская 54	1 : 416
Саратовская 210	1 : 416
Альбидум 43	1 : 223
Твердая пшеница	
Саратовская 40	1 : 416
Саратовская 41	1 : 223
Саратовская 47	1 : 119
Саратовская 53	1 : 832
Гордеиформе 432	1 : 832
Мелянопус 26	1 : 832
Саратовская 29, выращенная в разных условиях	
Саратовская 29 (богара)	1 : 36
Саратовская 29 (+ орошение)	1 : 80
Саратовская 29 (+ орошение + NPK)	1 : 512

Таблица 2

**Вариабельность признака «содержание АЗП»  
у сортов яровой пшеницы украинской селекции**

Сорт пшеницы	Титр РГА
Мягкая пшеница	
Скороспелка	1 : 16
Героиня	1 : 20
Харьковская 26	1 : 12
Этюд	1 : 32
Ранняя 93	1 : 12
Варяг	1 : 32
Твердая пшеница	
Харьковская 27	1 : 64
Чало	1 : 36
Спадщина	1 : 128
Мелянопус 69	1 : 64

эритроциты кроликов. В реакции гемагглютинации (РГА) анализировали экстракты семян и проростков пшеницы. При работе с сортами саратовской селекции в РГА использовали трипсинозированные эритроциты кролика, в случае сортов украинской селекции использовали нативные, т.е. не обработанные трипсином, эритроциты кролика. Данный биотест, как известно [7], является высокочувствительным для АЗП и выявляет до 5 мкг этого лектина в образце. Оба варианта РГА по чувствительности отличаются незначительно, что позволяет использовать оба варианта метода.

Экстракт из семян получали следующим образом: целое зерно с неповрежденным зародышем размалывали на лабораторной мельнице, к навеске полученного шрота добавляли 0.05N HCl и оставляли на несколько часов для экстракции, которую проводили при встряхивании; экстракты осветляли центрифугированием, pH доводили до нейтрального с использованием NaOH.

Проростки получали из поверхностно стерилизованных семян пшеницы сорта Саратовская 29, которые проращивали в чашках Петри (на фильтровальной бумаге, смоченной дистиллированной водой) в термостате в течение 4 сут при 24°C. Замороженные корни растирали в ступке, лектин из корней экстрагировали 0.05N HCl, в которую были добавлены ЭДГА и аскорбиновая кислота до конечных концентраций 5 мМ. Экстракты осветляли центрифугированием и подщелачивали до pH 7.5.

РГА проводили в иммунологических планшетах с U-образными лунками. В лунки вносили 2-процентную суспензию нативных или обработанных трипсином эритроцитов кролика, фосфатно-солевой буфер и анализируемый экстракт в последовательных двукратных разведениях. Результаты РГА оценивали визуально после двух часов инкубации планшетов при комнатной температуре. О лектиновой активности в экстрактах судили по конечному разведению экстракта, вызывающего реакцию гемагглютинации. Данные представлены в виде среднего из трех или более повторностей.



## Результаты и их обсуждение

Как видно из представленных в табл. 1 данных, сорта мягкой пшеницы значительно различались по содержанию лектина в семенах. В коллекции протестированных сортов *T. aestivum* можно выделить три группы: с высоким, низким и средним содержанием лектина. Группа пшениц с высоким уровнем содержания АЗП в семенах включает 3 сорта, это – Саратовская 29, Саратовская 46 и Саратовская 52. У трех вышеупомянутых сортов в АЗП-содержащих экстрактах, разбавленных в 1000 раз и выше, еще выявляется гемагглютинирующая активность этого белка (см. табл. 1). Наименьший уровень содержания лектина был выявлен у сортов Саратовская 38 и Саратовская 39: в экстрактах, разведенных в среднем более чем в ~180 раз, лектиновая активность в случае этих сортов уже не выявлялась. Остальные 12 сортов занимают промежуточное положение по содержанию АЗП в семенах – средние конечные разведения экстрактов, выявляющие тестируемый белок, колебались в этой группе между значениями 1 : 223 и 1 : 832. Важно отметить отсутствие резких границ между группой сортов со средним уровнем содержания АЗП, с одной стороны, и группами с низким или высоким содержанием лектина, с другой. Проведенный нами анализ показал, что генотипическая вариабельность признака «содержание лектина пшеницы» у яровых мягких пшениц саратовской селекции исключительно высока: максимальные и минимальные значения этого признака имеют более чем 30-кратные отличия.

Несколько иную картину генетической вариабельности признака наблюдали в группе сортов твердой пшеницы, которая была значительно меньше первой и включала 6 сортов (см. табл. 1). Половина проанализированных сортов (Саратовская 53, Гордеиформе 432 и Мелянопус 26) имела одинаковый и относительно высокий уровень АЗП: максимальное разведение экстракта, при котором лектин еще выявлялся, составляло 1 : 832. Точно такой же уровень лектина имел один из сортов мягкой пшеницы – Саратовская 51. Остальные три сорта *T. durum* имели более низкое содержание лектина в зерновках (см. табл. 1). Сорт Саратовская 47, как оказалось,

имел самый низкий уровень АЗП среди всех 23 сортов саратовской селекции: лектиновая активность в его зерновках выявлялась при разведении экстракта в среднем не выше 1 : 119.

Как уже упоминалось, АЗП присутствует в растении на протяжении всего онтогенеза и важен для адаптации растений пшеницы к стрессовым факторам биотического и абиотического происхождения [6, 9]. В связи с этим представляет интерес оценка его содержания в проростках, т.е. на том этапе онтогенеза, когда формируется корневая микрофлора растения (предполагают, что экскретуемый и находящийся на поверхности корня АЗП важен для формирования микробиоценоза корня).

Для оценки содержания этого углеводсвязывающего белка в проростках был взят сорт Саратовская 29, генотип которого предопределяет достаточно высокое содержание АЗП в семенах (см. табл. 1, верхняя строка). Мы анализировали проростки, полученные из семян сорта Саратовская 29 урожая 1997 г., достаточно благоприятного по климатическим условиям. Отдельно тестировали на содержание лектина проростки, полученные из семян трех типов (одного и того же сорта). В первом случае зерновки пшеницы сформировались на растениях пшеницы, которые росли в естественных климатических условиях. Кроме того, были проанализированы семена, сформированные на двух соседних делянках, на одной из которых растения поливались, а на второй – поливались и удобрялись (N, P и K – 120, 100 и 60 кг действующего вещества на га соответственно).

Как видно из полученных данных (см. табл. 1, три нижние строки), чем благоприятнее были условия, в которых формируется покоящая стадия растения пшеницы (зерновка), тем выше уровень АЗП в проростках пшеницы следующей генерации. Так, в случае наиболее благоприятных условий, когда растения и орошались, и удобрялись, содержание АЗП в корнях 4-суточных проростков было на порядок выше, чем в корнях проростков, полученных из семян, сформированных на контрольных растениях (т.е. без удобрения и орошения). Важно отметить, что полученные нами данные хорошо согласуются с данными австралийских ученых [10] и



позволяют предположить высокий уровень модификационной изменчивости по АЗП различных видов пшениц. Интересно, что у пшениц белки, даже совпадающие по тканевой локализации, но различные по выполняемой ими функции, отличаются по уровню модификационной изменчивости [16].

Проведенный анализ показал, что сорта твердых пшениц украинской селекции в целом содержат больше лектина в семенах по сравнению с мягкими пшеницами (см. табл. 2). Так, в случае твердых сортов максимальное разведение экстракта, в котором еще выявлялся лектин, колебалось между 1:36 и 1:128, в то время как аналогичный диапазон для мягких пшениц был от 1:12 до 1:32. В целом генотипическая вариабельность признака в выборках мягких и твердых пшениц украинской селекции была ниже, чем в случае саратовских. Так, превышение максимального значения над минимальным в случае твердых пшениц составило 3.5, а в случае мягких – 2.7.

Меньшая генетическая вариабельность признака «содержание лектина пшеницы», обнаруженная у украинских сортов по сравнению с саратовскими, возможно, связана с меньшей выборкой, взятой для анализа. Однако это, безусловно, не единственная причина, так как при равенстве выборок: 6 сортов твердой пшеницы саратовской селекции и 6 сортов мягкой пшеницы украинской селекции – превышение максимального значения над минимальным в первом случае (саратовские сорта) было 7-кратным, а во втором – в половину ниже (аналогичный показатель – 3.5).

Насколько нам известно, в селекционных программах создания сортов пшениц никогда не производилось отбора по такому признаку, как содержание АЗП в семенах (проростках, взрослых растениях). Это связано, в первую очередь, с тем обстоятельством, что лектин пшеницы не имеет прямого отношения к качеству хлеба – продукта, ради которого и возделывается человеком данная культура, а вклад этого белка в «здоровье» растения (а значит, в конечном счете и в продуктивность) пока строго не доказан. Проведенное недавно исследование спектра белков, содержащихся в муке пшеницы сортов Саратовская 29 и Акмолинка 1 показало, что

на уровень содержания того или иного белка зерновки существенное влияние оказывают климатические условия [11]. Так, одна и та же партия семян, прошедшая генерацию в более континентальном климате (Казахстан), имела в семенах следующего поколения сниженное количество двух групп низкомолекулярных белков и повышенное – группы относительно высокомолекулярных белков (по сравнению с семенами, полученными в условиях менее континентального климата). Роль условий произрастания была выявлена и в другом исследовании [17].

Сопоставление полученных данных с вышеупомянутыми [11] позволяет думать, что одной из причин большей вариабельности сортов пшеницы по признаку «содержание АЗП» является географическое положение селекционных центров, в которых были получены протестированные нами сорта. Так как АЗП – белок, индуцируемый разнообразными стрессами [6], то более континентальный, т.е. более богатый стрессами климат должен давать и большую вариабельность этого признака. Поскольку задача получения образцов семян, контрастных по содержанию АЗП (различающихся друг с другом в десятки раз) остается исключительно важной для получения убедительных результатов о функциях лектина пшеницы, это обстоятельство необходимо учитывать при создании исходной коллекции для тестирования пшениц по содержанию АЗП.

#### Выводы

Анализ 33-х сортов яровой пшеницы по содержанию АЗП показал, что наибольшая вариабельность признака характерна для мягких пшениц саратовской селекции. Разница между сортом с максимальным уровнем этого белка (Саратовская 52) и минимальным (Саратовская 38 или Саратовская 39) была более чем 30-кратной.

При создании наборов образцов семян пшеницы, значительно различающихся по содержанию АЗП, рекомендуется использовать большие выборки сортов (не менее 17–20 сортов), полученных в селекционных центрах с возможно более континентальным климатом.

Обнаружен высокий уровень модификационной изменчивости по признаку «содер-



жание лектина пшеницы», характерный, по крайней мере, для одного сорта яровой мягкой пшеницы – Саратовская 29. Целесообразно изучить модификационную изменчивость по этому признаку у пшениц более широко и при высоком ее уровне у других сортов использовать эту особенность пшениц для создания наборов образцов семян, контрастных по содержанию АЗП.

Благодарим доктора сельскохозяйственных наук профессора Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова Ю.В. Лобачева за предоставление семян растений пшеницы сорта Саратовская 29, выращенных в различных условиях.

#### Библиографический список

1. Дорощев В.Ф., Удачин Р.А., Семенова Л.В., Новикова М.В., Градчатинова О.Д., Шитова И.П., Мережеко А.Ф., Филатенко А.А. Пшеницы мира. Л., 1987. 560 с.
2. Конарев В.Г. Белки пшеницы. М., 1980. 351 с.
3. Бебякин В.М., Старичкова Н.И. Диаллельный анализ содержания белка в зерне яровой твердой пшеницы и генетические свойства некоторых сортов // Вестн. с.-х. науки. 1991. №10. С.91–95.
4. Бебякин В.М., Звягина Ю.Ю., Кибкало И.А., Старичкова Н.И. Изменчивость показателей гидрофобных взаимодействий в белковом комплексе клейковины и эффективность отбора по ним в селекционном питомнике // Вестн. СГАУ им. Н.И. Вавилова. 2002. №2. С.51–54.
5. Бебякин В.М., Старичкова Н.И. Фенотипическая стабильность показателей амилотической активности зерна яровой мягкой пшеницы в зависимости от генотипа // Вестн. СГАУ им. Н.И. Вавилова. 2005. №2. С.3–5.
6. Шакирова Ф.М., Безрукова М.В. Современные представления о предполагаемых функциях лектинов растений // Журн. общей биологии. 2007. Т. 68, №2. С.98–114.
7. Peumans W.J. Biochemistry, cell-biology, physiology, biosynthesis and function of gramineae lectins. Leuven, Katholike Univ. 1984.
8. Smith J.J., Raikhel N.V. Nucleotide sequences of cDNA clones encoding wheat germ agglutinin isolectins A and D // Plant Mol. Biol. 1989. Vol.13, №5. P.601–603.
9. Антонюк Л.П. Растительные лектины как факторы коммуникации в симбиозах // Молекулярные основы взаимодействия ассоциативных микроорганизмов с растениями / Под ред. В.В. Игнатова. М., 2005. С.118–159.
10. Tabe L., Hagan N., Higgins T.J. Plasticity of seed protein composition in response to nitrogen and sulfur availability // Curr. Opin. Plant Biol. 2002. Vol.5, №3. P.212–217.
11. Колпакова В.В., Молчанова Е.Н., Васильев А.В., Чумкина Л.В. Физико-химические свойства белков пшеницы, выращенной в резко контрастных климатических условиях // Прикладная биохимия и микробиология. 2007. Т.43, №3. С.382–390.
12. Бабаша А.В. Изменение содержания агглютинина зародышей пшеницы в растениях, обработанных перекисью водорода // Прикладная биохимия и микробиология. 2006. Т.42, №2. С.247–251.
13. Хайруллин Р.М. Роль анионных пероксидаз и агглютинина зародыша в реакциях пшеницы на грибную инфекцию: Дис. ... д-ра биол. наук. Казанский институт биохимии и биофизики РАН. Казань, 2001. 292 с.
14. Антонюк Л.П., Игнатов В.В. О роли агглютинина зародышей пшеницы в растительно-бактериальном взаимодействии: гипотеза и экспериментальные данные в ее поддержку // Физиология растений. 2001. Т.48, №3. С.427–433.
15. Bashan Y., Holguin G., de-Bashan L.E. Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997–2003) // Canadian Journal of Microbiology. 2004. Vol.50, №8. P.521–577.
16. Антонюк Л.П., Евсеева Н.В. Лектин пшеницы как фактор растительно-микробной коммуникации и белок стрессового ответа // Микробиология. 2006. Т.75, №4. С.544–549.
17. Бебякин В.М., Старичкова Н.И., Дорогобед А.А. Качество зерна пшеницы в зависимости от сорта и условий произрастания // Зерновое хозяйство. 2003. №3. С.22–24.

УДК 579.222.2:579.252.5

## АКТИВНОСТЬ ДЕГИДРОГЕНАЗ В НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВАХ КАК ИНСТРУМЕНТ МОНИТОРИНГА ТЕХНОЛОГИЙ БИОРЕМЕДИАЦИИ

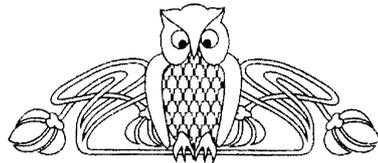
Е.В. Плешакова\*, Е.Г. Кабанцева, В.С. Черновол

Саратовский государственный университет

E-mail: biofac@sgu.ru

\* Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

E-mail: ecbio@ibppm.sgu.ru



В лабораторных экспериментах изучена динамика активности дегидрогеназ в нефтезагрязненной почве южного чернозема в процессе самоочищения и при использовании двух приемов ремедиации: стимуляции естественной микрофлоры и интродукции активного нефтеокисляющего штамма *Dietzia maris* AM3. Показано, что активность дегидрогеназ целесообразно исполь-

зовать для оценки начальных процессов биостимуляции и для мониторинга хода ремедиации при биоаугментации.

**Ключевые слова:** нефтезагрязненная почва, биоремедиация, стимуляция аборигенной микрофлоры, интродукция штамма *Dietzia maris* AM3, активность дегидрогеназ.



жание лектина пшеницы», характерный, по крайней мере, для одного сорта яровой мягкой пшеницы – Саратовская 29. Целесообразно изучить модификационную изменчивость по этому признаку у пшениц более широко и при высоком ее уровне у других сортов использовать эту особенность пшениц для создания наборов образцов семян, контрастных по содержанию АЗП.

Благодарим доктора сельскохозяйственных наук профессора Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова Ю.В. Лобачева за предоставление семян растений пшеницы сорта Саратовская 29, выращенных в различных условиях.

#### Библиографический список

1. Дорощев В.Ф., Удачин Р.А., Семенова Л.В., Новикова М.В., Градчатинова О.Д., Шитова И.П., Мережеко А.Ф., Филатенко А.А. Пшеницы мира. Л., 1987. 560 с.
2. Конарев В.Г. Белки пшеницы. М., 1980. 351 с.
3. Бебякин В.М., Старичкова Н.И. Диаллельный анализ содержания белка в зерне яровой твердой пшеницы и генетические свойства некоторых сортов // Вестн. с.-х. науки. 1991. №10. С.91–95.
4. Бебякин В.М., Звягина Ю.Ю., Кибкало И.А., Старичкова Н.И. Изменчивость показателей гидрофобных взаимодействий в белковом комплексе клейковины и эффективность отбора по ним в селекционном питомнике // Вестн. СГАУ им. Н.И. Вавилова. 2002. №2. С.51–54.
5. Бебякин В.М., Старичкова Н.И. Фенотипическая стабильность показателей амилотической активности зерна яровой мягкой пшеницы в зависимости от генотипа // Вестн. СГАУ им. Н.И. Вавилова. 2005. №2. С.3–5.
6. Шакирова Ф.М., Безрукова М.В. Современные представления о предполагаемых функциях лектинов растений // Журн. общей биологии. 2007. Т. 68, №2. С.98–114.
7. Peumans W.J. Biochemistry, cell-biology, physiology, biosynthesis and function of gramineae lectins. Leuven, Katholieke Univ. 1984.
8. Smith J.J., Raikhel N.V. Nucleotide sequences of cDNA clones encoding wheat germ agglutinin isolectins A and D // Plant Mol. Biol. 1989. Vol.13, №5. P.601–603.
9. Антонюк Л.П. Растительные лектины как факторы коммуникации в симбиозах // Молекулярные основы взаимодействия ассоциативных микроорганизмов с растениями / Под ред. В.В. Игнатова. М., 2005. С.118–159.
10. Tabe L., Hagan N., Higgins T.J. Plasticity of seed protein composition in response to nitrogen and sulfur availability // Curr. Opin. Plant Biol. 2002. Vol.5, №3. P.212–217.
11. Колпакова В.В., Молчанова Е.Н., Васильев А.В., Чумкина Л.В. Физико-химические свойства белков пшеницы, выращенной в резко контрастных климатических условиях // Прикладная биохимия и микробиология. 2007. Т.43, №3. С.382–390.
12. Бабоша А.В. Изменение содержания агглютинина зародышей пшеницы в растениях, обработанных перекисью водорода // Прикладная биохимия и микробиология. 2006. Т.42, №2. С.247–251.
13. Хайруллин Р.М. Роль анионных пероксидаз и агглютинина зародыша в реакциях пшеницы на грибную инфекцию: Дис. ... д-ра биол. наук. Казанский институт биохимии и биофизики РАН. Казань, 2001. 292 с.
14. Антонюк Л.П., Игнатов В.В. О роли агглютинина зародышей пшеницы в растительно-бактериальном взаимодействии: гипотеза и экспериментальные данные в ее поддержку // Физиология растений. 2001. Т.48, №3. С.427–433.
15. Bashan Y., Holguin G., de-Bashan L.E. Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997–2003) // Canadian Journal of Microbiology. 2004. Vol.50, №8. P.521–577.
16. Антонюк Л.П., Евсеева Н.В. Лектин пшеницы как фактор растительно-микробной коммуникации и белок стрессового ответа // Микробиология. 2006. Т.75, №4. С.544–549.
17. Бебякин В.М., Старичкова Н.И., Дорогобед А.А. Качество зерна пшеницы в зависимости от сорта и условий произрастания // Зерновое хозяйство. 2003. №3. С.22–24.

УДК 579.222.2:579.252.5

## АКТИВНОСТЬ ДЕГИДРОГЕНАЗ В НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВАХ КАК ИНСТРУМЕНТ МОНИТОРИНГА ТЕХНОЛОГИЙ БИОРЕМЕДИАЦИИ

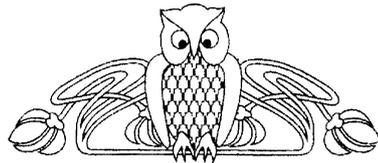
Е.В. Плешакова\*, Е.Г. Кабанцева, В.С. Черновол

Саратовский государственный университет

E-mail: biofac@sgu.ru

\* Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

E-mail: ecbio@ibppm.sgu.ru



В лабораторных экспериментах изучена динамика активности дегидрогеназ в нефтезагрязненной почве южного чернозема в процессе самоочищения и при использовании двух приемов ремедиации: стимуляции естественной микрофлоры и интродукции активного нефтеокисляющего штамма *Dietzia maris* AM3. Показано, что активность дегидрогеназ целесообразно исполь-

зовать для оценки начальных процессов биостимуляции и для мониторинга хода ремедиации при биоаугментации.

**Ключевые слова:** нефтезагрязненная почва, биоремедиация, стимуляция аборигенной микрофлоры, интродукция штамма *Dietzia maris* AM3, активность дегидрогеназ.



## Dehydrogenase Activity in Oil-Contaminated Soils as a Monitoring Instrument of Bioremediation Technologies

E.V. Pleshakova, E.G. Kabantseva, V.S. Chernovol

The dynamics of dehydrogenase activity in a southern chernozemic oil-contaminated soil during natural attenuation and by using two remediation techniques (stimulation of an indigenous microflora and introduction of active oil-oxidizing *Dietzia maris* strain AM3) was examined in laboratory experiments. It was shown that dehydrogenase activity expediently use to estimate the initial bioremediation processes and for monitoring the remediation process by bioaugmentation.

**Key words:** oil-contaminated soil, bioremediation, stimulation of an indigenous microflora, introduction of *Dietzia maris* strain AM3, dehydrogenase activity.

При использовании технологий биоремедиации нефтезагрязненных почв основным показателем их эффективности нередко служит конечный результат – ускорение процесса очистки почвы от нефтяного загрязнения. Однако уменьшение концентрации загрязнителя в почве, по которой контролируется биоремедиация, не всегда отражает снижение его токсичности для живых организмов [1, 2]. Процесс ремедиации почвы, загрязненной углеводородами, традиционно контролируется с помощью сложных и нередко дорогих химических методов [3]. В последнее время находят широкое применение методы биотестирования с использованием микроорганизмов, микроводорослей, равноресничных инфузорий, низших ракообразных, высших растений, дождевых червей и др. [4–6]. У биотестов, к сожалению, есть ряд недостатков: неразличимость токсичности исходных загрязнителей и их метаболитов; биоиндикаторный ответ не всегда коррелирует с концентрацией загрязнителя; чувствительность тестов во многом зависит от физико-химических свойств почвы (органической составляющей, пористости, pH и др.) и времени контактирования с загрязнителем [3, 7].

В связи с этим поиск показателей для мониторинга процессов биоремедиации нефтезагрязненных почв продолжается, среди них очень перспективными являются активности почвенных ферментов. Почвенные ферменты катализируют важные метаболические процессы, включая разложение органических отходов и детоксикацию ксенобиотиков, их активность определяется с высокой точностью и является устойчивым и чутким

показателем биогенности почв [8, 9]. Известно, что ни один биологический процесс не совершается без участия широко распространенных у почвенных микроорганизмов ферментов дегидрогеназ, которые катализируют реакции дегидрирования органических веществ и выполняют функцию промежуточных переносчиков водорода, таким образом, принимая непосредственное участие в разложении углеводов [10]. Было показано, что уровень их активности в почве является определенным критерием состояния почвы в отношении ее самоочищающей способности от нефтяных ингредиентов [11]. Выявлена также обратная корреляционная зависимость между активностью дегидрогеназ и содержанием нефти в почве [12].

В то же время деструкция нефти в окружающей среде – сложный многофакторный процесс, на который оказывают влияние состав, концентрация и срок действия загрязнителя, тип почвы, многообразие и изменчивость внешних факторов, под воздействием которых находится экосистема: температура, давление, влажность, состояние атмосферы и т.п. В связи с этим при восстановлении почв южного чернозема, которые преимущественно подвергаются загрязнению в Саратовской области, будет наблюдаться определенная специфика как при самоочищении, так и при использовании биотехнологий очистки. Целью наших исследований являлось изучение возможности применения показателей активности дегидрогеназ нефтезагрязненной почвы южного чернозема для контроля процессов биоремедиации.

### Методика

В экспериментах 1 и 2 использовали смешанный образец почвы южного чернозема, отобранной в Саратовской области, которую загрязняли сырой нефтью в концентрации 20 г/кг почвы. Исследования проводили в лабораторных условиях при 25–29°C, регулярной агротехнической обработке: рыхление один раз в неделю и поддержание влажности на уровне ~15%. При этом оценивали способность почвы к самоочищению и ее очистку с помощью приемов ремедиации: стимуляции и аугментации. Стимуляция аобо-



ригенного почвенного сообщества осуществлялась добавлением минерального удобрения отдельно или совместно со структуратором (древесные опилки). При аугментации штамм *Dietzia maris* AM3, выделенный нами из нефтяного шлама и идентифицированный в ВКПМ (г. Москва), интродуцировали в почву в концентрации  $1 \times 10^7$  кл/г одновременно с внесением структуратора и минерального удобрения.

Общую гетеротрофную микрофлору (ОГМ) в ходе ремедиации учитывали общепринятыми методами на МПА [13]. Угледородородокисляющие микроорганизмы (УОМ) выявляли на агаризованной минеральной среде с дизельным топливом в качестве единственного источника углерода и энергии [14]. Динамика численности интродуцированного штамма *D. maris* AM3 изучалась классическим методом подсчета его ярких кораллово-красных колоний на МПА [13], параллельно проводился твердофазный вариант иммуоферментного анализа [15]. Дегидрогеназную активность почвы определяли колориметрически по восстановлению 3,5-трифенилтетразолия хлорида до окрашенного соединения формазана [16]. Содержание углеводов нефти в почве в процессах биоремедиации определяли гравиметрически, в качестве элюента использовали тетра-хлорид углерода. Статистическая обработка проводилась с использованием программы Microsoft Excel.

#### Результаты и их обсуждение

В эксперименте 1 исследовали самоочищение нефтезагрязненной почвы и ее ремедиацию с помощью стимуляции аборигенного сообщества при внесении минерального удобрения. В качестве контроля использовали чистую почву. После внесения нефти дегидрогеназная активность в почве снизилась в 1.5 раза (рис. 1, а), что связано с ингибированием интенсивности процессов ферментативного дегидрирования нефтяными углеводородами [17]. На всем протяжении эксперимента динамика активности дегидрогеназ в чистой почве и в варианте с самоочищением была сходной. Заметно отличался вариант почвы со стимуляцией естественного сообщ-

ества. Через 14 сут дегидрогеназная активность в этой почве превышала активность в других исследуемых вариантах в 2.4 и 2.7 раза, составляя  $3.254 \text{ Н}_2/\text{г сут}^{-1}$ . Далее во всех вариантах наблюдалось снижение активности дегидрогеназ, однако в почве со стимуляцией через 30 сут все еще сохранялось превышение над активностью в других почвенных образцах.

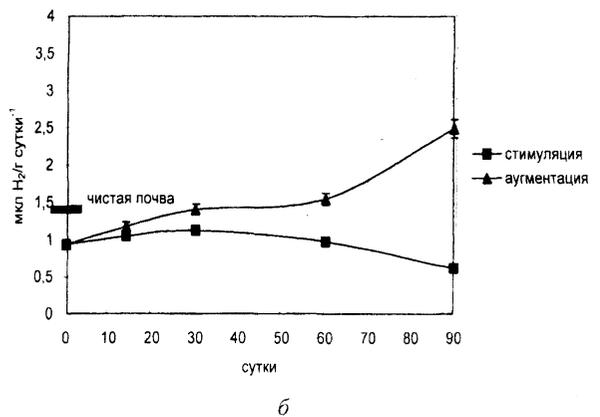
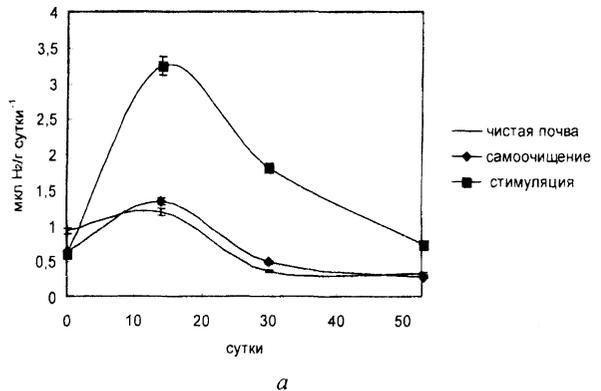


Рис. 1. Динамика активности дегидрогеназ в нефтезагрязненной почве: а – эксперимент 1; б – эксперимент 2

Микроорганизмы – основной источник продуцирования ферментов в почву. Поэтому изменения в их составе и численности, происходящие при загрязнении почвы нефтью и ее очистке, накладывают отпечаток и на активность ферментов. Но не всегда выявляется взаимосвязь, так как почвенные ферменты обладают определенной автономностью и в случае, когда окружающие условия неблагоприятны для жизнедеятельности микроорганизмов, метаболизм почвы может оставаться неизменным благодаря внеклеточной ферментативной активности.



Прием стимуляции аборигенного сообщества в нефтезагрязненной почве способствовал (рис. 2, а) увеличению численности ОГМ через 14 сут в 13 раз, через 30 сут – в 35 раз по сравнению с исходным содержанием ( $4,9 \times 10^6$  кл/г почвы). При самоочищении почвы от нефти численность ОГМ через 14 сут снижалась, вероятно, так проявлялось токсическое действие нефти на почвенный биоценоз. Через 30 сут наблюдались повышенные значения численности ОГМ, но всего лишь в 5 раз по сравнению с исходным содержанием. В контрольной чистой почве агротехнические приемы приводили к небольшому увеличению числа ОГМ на протяжении 30 сут. Далее во всех вариантах почвы численность ОГМ снижалась, достигая в конце эксперимента исходных значений.

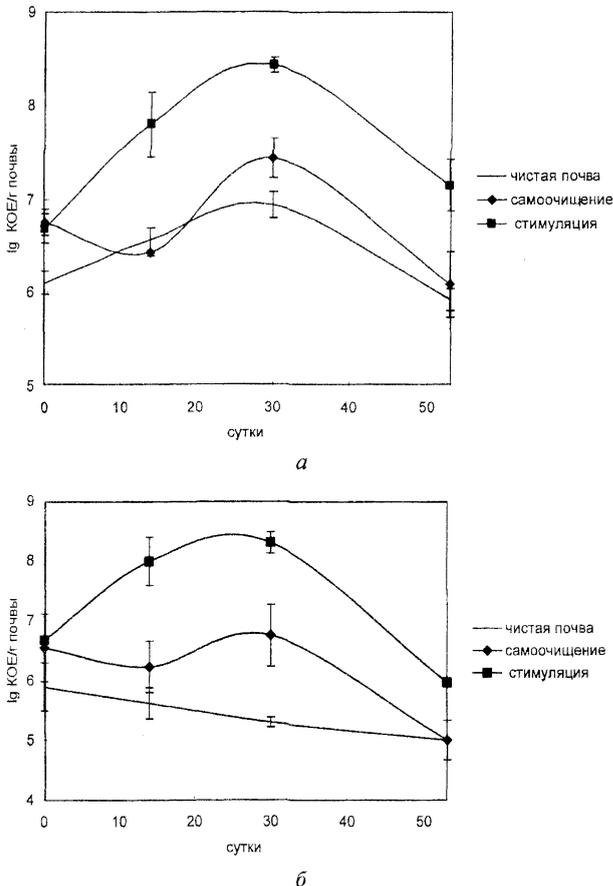


Рис. 2. Изменение численности ОГМ (а) и УОМ (б) в процессе ремедиации в эксперименте 1

Решающее значение для ремедиации почвы с нефтяным загрязнением имеет группа УОМ. Было показано (см. рис. 2, б), что в

почве при использовании технологии стимуляции происходило увеличение численности УОМ: через 14 сут – в 17 раз, через 30 сут – в 35 раз, что сравнимо с увеличением численности ОГМ в этой почве. При самоочищении группа УОМ ингибировалась нефтью через 14 сут, восстанавливала свою численность через 30 сут и после этого опять наблюдалась тенденция к уменьшению численности. В чистой почве интенсификации развития УОМ не происходило. Из приведенных результатов видно, что максимальное проявление активности дегидрогеназ, наблюдаемое через 14 сут ремедиации, коррелировало с интенсивным развитием ОГМ и УОМ в этот период. На протяжении всего этапа наблюдений установлены достоверные корреляционные взаимоотношения между численностью УОМ и активностью дегидрогеназы в варианте со стимуляцией аборигенного почвенного сообщества ( $R^2 = 0.60$ ), что свидетельствовало не только о развитии специализированной микрофлоры, но и повышении ее ферментативной активности.

В эксперименте 2 изучали эффективность применения двух способов ремедиации нефтезагрязненной почвы: стимуляции и аугментации. После внесения нефти в чистую почву дегидрогеназная активность, так же как и в эксперименте 1, снижалась: от 1.409 до 0.940 мкл  $H_2/г$  сут $^{-1}$  (см. рис. 1, б). Спустя 30 сут этот показатель в варианте со стимуляцией несколько повысился, но все равно был ниже исходного, в то время как присутствие штамма-интродуцента в почве вернуло дегидрогеназную активность к норме (см. рис. 1, б). Через 90 сут в варианте с интродуцентом она составила 2.490 мкл  $H_2/г$  сут $^{-1}$ , что в 4 раза превышало активность в почве при использовании стимуляции и в 2 раза – в исходной чистой почве.

Начало биоремедиационных мероприятий способствовало увеличению численности ОГМ (рис. 3, а). В результате стимулирующих приемов (внесение минерального удобрения совместно со структурактором) содержание ОГМ в почве достигло наивысших значений через 7 сут, увеличение происходило в 63 раза по сравнению с исходным содержанием. При интродукции нефтеокис-



ляющего штамма *D. maris* AM3 количество ОГМ максимально увеличилось через 14 сут в 220 раз по сравнению с начальным уровнем. В этот период наблюдалось также максимальное развитие штамма-интродуцента: до  $3.73 \times 10^9$  кл/г почвы, что примерно в 400 раз больше исходного уровня внесения. Через 14 сут была наиболее заметна разница в численности ОГМ между двумя вариантами очистки. После достижения максимума содержание внесенного штамма в почве к 30 сут заметно уменьшилось, и при дальнейшем постепенном снижении в конце эксперимента его численность достигла исходной концентрации. В то же время следует отметить, что титр штамма *D. maris* AM3 сохранялся на достаточно высоком уровне (около  $10^7$  кл/г почвы) до конца обработки, что свидетельствовало о жизнеспособности данного интродуцента. Количество гетеротрофных микроорганизмов также снижалось, приближаясь к начальному уровню в обоих вариантах, но до конца эксперимента в варианте с интродуцированным штаммом было несколько выше, чем при использовании стимуляции.

При изучении динамики развития УОМ в почве в ходе эксперимента 2 было показано (см. рис. 3, б), что их содержание так же, как и ОГМ, максимально увеличилось через 7 сут в случае стимуляции (на 3 порядка по сравнению с исходной чистой почвой) и через 14 сут при интродукции штамма-деструктора AM3 (на 4 порядка). Такое значительное увеличение этой группы микроорганизмов в данной почве могло быть связано как с действием свежего нефтяного загрязнения, которое, как известно [17], приводит к увеличению численности УОМ, так и с внесением стимулирующих препаратов. В этот период наблюдалась также наиболее заметная разница в содержании УОМ между вариантами обработки. Дальнейшая динамика развития УОМ была аналогична изменениям ОГМ в этих образцах.

Таким образом, присутствие штамма *D. maris* AM3 отчетливо увеличивало интенсивность дегидрогеназной активности в нефтезагрязненной почве. Повышенная активность дегидрогеназ в данной почве через 90 сут на фоне снижения численности мик-

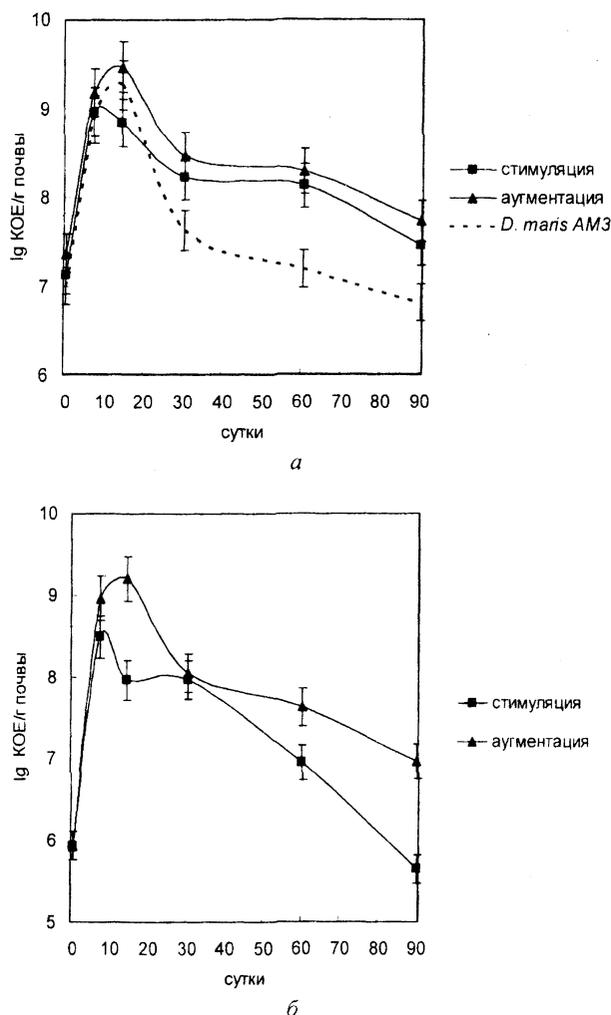


Рис. 3. Изменение численности ОГМ (а) и УОМ (б) в процессе ремедиации в эксперименте 2

роорганизмов (как интродуцента, так и аборигенных) может свидетельствовать об экскреции внутри- и внеклеточных ферментов интродуцированного штамма-деструктора в почву и сохранении в течение длительного времени своей активности.

Одновременно с изучением динамики активности дегидрогеназ в почве и развития микроорганизмов определялась убыль нефтепродуктов (рис. 4). В эксперименте 1 убыль общих нефтепродуктов при стимуляции естественного почвенного сообщества в ходе очистки была выше на 13–15%, чем при самоочищении почвы. Интродукция *D. maris* AM3 во втором эксперименте приводила к снижению содержания общих углеводов в почве на 39% за 30 сут. Стимуляция аборигенного микробного сообщества за тот же

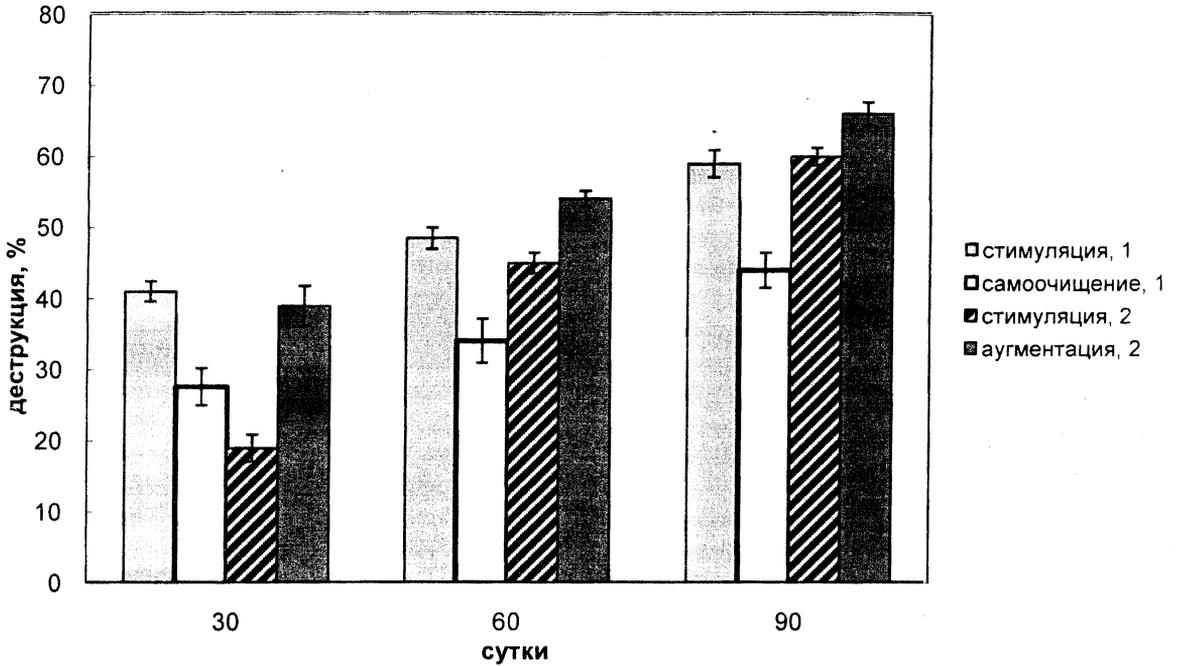


Рис. 4. Изменение содержания общих нефтепродуктов в ходе экспериментов 1 и 2

период привела к снижению содержания углеводов на 19% (см. рис. 4). Значительная разница в убыли нефти свидетельствовала о высокой активности интродуцированного штамма в течение первого месяца очистки. Через 90 сут эта разница исчезала. Разрушение углеводов в почве при внесении штамма *D. maris* AM3 достигало 66, а при стимуляции – 60%.

В эксперименте 2 используемые приемы ремедиации обнаруживали противоположную зависимость дегидрогеназной активности от концентрации общих нефтепродуктов (рис. 5): при стимуляции аборигенных микроорганизмов дегидрогеназная активность плавно снижалась с убылью загрязнителя, при внесении штамма-деструктора ее максимальные показатели соответствовали минимальному содержанию нефтепродуктов. Из-

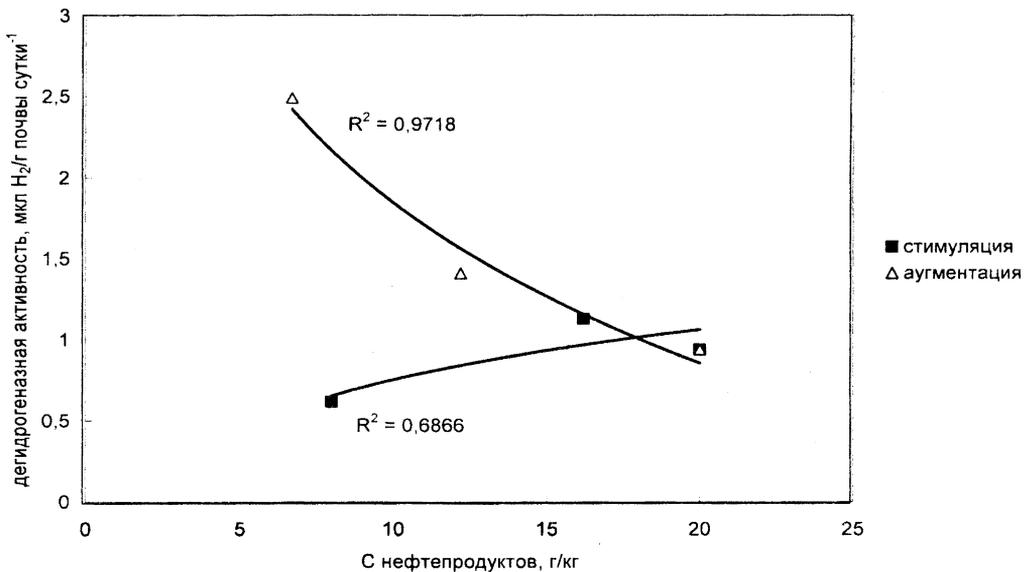


Рис. 5. Зависимость дегидрогеназной активности от концентрации нефтепродуктов в эксперименте 2



вестно, что активность дегидрогеназ может ингибироваться продуктами деградации углеводов, которые накапливаются в почве и оказывают токсическое действие, несмотря на снижение концентрации загрязнителя в почве [18]. Возможно, этим объяснялся характер зависимости, наблюдаемый в варианте со стимуляцией в экспериментах 1 и 2.

Таким образом, проведенные исследования показали, что максимальная дегидрогеназная активность нефтезагрязненной почвы южного чернозема при очистке с помощью приема стимуляции соответствовала максимальному развитию микроорганизмов и скорости биodeградации нефтяных углеводов в первый месяц ремедиации. После того, как уменьшалась скорость биodeградации, активность дегидрогеназ быстро снижалась, поэтому данный показатель можно использовать для установления начальных, наиболее интенсивных этапов биodeградации при стимуляции аборигенной микрофлоры. При интродукции в почву активного нефтеокисляющего штамма *D. maris* AM3 почва через 3 месяца очистки отличалась высокой дегидрогеназной активностью, которая обратно коррелировала с низким остаточным содержанием нефти, что свидетельствовало о восстановлении биологических свойств почвы. В связи с этим активность дегидрогеназ при использовании технологии аугментации целесообразно применять в качестве инструментов мониторинга для оценки начальных и конечных процессов биоремедиации.

#### Библиографический список

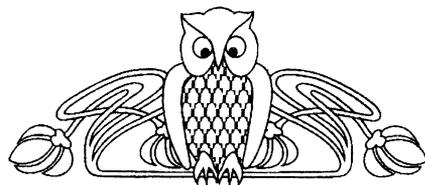
1. Киреева Н.А., Тарасенко Е.М., Онегова Т.С., Бакаева М.Д. Комплексная биоремедиация нефтезагрязненных почв для снижения токсичности // Биотехнология. 2004. №6. С.63–70.
2. Phillips T.M., Liu D., Seech A.G., Lee H., Trevors J.T. Monitoring bioremediation in creosote-contaminated soils using chemical analysis and toxicity tests // J. of Industrial Microbiology and Biotechnology. 2000. Vol.24. P.132–139.
3. Maila M.P., Cloete T.E. The use of biological activities to monitor the removal of fuel contaminants – perspective for monitoring hydrocarbon contamination: a review // International Biodeterioration & Biodegradation. 2005. Vol.55. P.1–8.
4. Dorn P.B., Vipond T.E., Salanitro J.P., Wisniewskie H.L. Assessment of the acute toxicity of crude oils in soils using earthworms, microtox, and plants // Chemosphere. 1998. Vol.37. P.845–860.
5. Фомченков В.М., Ирхина И.А., Новиков И.А., Гуров Б.Н., Чугунов В.А., Холоденко В.П. Исследование интегральной токсичности водной среды, загрязненной нефтью и нефтепродуктами, с использованием бактериальных тестов // Прикл. биохим. и микробиол. 2000. Т.36, №6. С.656–660.
6. Терехова В.А., Арчегова И.Б., Хабибуллина Ф.М., Пугачев В.Г., Тулянкин Г.М. Экотоксикологическая оценка биосорбента нефти с целью сертификации // Экология и промышленность России. 2006. №3. С.34–37.
7. DeVlieghe W., Verstraete W. Formation of non-bioavailable organic residues in soil: perspective for site remediation // Biodegradation. 1996. Vol.7. P.471–485.
8. Pascual J.A., Garcia C., Hernandez T., Moreno J.L., Ros M. Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation processes // Soil Biol. Biochem. 2000. Vol.32. P.1877–1883.
9. Andreoni V., Cavalca L., Rao M.A., Nocerino G., Bernasconi S., Dell'Amico E., Colombo M., Gianfreda L. Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils // Chemosphere. 2004. Vol.57. P.401–412.
10. Киреева Н.А., Новоселова Е.И., Онегова Т.С. Активность каталазы и дегидрогеназы в почвах, загрязненных нефтью и нефтепродуктами // Агрохимия. 2002. №8. С.64–72.
11. Пиковский Ю.И. Трансформация техногенных потоков нефти в почвенных экосистемах // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. М., 1988. С.7–22.
12. Skujins J. History of abiotic soil enzyme research // Soil Enzymes / Ed. R.G. Burns. N.Y., 1978. P.1–49.
13. Практикум по микробиологии / Под ред. Н.С. Егорова. М., 1976. 307 с.
14. Гузев В.С., Халимов Э.М., Волде М.И., Куличевская И.С. Регуляторное действие глюкозы на активность углеводородокисляющих микроорганизмов в почве // Микробиология. 1997. Т.66, №2. С.154–159.
15. Иммуноферментный анализ / Под ред. Т.Нго и Г.М.Ленхоффа. М., 1988. 446 с.
16. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М., 2005. 252 с.
17. Киреева Н.А., Водопьянов В.В., Мифтахова А.М. Биологическая активность нефтезагрязненных почв. Уфа, 2001. 376 с.
18. Margesin R., Walder G., Schinner F. The impact of hydrocarbon remediation (diesel oil and polycyclic aromatic hydrocarbons) on enzyme activities and microbial properties of soil // Acta Biotechnologica. 2000. Vol.20. P.313–333.



УДК 612.17/18; 599.323.4

## ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ХОЛОДОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ЧЕЛОВЕКА

М.Д. Сметанина, Л.Н. Шорина, Т.В. Тарасова



Саратовский государственный университет  
E-mail: pha@rambler.ru

Показано, что при адаптации людей к пониженной температуре воздуха и при остром локальном холодом воздействии происходят разнонаправленные изменения показателей сердечно-сосудистой системы. У людей, адаптированных к работе в прохладном помещении, изменения сердечного ритма и артериального давления при кратковременном охлаждении кисти руки отсутствуют.

**Ключевые слова:** адаптация к холоду, холодовой стресс, сердечно-сосудистая система.

**Indexes of Cardio-Vascular System Influenced by Cold Temperature**

M.D. Smetanina, L.N. Shorina, T.V. Tarasova

There were represented that diversified changes of the cardiovascular system's indexes are resulted from human adaptation to the temperature is much down and to the hard local cold temperature effect. People who have adaptation to the work in the cold accommodations have no changes in heart pulse and in arterial pressure during the short-term cooling of an arm.

**Key words:** cold stress, adaptation to the cold, cardiovascular system.

В настоящее время очень актуальна проблема изучения реакций организма на воздействие холода. На основе исследований клиницистов и метеорологов ученые пришли к выводу о зависимости биологических процессов от условий погоды. Чувствительность к погоде, по мнению многих авторов, определяется прежде всего функциональным состоянием вегетативной нервной системы. Знание особенностей адаптации организма человека имеет не только важное общетеоретическое значение, но и несомненное прикладное в связи с возможностью создания на этой основе эффективных профилактических и оздоровительных программ [1].

Трудовая деятельность человека, протекающая в холодное время года в неотапливаемых производственных помещениях, на открытых территориях, связана с воздействием на организм низких температур. Низкая температура воздуха является одним из вредных

факторов производства, приводящих к стрессу [2, 3]. Реакции терморегуляции являются приспособительными, но вместе с тем они могут стать основой для развития различных нарушений, особенно в том случае, если окажутся чрезмерно выраженными, длительными, неадекватными силе холодого раздражения [4]. Стрессовое воздействие холода не только сопровождается адаптивными изменениями, но и может привести к патологическим изменениям в организме, а при чрезмерном переохлаждении – даже к летальному исходу [3, 5, 6]. Имеются данные о том, что при резком снижении температуры окружающего воздуха достоверно увеличивается частота возникновения инфаркта миокарда [7]. Все это свидетельствует о важной роли температурного фактора в изменении различных показателей сердечно-сосудистой системы.

В связи с этим представляют практический интерес вопросы, связанные с исследованием реакций сердечно-сосудистой системы человека на холодое воздействие. Изучали функциональные особенности сердечно-сосудистой системы 23 человек от 30 до 40 лет, работающих в рыбном цехе при пониженной температуре воздуха (+13°C) и контактирующих с охлажденным сырьем. В качестве стрессорного воздействия применяли погружение кисти руки в холодную воду температурой +4°C на 4 мин. Для сравнения были взяты показатели сердечно-сосудистой деятельности людей, работающих при более высокой (+22°C) температуре воздуха (25 человек 30–40 лет). Выбор показателей системы кровообращения был обусловлен общепризнанной ведущей ролью сердечно-сосудистой системы в обеспечении адаптивных реакций организма к факторам окружающей



среды. Систолическое и диастолическое артериальное давление (САД и ДАД соответственно) измеряли по методу Короткова, частоту сердечных сокращений (ЧСС) – пальпаторно. Вычисляли пульсовое давление (ПД), систолический и минутный объем крови (СО и МО), коэффициент выносливости (КВ) сердечно-сосудистой системы.

Было обнаружено, что при длительном воздействии холодового фактора возникают существенные изменения в работе системы кровообращения, что проявляется в изменении базальных уровней изученных показателей у людей, работающих при относительно низкой температуре воздуха (табл.1). Так, у них по сравнению с контрольной группой ЧСС уменьшилась на 20% – с  $75.7 \pm 2.0$  уд./мин до  $60.3 \pm 2.7$  уд./мин. Наряду с этим выявлено существенное снижение сердечного выброса, что свидетельствует об уменьшении силы сокращений. Так, СО крови изменился с  $72.1 \pm 1.2$  мл до  $59.0 \pm 4.5$  мл, а МО – с  $5.5 \pm 0.2$  л/мин до  $3.6 \pm 0.3$  л/мин.

Таблица 1

Сравнение показателей гемодинамики у людей, работающих при различной температуре воздуха

Показатели гемодинамики	Температура воздуха	
	+22°C	+13°C
САД, мм рт. ст.	$129.2 \pm 1.8$	$121.9 \pm 2.5^*$
ДАД, мм рт. ст.	$79.5 \pm 0.8$	$75.0 \pm 2.3$
ПД, мм рт. ст.	$49.7 \pm 2.1$	$46.9 \pm 1.3$
ЧСС, уд./мин	$75.7 \pm 2.0$	$60.3 \pm 2.3^*$
СО, мл/уд.	$72.1 \pm 1.2$	$59.0 \pm 4.5^*$
МО, л/мин	$5.5 \pm 0.2$	$3.6 \pm 0.3^*$
КВ, усл. ед.	$15.2 \pm 0.5$	$12.9 \pm 0.6^*$

\* Различия достоверны ( $p < 0.05-0.001$ ) относительно показателей при температуре воздуха +22°C.

В результате отрицательных хроно- и инотропного эффектов у людей, работающих при пониженной температуре воздуха, происходит снижение САД до  $121.9 \pm 2.5$  мм рт. ст. Известно, что адаптация к длительному холодовому воздействию сопровождается повышением периферического сопротивления [8]. Вероятно, это и явилось причиной того, что на фоне САД, пониженного вследствие уменьшения сердечного выброса, сохраняется исходный уровень ДАД.

Выявленные изменения в деятельности сердечно-сосудистой системы можно рассматривать как адаптацию к длительной работе в условиях низкой температуры воздуха.

Интересно, что существенное снижение сердечного выброса выявлено у мужчин, работающих на предприятиях Западной Сибири и адаптированных к комплексу факторов окружающей среды, одним из которых является пониженная температура воздуха [9].

Показателем функциональных возможностей сердечно-сосудистой системы является КВ. Его значение более 16 усл. ед. является неблагоприятным признаком. У обследованных нами добровольцев обеих групп КВ оказался ниже этого уровня, однако у людей, длительное время находящихся в помещении с температурой воздуха +13°C, этот показатель достоверно меньше, чем в контрольной группе. Можно предположить, что адаптация к данным условиям, мобилизуя сердечно-сосудистую систему, повышает её функциональные возможности.

В ходе эксперимента изучали также изменение параметров гемодинамики при кратковременном локальном холодовом стрессе. Субъективно данное воздействие воспринималось испытуемыми контрольной группы как достаточно сильный раздражитель, в некоторых случаях сопровождавшийся даже болевыми ощущениями. Испытуемые – работники рыбного цеха – достаточно легко переносили данное воздействие.

Оказалось, что кратковременное охлаждение кисти руки людей, не адаптированных к пониженной температуре, вызывало у них достоверное изменение ЧСС с  $75.7 \pm 2.0$  до  $83.1 \pm 2.3$  уд./мин. Вместе с увеличением частоты возрастала и сила сердечных сокращений, что отразилось на СО крови. Возрастание СО сопровождалось увеличением МО крови. При достоверном повышении САД практически не изменилось ДАД. Не повлияло данное воздействие и на КВ сердечно-сосудистой системы добровольцев данной группы (табл. 2).

Известно, что в реакциях организма на острое охлаждение участвует симпатoadrenalовая система. При этом происходят активация периферической симпатической нерв-



Таблица 2

**Влияние кратковременного охлаждения кисти руки на параметры гемодинамики у лиц, работающих при температуре воздуха +22°C**

Показатели	Исходное состояние	Кратковременное охлаждение кисти руки
САД, мм рт. ст.	129.2±1.8	135.5±1.6 *
ДАД, мм рт. ст.	79.5±0.8	81.3±0.8
ПД, мм рт. ст.	49.7±2.1	54.3±2.5
ЧСС, уд./мин	75.7±2.0	83.1±2.3 *
СО, мл/уд.	72.1±1.2	75.3±1.2 *
МО, л/мин	5.5±0.2	6.3±0.3 *
КВ, усл. ед.	15.2±0.5	15.3±0.5

\* Различия достоверны ( $p < 0.05-0.001$ ) относительно показателей в исходном состоянии.

ной системы и повышение концентрации катехоламинов в крови [7, 10–13], что, возможно, и является причиной описанных изменений у лиц, работающих при достаточно комфортных температурных условиях окружающей среды (+22°C).

У людей, на протяжении всего рабочего дня находящихся в помещении с температурой воздуха +13°C и контактирующих с охлажденными рыбопродуктами, на фоне адаптивных изменений параметров гемодинамики к данным условиям труда реакция сердечно-сосудистой системы на кратковременный холодовой стресс отсутствовала (табл. 3).

Таблица 3

**Влияние кратковременного охлаждения кисти руки на параметры гемодинамики у лиц, работающих при температуре воздуха +13°C**

Показатели	Исходное состояние	Кратковременное охлаждение кисти руки
САД, мм рт. ст.	121.9±2.5	119.4±2.1
ДАД, мм рт. ст.	75.0±2.3	74.2±3.0
ПД, мм рт. ст.	60.3±2.3	57.9±2.1
ЧСС, уд./мин	46.9±1.3	45.2±1.9
СО, мл/уд.	59.0±4.5	57.1±3.1
МО, л/мин	3.6±0.3	3.3±0.5
КВ, усл. ед.	13.0±0.6	12.8±0.8

Таким образом, при адаптации к длительному пребыванию в помещении с пониженной до +13°C температурой воздуха и при кратковременном охлаждении кисти руки происходят разнонаправленные реакции

со стороны сердечно-сосудистой системы. У людей, адаптированных к работе в прохладном помещении, изменения сердечного ритма и артериального давления при кратковременном локальном холодом воздействием отсутствуют.

*Исследования выполнены при частичной финансовой поддержке BRHE (грант SR-006-XI).*

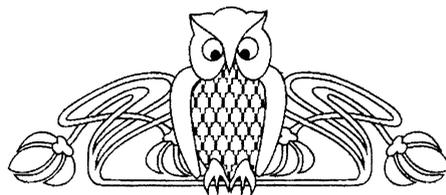
#### Библиографический список

1. Маликов Н.В. О некоторых методических подходах к оценке адаптивных возможностей сердечно-сосудистой системы организма // Вісник Запорізького державного університету. 2001. №1. С.15–20.
2. Коцеев В.С. Физиология и гигиена индивидуальной защиты человека от холода. М., 1981. 287 с.
3. Афанасьева Р.Ф., Бурмистрова О.В. Холодовой стресс, критерии оценки, прогнозирование риска охлаждения человека // Безопасность жизнедеятельности. 2006. №2. С.16–21.
4. Козырева Т.В., Верхогляд Л.А. Функциональные значения динамической активности холодовых рецепторов кожи // Физиол. журн. СССР. 1989. Т.75, №1. С.117–123.
5. Воронин Н.М. Основы медицинской и биологической климатологии. М., 1981. 351 с.
6. Tipton M., Eglin C., Gennser M., Golden F. Immersion deaths and deterioration in swimming performance in cold water // Lancet. 1999. Vol.354, №9179. P.626.
7. Барбараш Н.А. Периодическое действие холода и устойчивость организма // Успехи физиол. наук. 1996. Т.27, №4. С.116–132.
8. Эккерт Р., Рэнделл Д., Огастин Д. Физиология животных: Механизмы и адаптация: В 2 т. / Пер. с англ. М., 1992. Т.2. 344 с.
9. Маликов Н.В. Сравнительный анализ функционального состояния сердечно-сосудистой системы рабочих-мужчин Украины и Западной Сибири // Вісник Запорізького державного університету. 2001. №2. С.7–12.
10. Козырева Т.В., Ткаченко Е.Я., Козарук В.П., Латышева Т.В., Гилинский М.А. Особенности реакции симпатoadrenalовой системы крыс при разных типах охлаждения // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 1999. Т.85, №11. С.1434–1439.
11. Depocas F., Behrens W.A. Levels of noradrenaline in plasma during thermogenesis induced by cold-exposure infusion in warm- and cold-acclimated rats // Effect of thermogenesis. Basel, Stuttgart. 1978. P.135–146.
12. Depocas F., Behrens W.A., Foster D.O. Noradrenaline-induced calorogenesis in warm- and in cold-acclimated rats. The interrelation of dose of noradrenaline, its concentration in arterial plasma, and calorogenic response // Can. J. Physiol. Pharm. 1978. V.56. P.168–174.
13. Jansky I. Humoral thermogenesis and its role in maintaining energy balance // Physiol. Rev. 1995. Vol.75. P.237–259.



УДК 535+57 (023)

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ $TiO_2$ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ СВЕТОДИОДНОГО СИНЕГО (405 нм) ИЗЛУЧЕНИЯ НА МИКРООРГАНИЗМЫ



Е.С. Тучина, Н.М. Абаева, В.В. Тучин

Саратовский государственный университет

E-mail: kliany@rambler.ru

E-mail: tuchin@sgu.ru

Исследованы закономерности индуцированного синим излучением изменения численности популяции *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* в присутствии наночастиц. Подавляющий эффект действия синего излучения на бактерии *S. aureus* не носил дозозависимого характера.

**Ключевые слова:** фотодинамическая терапия, микроорганизмы, диоксид титана.

**Using  $TiO_2$  Nanoparticles for the Photodynamic Action of Led Blue (405 nm) Radiation on Microorganisms**

E.S. Tuchina, N.M. Abaeva, V.V. Tuchin

The regularities of radiation-induced changes in the population quantity of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* in the presence of blue LED light and nanoparticles were studied. The effect of the blue radiation on the bacteria *S. aureus* was not dose-dependent.

**Key words:** phototherapy, microorganisms, titanium dioxide.

В настоящее время фотодинамическое воздействие используется для лечения раковых заболеваний, при антимикробной терапии, все более распространено при проведении различных физиотерапевтических и косметических процедур [1–5]. Данный метод основан на сочетанном действии лазерных или светодиодных источников излучения и красителей-фотосенсибилизаторов [3–5].

Известно более 400 веществ, обладающих свойствами фотосенсибилизаторов, среди которых производные хлоринов, бензопорфиринов, нафтало- и фталоцианинов [1–6]. Альтернативой или дополнением к существующим фотосенсибилизаторам могут стать наночастицы различной природы и структуры [7–9].

Нанокатализаторы принципиально отличаются от фотосенсибилизаторов механизмом генерации активных форм кислорода. Молекула кислорода на поверхности на-

ночастицы изначально находится в триплетном состоянии. Аналогичная молекула фотосенсибилизатора содержит связанный, каталитически неактивный синглетный кислород. Только под влиянием фотовоздействия его молекула переходит в триплетное состояние и становится готовой к участию в активизации кислорода среды [9].

Широко известно, что наночастицы серебра обладают выраженным бактерицидным эффектом. Антимикробную активность демонстрируют наночастицы меди, цинка, железа, оксидов металлов [8, 9]. Существенные преимущества перед серебряными наночастицами имеют наночастицы диоксида титана. Титан не относится к группе тяжелых металлов, не является ксенобиотиком, эффективно генерирует синглетный кислород [9].

Целью работы являлось изучение действия синего (405 нм) излучения в сочетании с наночастицами диоксида титана на различные микроорганизмы.

### Материалы и методы

Объектами исследования являлись микроорганизмы: *Staphylococcus aureus* 209 P, *Escherichia coli* 113-13, *Candida albicans* 184 (ГИСК им. Л.А. Тарасевича, г. Москва). Микроорганизмы выращивали при температуре 37°C на ГРМ-агаре.

В качестве источника синего излучения использовали светодиод с максимумом спектра испускания  $\lambda = 405 \pm 20$  нм и плотностью мощности 31.5 мВт/см<sup>2</sup>. Во всех экспериментах режим излучения был непрерывный. Время облучения варьировали от 5 до 30 мин.



В качестве фотокатализатора использовали наночастицы диоксида титана ( $TiO_2$ ) в концентрации 0.02%.

Для проведения экспериментов использовали схему, разработанную ранее [10]. Для создания асептических условий иммунологический полистирольный 96-луночный планшет помещали в стеклянный или пластиковый корпус. Источник света располагали над ячейками планшета. При постановке опытов использовали суточную культуру исследуемого штамма. Бактериальную взвесь готовили в стерильном физиологическом растворе; конечная концентрация составляла 5 тыс. микробных клеток на 1 мл. Из разведения микроорганизмов 10000 мк/мл 0.1 мл взвеси вносили в 0.9 мл раствора фотокатализатора, инкубировали в течение 10 мин необходимого времени без доступа света. Из конечного разведения, а также из раствора фотокатализатора бактериальную взвесь в объеме 0.2 мл вносили в ячейки планшета. Воздействие проводили на бактериальные клетки во взвеси, находящейся в соответствующих ячейках, последовательно увеличивая дозу излучения. После воздействия взвеси бактерий переносили на чашки Петри с плотной питательной средой и равномерно распределяли по поверхности стерильным шпателем. Учет результатов проводили путем подсчета числа колониеобразующих единиц (КОЕ) через 24–72 ч после инкубации при 37°C. Контролем служили взвеси бактерий, не обработанные наночастицами и не подвергнутые облучению. Каждый экспе-

римент проводили в десятикратной повторности.

#### Результаты

Установлено, что микроорганизмы *S. aureus* чувствительны к действию синего излучения. Последовательное увеличение времени облучения от 5 до 30 мин приводило к сокращению числа колоний на 30–77%. На следующем этапе изучали действие синего излучения на клетки *S. aureus*, обработанные диоксидом титана. Показано, что при использовании фотокатализатора чувствительность данных микроорганизмов к действию синего излучения возрастает. Отмечено уменьшение числа колоний на 60–80% после воздействия в течение 5–30 мин. Необходимо отметить, что эффект синего излучения не носил зависимого от дозы характера. Число КОЕ после 10–15 мин облучения было выше, чем после 5 мин. После 30 мин воздействия снова наблюдалось снижение численности. Данная динамика сохранялась и после обработки клеток *S. aureus* фотокатализатором (рис. 1).

Для дальнейших исследований в качестве модельного объекта использовали грамотрицательные микроорганизмы *E. coli*. Было установлено, что данный микроорганизм устойчив к действию синего излучения. Уменьшение числа колоний происходило на 7–10% и недостоверно отличалось от контроля. Применение диоксида титана для обработки клеток *E. coli* также не обеспечивало бактерицидного действия излучения (рис. 2).

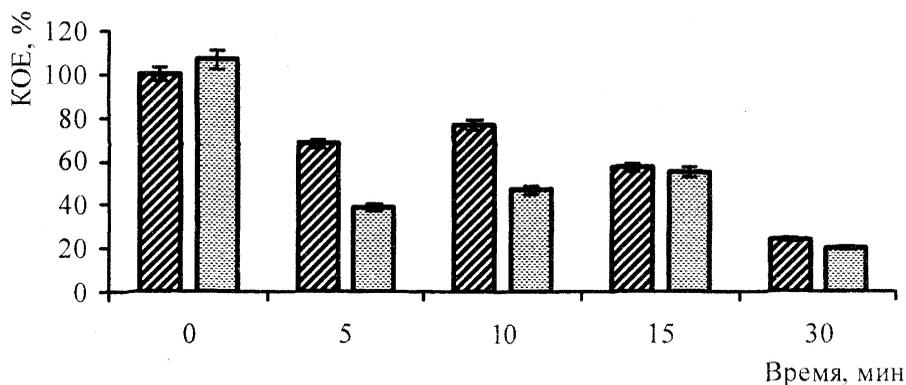


Рис. 1. Действие синего (405 нм) светодиодного излучения на микроорганизмы *S. aureus*:

▨ – синее излучение; ▩ – синее излучение +  $TiO_2$

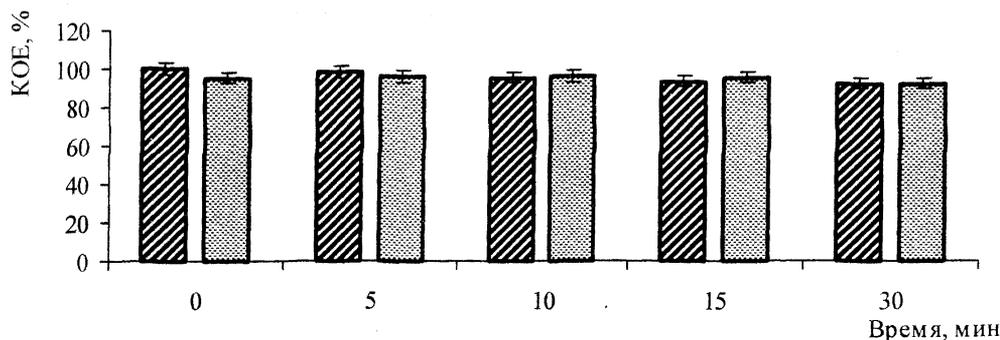


Рис. 2. Действие синего (405 нм) светодиодного излучения на микроорганизмы *E. coli*:  
 ▨ – синее излучение; ▩ – синее излучение + TiO<sub>2</sub>

На следующем этапе работы изучали чувствительность дрожжей *C. albicans* к фотодинамическому воздействию. Облучение клеток данного вида микроорганизмов синим светом обеспечивало незначительный угнетающий эффект. Сокращение числа КОЕ от-

мечено на 10–15 % при варьировании времени облучения от 5 до 30 мин. После обработки клеток *C. albicans* диоксидом титана и облучении синим светом произошло уменьшение числа колоний на 10–20% (рис. 3).

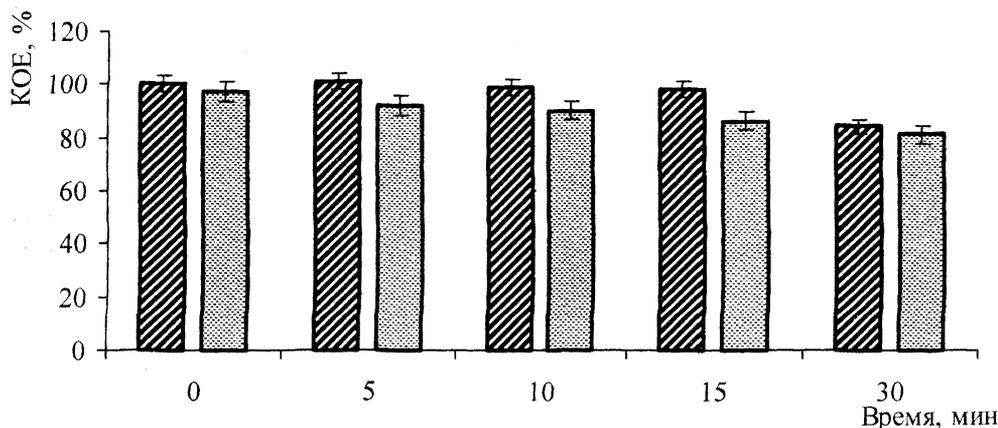


Рис. 3. Действие синего (405 нм) светодиодного излучения на микроорганизмы *C. Albicans*:  
 ▨ – синее излучение; ▩ – синее излучение + TiO<sub>2</sub>

#### Обсуждение

В последние десятилетия лазерная и световая терапия, в том числе и с использованием синего (400–420 нм) излучения, активно развивается и находит широкое применение при лечении заболеваний, вызванных различными микроорганизмами.

В ходе исследований установлено, что *S. aureus* был наиболее чувствителен к фотодинамическому воздействию. Клеточная стенка грамположительного типа, характерная для данного вида, обуславливает адгезию моле-

кул фотокатализатора на своей поверхности, а пористая структура пептидогликана не может препятствовать проникновению активных форм кислорода внутрь клетки [5, 6]. Также известно, что в клетках *S. aureus* содержатся разнообразные порфирины. Сложноорганизованные молекулы порфиринов имеют максимум поглощения в пределах от 400 до 420 нм и выступают в качестве эндогенных фотосенсибилизаторов, т.е. в их присутствии под действием излучения усиливается выход синглетного кислорода [11, 12].



Наличие подобных молекул-мишеней в бактериальной клетке повышает ее чувствительность к действию синего излучения. Тем не менее полного подавления роста *S. aureus* отмечено не было. Вероятно, это связано с наличием особых механизмов устойчивости, направленных на устранение, «тушение» молекул синглетного кислорода. В частности, эту функцию в клетках микроорганизмов выполняют такие ферментные комплексы, как каталаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза [13].

Показано, что бактерии *E. coli* были устойчивы к синему излучению, а также к его действию в сочетании с фотокатализатором. Клетки *E. coli* имеют клеточную стенку грамотрицательного типа: на поверхности содержится липополисахарид, образующий труднопроницаемую внешнюю мембрану [5]. Ввиду подобного строения взаимодействие наночастиц с поверхностью клетки затруднено. Время существования активных форм кислорода, образующихся в окружающей среде, недостаточно для того, чтобы проникнуть внутрь клетки и вызвать ее гибель.

Синее излучение не оказывало угнетающего воздействия на дрожжи *C. albicans*. Фотодинамический эффект при использовании наночастиц также был недостаточен для угнетения клеток данного микроорганизма. Дрожжи *Candida* являются эукариотическими организмами: их ядерный аппарат заключен в собственную оболочку [5, 13]. Количество образующихся активных форм кислорода при действии излучения с данными параметрами недостаточно, чтобы вызвать существенные изменения в структуре клеточной мембраны, органелл или генетического аппарата.

Таким образом, было установлено, что реакция микроорганизмов на действие синего излучения в сочетании с наночастицами зависит от строения их клеток и физиологических особенностей.

*Выражаем признательность Л.Е. Доловину за разработку светодиодного облучателя и помощь при проведении экспериментов.*

*Работа выполнена при финансовой поддержке аналитической ведомственной целевой программы «Развитие научного потенциала высшей школы (2009–2010 гг.)» (госконтракты №2.1.1/4989, №2.2.1.1/2950), ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России (2009–2013 гг.)» (госконтракт №02.740.11.0484).*

#### Библиографический список

1. Dougherty T.J. Photodynamic therapy // Medical radiology innovations in radiation oncology. 1988. №1. P.175–188.
2. Бриль Г.Е. Молекулярные аспекты биологического действия низкоинтенсивного лазерного излучения // Актуальные проблемы патологии. Саратов, 2001. С.124–136.
3. Васильев Н.Е., Озиренко А.П. Антимикробная фотодинамическая терапия // Лазерная медицина. 2002. Т.6, №1. С.32–38.
4. Дуванский В.А. Фотодинамическая терапия в комплексном лечении больных с острыми гнойными заболеваниями мягких тканей // Лазерная медицина. 2003. Т.7, № 4. С.41–45.
5. Hamblin M.R., Hasan T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? // J. Photochem. Photobiol. 2004. №3. P.436–450.
6. Demidova T.N., Hamblin M.R. Photodynamic therapy targeted to pathogens // Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 2004. №17. P.245–254.
7. Feng Q. L., Wu J., Chen G. Q. et al. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* // J. Biomed. Mater. Res. 2000. №52. P.662–668.
8. Sunada K., Watanabe T., Hashimoto K. Studies on photokilling of bacteria on  $TiO_2$  thin film // J. Photochem. Photobiol. 2003. №156. P.227–233.
9. Баллюзек Ф.В., Куркаев А.С., Сентле Л. Нанотехнологии в медицине. СПб., 2008. 103 с.
10. Тучина Е.С., Тучин В.В., Альтшулер Г.Б., Ярославский И.В. Фотодинамическое воздействие красного (625 нм) излучения на бактерии вида *Propionibacterium acnes*, обработанные фотосенсибилизатором // Естественные и технические науки. 2008. №2(34). С.90–93.
11. Lambrecht S.A., Demidova T.N., Aalders M.C. et al. Photodynamic therapy for *Staphylococcus aureus* infected burn wounds in mice // J. Photochem. Photobiol. 2005. №4. P.503–509.
12. Дерябин Д.Г. Стафилококки: экология и патогенность. Екатеринбург, 2000. 238 с.
13. Ермилова Е.В. Молекулярные аспекты адаптации прокариот. СПб., 2007. 299 с.



УДК 57 (072.3)

## СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ ПРИМЕНЕНИЯ КОМНАТНЫХ РАСТЕНИЙ В ШКОЛЬНОЙ ПРАКТИКЕ ОБУЧЕНИЯ БИОЛОГИИ

А.С. Малыгина, Т.Б. Решетникова

Саратовский государственный университет

E-mail: rtb-55@mail.ru



В данной статье рассматривается вопрос оснащения школьных биологических кабинетов г. Саратова и Саратовской области комнатными растениями. Приводится список видов комнатных растений, для 15 из них даются основные современные параметры подбора. Приводится образец паспорта одного из видов комнатных растений.

**Ключевые слова:** школьный биологический кабинет, Саратовская область, виды растений, паспорт, комнатные растения.

**Modern Approaches to Using Room Plants for Schools Practice in Teaching to Biology**

A.S. Malygina, T.B. Reshetnikova

The paper discusses a problem concerning the choice of house plants for school biology classrooms in Saratov and Saratov region. A list of house plants for the biology classroom is given. 15 species plants are described according to the principles of choice. The authors give a model of a passport of one the house plants.

**Key words:** school biology classrooms, Saratov region, species plants, passport, house plants.

Специфической особенностью обучения биологии в школе является широкое использование натуральных объектов, постановка опытов и осуществление наблюдений за живыми организмами. Умелое использование натуральных объектов в сочетании с другими средствами обучения, организация самостоятельной работы учащихся с живыми растениями на уроках и во внеурочное время играют важную роль в решении учебно-воспитательных задач.

Выполнение работ, связанных с проведением опытов и наблюдений за комнатными растениями, способствует выработке у учащихся приемов и навыков самостоятельной познавательной деятельности, которые впоследствии могут стать основой для более серьезных исследований.

Комнатные растения являются частицей живой природы, которую человек стремится перенести в свое жилище. Создание в школах коллекции комнатных растений, которую можно использовать для иллюстрации фор-

мируемых у школьников биологических понятий, – идея не новая, но весьма актуальная в современных условиях.

При изобилии современной литературы, касающейся разнообразия комнатных растений, тем не менее, существует недостаток методической литературы по использованию живых объектов в школьной практике. А имеющиеся такого рода источники датированы серединой XX века.

Все вышесказанное побудило нас к выявлению современного подхода применения комнатных растений в школе.

Работа по подбору комнатных растений и их применению в школьной практике проводилась в течение пяти лет. Были проработаны научные, научно-популярные и методические материалы по комнатным растениям с целью изучения опыта по их применению в школьной практике.

На основе изученной литературы мы пришли к выводу, что в работах известных ученых-методистов Н.М. Верзилина [1] и Д.И. Трайтака [2] указывается правильный, с нашей точки зрения, подбор растений, применяемых в процессе обучения биологии в школе. Однако объем этого подбора слишком мал для школьного кабинета биологии – 30 видов, причем список видов составлен на основе ассортимента комнатных растений первой половины XX века.

В некоторых пособиях для учителей указывается большее число видов растений для кабинета биологии – от 40 [3] до 85 [4]. В пособиях выделены экологические группировки комнатных растений. Не все описываемые растения в данных источниках являются хорошими объектами для школьной практики, так как среди них есть ядовитые, слишком крупные, не декоративные и другие порой малоизвестные растения.



Все вышеперечисленное свидетельствует о том, что необходимо вести дальнейшую работу по отбору наиболее целесообразных для школы комнатных растений. Подбор объектов должен проводиться как на основе изучения специальной современной литературы по комнатным растениям [5–9], так и на основе опыта учителей-биологов по применению в школьной практике, а также специалистов-цветоводов.

Для этого было проведено исследование по использованию комнатных растений в некоторых МОУ г. Саратова (школе-системе №4, СОШ №6, СОШ №8, СОШ №15, СОШ №91, школе-гимназии №58, гимназии №1, гимназии №4, физико-техническом лицее №1) и Саратовской области (СОШ с. Багаевка, СОШ с. Березина речка, СОШ с. Тарханы, СОШ х. Малая Скатовка, СОШ п. Красный Текстильщик и некоторых других).

При этом в различных образовательных учреждениях изучались видовой состав комнатных растений, их размещение, использование на уроках, во внеурочной работе, опыт ухода за ними и их применения для улучшения состава воздуха в помещении школы.

Изучение опыта школ показало, что при подборе комнатных растений и их размещении в кабинетах биологии и интерьере школы есть как положительные результаты, так и недостатки. Проведенный опрос учителей биологии показал, что не во всех школах используются комнатные растения на уроках биологии, независимо от наличия или отсутствия кабинета биологии. В большинстве школ комнатные растения выполняют декоративную функцию и реже используются в качестве объектов исследования и как очистители воздуха.

Так, в СОШ №15 в двух кабинетах биологии и экологии имеется небольшой по разнообразию ассортимент комнатных растений (20 видов), основная часть которых расставлена на классной мебели. При размещении этих растений учителя не придерживались никаких принципов, предлагаемых методистами и специалистами-цветоводами.

Для всех растений, размещенных в кабинетах, имеется картотека паспортов, составленная учащимися вместе с учителем.

Крупные же растения – фикус, гибискус (китайская роза) и пальма – размещены на специальных отдельных подставках и только они снабжены этикетками с указанием видового названия и родины данного вида.

Несмотря на указанные недостатки, комнатные растения кабинетов и рекреаций в необходимой мере используются учителями на уроках биологии. Из комнатных растений, улучшающих состав воздуха в кабинетах и коридорах, преобладают хлорофитумы. Уход за растениями в кабинетах ведется учащимися, тогда как за состоянием комнатных растений в рекреациях и коридорах, а также за их размещением следят учителя-биологи. К сожалению, не все растения соответствуют эстетическим нормам, что позволяет говорить о недостаточном уходе за ними, а также о воспитании школьников данной школы.

В гимназии №1 имеется большое число видов комнатных растений в двух кабинетах биологии, причем каждый вид представлен несколькими экземплярами. Они наиболее полно используются учителями на уроках биологии почти по всем разделам. Результатом такой работы является частое применение учащимися знаний о комнатных растениях в соответствующих темах при ответах. Все комнатные растения в кабинетах биологии расположены на специальных стеллажах, в настенных кашпо, а часть из них – на школьной мебели. Минимальное количество растений находится в коридорах и рекреациях гимназии и представлены крупными экземплярами.

Наиболее грамотно, на наш взгляд, оформлен кабинет биологии и интерьер физико-технического лицея №1 г. Саратова. Несмотря на то, что в кабинете небольшой видовой состав комнатных растений (20 видов), они равномерно распределены по всему классу, расположены на специальных полках для растений, имеют ухоженный и здоровый вид. Все это говорит о достаточных знаниях учителя об особенностях комнатных растений и о хорошо поставленной работе по их уходу. Количественный состав способен в полной мере восстановить здоровую атмосферу в классе, что особенно важно при наличии большого количества компьютеров и



наполняемости класса. Коридоры и лестничные площадки лица тоже оформлены комнатными растениями. При этом соблюдаются некоторые принципы размещения растений (ампельные растения – в настенных кашпо, размещение растений в пристенных ящиках в сочетании с аквариумами и т.п.). В конце 2004 учебного года в лицее началось формирование уголка живой природы, в чем активное участие принимают учащиеся.

Наличие комнатных растений в коридорах наблюдается и в школе-гимназии № 58 Заводского района г. Саратова, где оформлением занимаются учащиеся старших классов на занятиях ботанического кружка. Здесь даже в вестибюле первого этажа растут крупные экземпляры гибискусов и лимонов. Разнообразные комнатные растения представлены и во всех учебных кабинетах. Однако и здесь есть недостатки: нет определенных принципов подбора и размещения растений, большинство из них имеют небольшие размеры, нездоровый вид и сгруппированы на школьной мебели, крупномерные растения, расположенные возле окон, затевают свет в классе, т.е. учитель-биолог не соблюдает соответствующих методических и агротехнических требований по содержанию и применению комнатных растений на уроках биологии при изучении соответствующих тем. А в кабинете экологии, напротив, несмотря на небольшую его площадь, имеется достаточное количество видов комнатных растений – 30. Все они размещены по кабинету равномерно и с учетом их экологических особенностей.

Не во всех посещаемых нами школах г. Саратова имеются кабинеты биологии. Несмотря на отсутствие кабинета биологии в гимназии № 4, комнатные растения в полной мере присутствуют и находят достаточное применение не только на уроках биологии, но и во внеурочной работе. В этой гимназии комнатные растения используются для оформления различных школьных внеклассных мероприятий.

Из изученных школ области выделяются СОШ с. Багаевка и СОШ с. Березина речка. В Березинореченской средней школе особое внимание привлекает озеленение вестибюля. На первом этаже школы методически правильно оформлена часть вестибюля с приле-

гающей к ней лестницей. Здесь в стационарных клумбах гармонично сочетаются крупные растения, ампельные и вьющиеся формы, красивоцветущие горшечные комнатные растения. Кроме того, в коридорах в настенных кашпо размещаются хлорофитумы, что способствует очищению воздуха в них.

В Багаевской СОШ отсутствует озеленение школьного интерьера (коридоров, вестибюля) в связи с недостаточностью освещения данных помещений. Но в учебных кабинетах, столовой, библиотеке, школьной мастерской и т.д. они имеются в достаточном количестве. В кабинете биологии представлен небольшой видовой состав комнатных растений (около 25 видов), но они являются представителями почти всех экологических групп. Эти живые объекты в полной мере используются на уроках биологии. Размещение комнатных растений в кабинете соответствует их биологическим особенностям и частично принципам, предлагаемым методистами и специалистами-цветоводами (отдельно размещать крупные растения, ампельные растения – в настенных кашпо или на специальных полках, составлять композиции из растений на подставках по морфологическим и экологическим группам, размещать растения в соответствии с ориентацией окон и т.п.). С 2002 г. в школе специально был отведен кабинет экологии, где учителем-экологом также стала создаваться коллекция комнатных растений, в первую очередь необходимых для уроков экологии. Кроме того, постоянно ведется пополнение видовой состава комнатных растений. Активное участие в этом принимают учащиеся данной школы. Школьники совместно с учителями создают композиции из комнатных растений для озеленения актового зала на период проведения школьных внеклассных мероприятий. Работа по уходу за растениями в кабинетах биологии и экологии ведется дежурными учениками под руководством учителя.

Таким образом, во всех исследованных школах имеются свои преимущества и недостатки по рассмотренным вопросам.

От сотрудников отделов цветоводства НЦ «Ботанический сад СГУ» и Областного детского экологического центра были получены консультации как по подбору современного видовой состава комнатных растений, так и особенностям ухода за ними.



Обобщая опыт ученых-методистов, учителей биологии и специалистов-цветоводов, мы составили список комнатных растений для школьного кабинета биологии, содержащий 100 видов растений из 40 семейств. Представленный список отражает современные подходы применения комнатных растений в школьной практике и может быть рекомендован для оборудования живого уголка биологического кабинета.

**Список видов комнатных растений, рекомендуемых для школьного биологического кабинета**

**1. Сем. Агавовые (Agavaceae)**

Агава американская (*Agava americana*)  
Драцена деремская (*Dracaena deremensis*)  
Сансевиерия трехлопастная (*Sansevieria trifasciata*)

**2. Сем. Акантовые (Acanthaceae)**

Пахистахис желтый (*Pachystachys lutea*)  
Фиттония серебристожилковая (*Fittonia argyroleura*)

**3. Сем. Амариллисовые (Amaryllidaceae)**

Валлота прекрасная (*Vallota speciosa*)  
Гемантус белоцветковый (*Haemanthus albeflos*)  
Гиппеаструм гибридный (*Hippeastrum hybrida*)  
Зефирантес белый (*Zephyranthes candida*)  
Кливия суриковая (*Clivia miniata*)  
Кринум капский (*Crinum bulbispermum*)  
Эухарис амазонский (*Eucharis amazonica*)

**4. Сем. Аралиевые (Araliaceae)**

Аралия японская (*Aralia japonica*)  
Плющ обыкновенный (*Hedera helix*)  
Шеффлера пальчатая (*Schefflera digitata*)

**5. Сем. Араукариевые (Araucariaceae)**

Араукария разнолистная (*Araucaria heterophylla*)

**6. Сем. Ароидные (Araceae)**

Аглаонема переменчивая (*Aglaonema commutatum*)  
Алоказия амазонская (*Alocasia amazonica*)  
Антуриум Андре (*Anthurium andreanum*)  
Диффенбахия пятнистая (*Dieffenbachia picta*)  
Зантедеския эфиопская (*Zantedeschia aethiopica*)  
Монстера деликатесная (*Monstera deliciosa*)  
Сингониум ножколистный (*Syngonium podophyllum*)  
Спатифиллум Уоллеса (*Spatiphyllum wallisii*)  
Филодендрон лазящий (*Philodendron scandens*)  
Эпипремнум перистый (*Scindapsus aureus*)

**7. Сем. Бальзаминовые (Balsaminaceae)**

Бальзамин султанский (*Impatiens sultanii*)

**8. Сем. Бегониевые (Begoniaceae)**

Бегония Фишера (*Begonia fischeri*)  
Бегония борщевиколистная (*Begonia heracleifolia*)  
Бегония королевская (*Begonia rex*)  
Бегония Мэсона (*Begonia masoniana*)

**9. Сем. Бромелиевые (Bromeliaceae)**

Бильбергия поникающая (*Billbergia nutans*)  
Тилландсия синяя (*Tillandsia cyanea*)

**10. Сем. Виноградные (Vitaceae)**

Роициссус ромбический (*Phoicisus rhomboidea*)  
Тетрастигма Вуанье (*Tetrastigma voinierianum*)  
Циссус антарктический (*Cissus antarctica*)

**11. Сем. Гераниевые (Geraniaceae)**

Пеларгония душистая (*Pelargonium roseum*)  
Пеларгония крупноцветковая (*Pelargonium grandiflorum*)

**12. Сем. Геснериевые (Gesneriaceae)**

Ахименес гибридный (*Achimenes hybrida*)  
Глоксиния прекрасная (*Gloxinia speciosa*)  
Сенполия гибридная (*Saintpaulia hybrida*)  
Эписция медная (*Episcia cupreata*)

**13. Сем. Губоцветные (Lamiaceae)**

Колеус Блюме (*Coleus blumei*)  
Плектрантус Эртендаля (*Plectranthus oertendahlii*)

**14. Сем. Кактусовые (Cactaceae)**

Зигокактус усеченный (*Zygocactus truncatus*)  
Маммилярия Вильда (*Mammillaria wildii*)  
Опунция мелковолоосистая (*Opuntia microdasys*)  
Эпифиллум Акермана (*Epiphyllum ackermanii*)  
Эхинокактус Грусона (*Echinocactus grusonii*)  
Эхинопсис красноволосистый (*Echinopsis erhodotricha*)

**15. Сем. Камнеломковые (Saxifragaceae)**

Камнеломка отпрысковая (*Saxifraga sarmen-tosa*)

**16. Сем. Каммелиновые (Commelinaceae)**

Зебрина повислая (*Zebrina pendula*)  
Сидерасис буроватый (*Siderasis fuscata*)  
Традесканция белоцветковая (*Tradescantia albiflora albiovittata*)

**17. Сем. Кизилловые (Cornaceae)**

Аукуба японская (*Aucuba japonica*)

**18. Сем. Кипарисовые (Cupressaceae)**

Туя западная (*Thuja occidentalis*)

**19. Сем. Кисличные (Oxalidaceae)**

Кислица обыкновенная (*Oxalis vulgaris*)

**20. Сем. Колокольчиковые (Campanulaceae)**

Колокольчик ломкий (*Campanula fragilis*)

**21. Сем. Крапивные (Urticaceae)**

Пилея Кадье (*Pilea cadierei*)  
Пилея Норфолк (*Pilea norfolk*)



22. Сем. Лавровые (Lauraceae)  
Лавр благородный (*Laurus nobilis*)
23. Сем. Ластовневые (Asclepiadaceae)  
Хойя мясистая, восковый плющ (*Hoya carnosa variegata*)
24. Сем. Лилейные (Liliaceae)  
Алоэ древовидное (*Aloe arborescens variegata*)  
Аспидистра высокая (*Aspidistra elation*)  
Гавортия полосатая (*Havorthia fasciata*)  
Гастерия бородавчатая (*Gasteria verrucosa*)  
Офиопогон японский (*Ophiopogon japonicus*)  
Хлорофитум хохлатый (*Chlorophytum comosum vittatum*)
25. Сем. Мальвовые (Malvaceae)  
Абутилон комнатный (*Abutilon roseum*)  
Гибискус китайский (*Hibiscus rosa-sinensis*)
26. Сем. Марантовые (Maranthaceae)  
Маранта белонервная (*Maranta leuconeura kerchoveana*)  
Калатея Макоя (*Calathea makojana*)
27. Сем. Маслинные (Oleaceae)  
Жасмин самбак (*Jasminum sambac*)
28. Сем. Миртовые (Myrtaceae)  
Мирт обыкновенный (*Myrtus communis*)  
Эвкалипт шаровидный (*Eucalyptus globulus*)
29. Сем. Многоножковые (Polypodiaceae)  
Асплениум живородящий (*Asplenium bulbiferum*)  
Нефролепис возвышенный (*Nephrolepis exaltata*)  
Адиантум венерин волос (*Adiantum capillus veneris*)
30. Сем. Молочайные (Euphorbiaceae)  
Акалифа щетинистоволосистая (*Acalypha hispida*)  
Молочай прекраснейший (*Euphorbia pulcherrima*)
31. Сем. Кипрейные (Onagraceae)  
Фуксия гибридная (*Fuchsia hybrida*)

32. Сем. Осоковые (Cyperaceae)  
Циперус очереднолистный (*Cyperus alternifolium*)
33. Сем. Пальмовые, Арековые (Arecaceae)  
Пальма финиковая (*Phoenix dactylifera*)
34. Сем. Первоцветные (Primulaceae)  
Цикламен персидский (*Cyclamen persicum*)  
Примула китайская (*Primula sinensis*)
35. Сем. Перечные (Piperaceae)  
Пеперомия туполистная (*Peperomia rotundifolia*)  
Пеперомия серебристая (*Peperomia argyreia*)
36. Сем. Рутовые (Rutaceae)  
Лимон крупноплодный (*Citrus limon*)
37. Сем. Спаржевые (Asparagaceae)  
Аспарагус перистый (*Asparagus plumosus*)
38. Сем. Толстянковые (Crassulaceae)  
Бриофиллум дегремона (*Bryophyllum daigremontiana*)  
Крассула серебристая, толстянка (*Crassula argentea*)
39. Сем. Тутовые (Moraceae)  
Фигус лировидный (*Ficus lyrata*)  
Инжир, Винная ягода (*Ficus carica*)
40. Сем. Чайные (Theaceae)  
Камелия японская (*Camellia japonica*).

Однако не каждая школа имеет возможность приобрести такое количество видов комнатных растений, поэтому приводим минимальный список комнатных растений (15 видов), обязательных для современного школьного кабинета биологии (таблица). Для каждого вида в таблице указывается: систематическое положение растения, родина вида, жизненная форма, декоративные особенности, условия содержания, оздоровительные свойства растения и применение на уроках школьного курса биологии.

Список видов комнатных растений обязательного минимума для кабинета биологии

Название растений и их систематическая принадлежность, родина	Жизненная форма	Декоративные особенности	Условия содержания	Оздоровительные свойства	Использование в школе (тема)
1	2	3	4	5	6
Сем. Многоножковые (Polypodiaceae) Асплениум живородящий (Asplenium bulbiferum) Родина – Новая Зеландия, Индия	Многолетнее травянистое корневищное	Декоративно-лиственное ампельное растение в слабо-освещенных помещениях	Полутень; полив обильный, регулярное опрыскивание	Выделение веществ, способствующих образованию легких ионов, действующих на человека; повышение работоспособности; увлажнение воздуха и осаждение пыли	Лист. Вегетативное размножение. Побег. Экологические и систематические группы растений

1	2	3	4	5	6
<p><i>Сем. Ароидные (Araceae) однодольные</i> <u>Монстера деликатесная</u> (Monstera deliciosa) Родина – Центральная и Южная Африка</p>	<p>Многолетняя травянистая лиана, нуждающаяся в опоре</p>	<p>Декоративно-лиственное одиночное фокусное растение, притягивающее взгляд</p>	<p>Полутень или яркий рассеянный свет, полив летом обильный, зимой умеренный, опрыскивание</p>	<p>Очищение воздуха от пыли и повышение влажности; выделение летучих веществ, обладающих лечебным действием</p>	<p>Корень. Лист. Стебель. Вегетативное размножение. Плоды. Экологические группы растений</p>
<p><u>Филодендрон лазающий</u> (Philodendron scandens) Родина – Центральная и Южная Америка</p>	<p>Многолетняя травянистая лиана, нуждающаяся в опоре</p>	<p>Декоративно-лиственное. Осевой центр группы в цветочной композиции</p>	<p>Полутень или яркий рассеянный свет, полив летом обильный, зимой умеренный, опрыскивание</p>	<p>Защита от шума; регулирование влажности воздуха и очищение от пыли; уменьшение электростатического поля; нейтрализация вредных веществ</p>	<p>Корень. Лист. Стебель. Вегетативное размножение. Растительные сообщества</p>
<p><i>Сем. Агавовые (Agavaceae) однодольные</i> <u>Драцена деремская</u> (Dracaena deremensis) Родина – тропическая Африка</p>	<p>Полукустарник</p>	<p>Декоративно-лиственное. Одиночное растение и элемент в композиции</p>	<p>Полутень (восточное или западное окно); полив летом обильный, зимой умеренный, опрыскивание</p>	<p>Увлажнение воздуха; поглощение паров бензола, трихлорэтилена из воздуха</p>	<p>Лист. Стебель. Вегетативное размножение. Растительные сообщества</p>
<p><i>Сем. Лилейные (Liliaceae) однодольные</i> <u>Алоэ древовидное пестрое</u> (Aloe arborescens variegata) Родина – Южная Африка</p>	<p>Многолетнее травянистое одревесневающее</p>	<p>Декоративно-лиственное. Элемент в композиции из суккулентов</p>	<p>Полив летом умеренный, зимой редкий</p>	<p>Выделение летучих веществ, оказывающих лечебное воздействие на нервную систему; активное поглощение из воздуха формальдегида. <i>Лекарственное сырье</i></p>	<p>Лист. Вегетативное размножение. Основные группы растений. Растительные сообщества. Экологические группы растений</p>
<p><u>Хлорофитум хохлатый</u> (Chlorophytum vittatum) Родина – Капская область Южной Африки</p>	<p>Многолетнее розеточное травянистое</p>	<p>Декоративно-лиственное одиночное ампельное растение и элемент в композиции</p>	<p>Яркий рассеянный свет; полив обильный, зимой умеренный; летом редкое опрыскивание</p>	<p>Хорошее увлажнение воздуха, активное поглощение формальдегида, окислов углерода и азота, толуола, бензола. Тонизирующее</p>	<p>Корень. Лист. Вегетативное размножение. Систематические группы. Метаморфозы побега</p>
<p><i>Сем. Аралиевые (Araliaceae) двудольные</i> <u>Плющ обыкновенный</u> (Hedera helix) Родина – Южная Европа, Кавказ</p>	<p>Лазающая вечнозеленая травянистая лиана</p>	<p>Декоративно-лиственное; вертикальное озеленение; ампельное почвопокровное</p>	<p>Полутень летом, яркий свет зимой; полив летом обильный, зимой умеренный; опрыскивание</p>	<p>Активное поглощение паров бензола из воздуха; выделение фитонцидов</p>	<p>Корень. Лист. Стебель. Вегетативное размножение. Метаморфозы. Экологические группы растений</p>
<p><u>Шеффлера древовидная</u> (Schefflera actinophylla) Родина – Полинезия, Индонезия</p>	<p>Вечнозеленое дерево</p>	<p>Декоративно-лиственное одиночное растение, притягивающее взгляд</p>	<p>Яркий рассеянный свет, полив умеренный (без переувлажнения почвы); опрыскивание</p>	<p>Увлажнение воздуха</p>	<p>Лист. Вегетативное размножение. Растительные сообщества</p>
<p><i>Сем. Бальзаминовые (Balsaminaceae)</i> <u>Бальзамин султанский</u> (Impatiens sultani) Родина – тропическая Африка</p>	<p>Многолетнее травянистое</p>	<p>Декоративно-цветущее Элемент цветочной композиции</p>	<p>Яркий рассеянный свет; полив обильный; опрыскивание без попадания на цветки</p>	<p>Тонизирующее и успокаивающее действие</p>	<p>Клетка. Лист. Стебель. Вегетативное и семенное размножение. Цветок</p>
<p><i>Сем. Бегониевые (Begoniaceae)</i> <u>Бегония королевская</u> (Begonia rex) Родина – о-ва Ява, Мадагаскар</p>	<p>Многолетнее травянистое</p>	<p>Декоративно-лиственное. Элемент цветочной композиции или одиночное растение</p>	<p>Рассеянный свет; полив умеренный летом и ограниченный зимой</p>	<p>Снижение содержания стрептококков в воздухе помещений; нейтрализация пыли и вредных веществ; снижение электростатического поля</p>	<p>Клетка. Лист. Стебель. Размножение. Цветок. Искусственный отбор</p>



1	2	3	4	5	6
Сем. Гераниевые ( <i>Geraniaceae</i> ) <u>Пеларгония душистая</u> ( <i>Pelargonium roseum</i> ) Родина – Капская обл. в Южной Африке	Многолетнее травянистое одревесне- вающее в нижней части побега	Декоративно- лиственное фоновое расте- ние	Прямой солнеч- ный свет. Полив обильный летом, умеренный зимой	Выделение летучих веществ и фитонцидов, регулирование активнос- ти дыхательных фер- ментов и обмена ве- ществ; снижение элект- ростатического поля	Клетка. Корень. Лист. Вегетатив- ное размножение. Фотосинтез
Сем. Геснериевые ( <i>Gesneriaceae</i> ) <u>Сенполия гибридная</u> ( <i>Saintpaulia hybrida</i> ) Родина – Центральная Африка	Многолетнее розогочно- корневищное травянистое	Декоративно- цветущее. Элемент комп- озиции из горшечных растений и компактного садика. Почво- покровное	Рассеянный сол- нечный свет, полив умеренный теплой водой. Опрыскивание запрещено	Выделение фитонци- дов, улучшающих показатели крови, снижение повышенно- го кровяного давления, восстановление сна	Цветок. Вегета- тивное размноже- ние. Сорта расте- ний. Искусствен- ный отбор
Сем. Кактусовые ( <i>Cactaceae</i> ) <u>Эхинопсис трубкоцветный</u> ( <i>Echinopsis tubiflora</i> ) Родина – Южн Америка	Многолетнее	Элемент для композиции из суккулентов	Яркий свет; полив умеренный теп- лой водой	Снижение электроста- тического поля	Лист. Стебель. Экологические группы растений. Семенное размно- жение
Сем. Крапивные ( <i>Urticaceae</i> ) <u>Пилея Спруса Норфолк</u> ( <i>Pilea Spruceana Norfolk</i> ) Родина – Китай, Япония	Многолетнее травянистое суккулентное	Декоративно- лиственное. Элемент композиций и почво- покровное	Полив обильный; опрыскивание	Очищение воздуха от пыли и повышенной влажности	Лист. Вегетатив- ное размножение. Дыхание
Сем. Рутовые ( <i>Rutaceae</i> ) <u>Лимон</u> ( <i>Citrus limon</i> ) Родина – троп Азия	Дерево	Декоративно- лиственное и декоративно- цветущее. Фокусное, притягивающее взгляд	Рассеянный свет; полив умеренный; частое опрыски- вание	Выделение фитонци- дов; уменьшение час- тоты сердечных со- кращений, снижение артериального давлени- я	Лист. Плод. Раз- множение. Цветок. Жизненная форма

На основе этой таблицы можно составить паспорт каждого вида растения. В качестве примера приводим полный паспорт одного вида комнатного растения (Бегонии королевской), который отражает методический подход к паспортизации комнатных растений в школе.

#### Паспорт

**Вид:** Бегония королевская (*Begonia rex*) – фото растения

**Семейство:** Бегониевые (*Begoniaceae*)

**Родина:** острова Ява, Мадагаскар

Обширный род бегоний объединяет до 500 видов, большинство из которых происходит из тропических лесов Америки, некоторые – из тропических лесов Африки и островов Малайского архипелага. Свое название бегонии получили в честь любителя и собирателя цветов губернатора М. Бегона, жившего в XVII веке.

**Жизненная форма:** Бегония королевская наиболее часто используемый вид в комнатном декоративном цветоводстве. Много форм и сортов. Имеет ползучий или извитой стебель, на котором на длинных красноватых черешках сидят листья. Листья крупные (30x20 см) неравномерно-яйцевидные или сердцевидные, коротко заостренные, края изрезанные. Окраска темно-зеленая с серебристым блеском, у края до темно-пурпурной. Нижняя сторона почти всегда красная или красноватая с явными заметными жилками.

Цветы мелкие, невзрачные, в редком соцветии на длинной, поникающей цветоножке. Чтобы растение не истощалось, цветочную стрелку обычно удаляют еще до распускания цветков.

Цветки чаще собраны в метелки, однополые: на одном растении развиваются как пестичные, так и тычинковые цветки. При искусственном опылении из завязи женского



цветка образуется плод – трехгранная коробочка с многочисленными мелкими семенами.

**Декоративные особенности:** Декоративнолиственное комнатное растение. В помещении можно разместить как одиночное растение, привлекающее внимание окраской и формой своих листьев. Его можно поставить прямо в горшке или скрыть горшок в красивом кашпо.

Можно использовать в композиции из горшечных растений:

- в стандартной композиции – растения, различающиеся по оттенкам и облику, составляют приятную для глаза группу (например, драцена, сансивьера, диффенбахия, сенполия гибридная, бегония королевская);

- в поддоне с галькой – растения, нуждающиеся в высокой влажности воздуха (например, маранта, узамбарская фиалка, колеус, бегония королевская).

Другой вариант – комнатный садик: контейнер, заполненный несколькими растениями (например, филодендрон лазящий, сциндапус, сенполия гибридная, бегония королевская, цикламен, пеперомия сморщенная).

**Условия содержания**

**Температура:** умеренная, зимой не ниже 15°C.

**Освещение:** яркий свет вдали от прямых солнечных лучей. Зимой полезно выставлять на несколько часов утром или вечером на хорошо освещаемое солнцем место.

**Полив:** с весны до осени поливают по мере подсыхания верхнего слоя почвы, не допуская пересыхания земельного кома. Ограниченный полив зимой.

**Влажность воздуха:** требует высокой влажности воздуха; горшок помещают во влажный торф; листья нельзя опрыскивать ни в коем случае.

**Пересадка:** ежегодно весной; в тесном горшке листья бледнеют.

**Размножение:** листовые черенки легко укореняются. Другой способ – деление растения при пересадке.

**Использование в школе:** Формирование биологических понятий:

- двудольные растения;
- видоизменения побегов;
- листовая мозаика;

пестролистность;

вегетативное размножение корневищами, листовыми пластинками, листовыми черенками, стеблевыми черенками; разнообразие стеблей.

**Оздоровительные свойства:** В жилых помещениях для нейтрализации пыли и вредных веществ, выделяющихся из синтепона, пластика, ДСП и других современных материалов, наряду с другими комнатными растениями идеально подходит бегония. При этом одного взрослого, хорошо развитого экземпляра достаточно на 10 м<sup>3</sup>, таким образом, в средней городской квартире должно проживать, как минимум, 10–15 растений.

На период работы перед компьютером (не ближе 20–30 см от монитора) рекомендуется выставить горшки с различными эфиромасличными растениями, в том числе и с бегонией. Выделяющиеся фитоорганические вещества, которые способствуют снятию усталости, очищают и оздоравливают воздух, усиливают иммунитет человека.

В офисных помещениях объемом до 100 м<sup>3</sup> рекомендуется разместить как минимум 15–20 экземпляров (по 2 развитых растения на 10 м<sup>3</sup>).

На каждые 10 м<sup>3</sup> в детских и учебных заведениях должно приходиться не менее 3–4 развитых крупномерных растений, т.е. 25–30 и более экземпляров на стандартное помещение объемом от 150 м<sup>3</sup>.

#### Библиографический список

1. Верзилин Н.М. Основы методики преподавания ботаники. М., 1955. 819 с.
2. Трайтак Д.И. Кабинет биологии: Пособие для учителей (из опыта работы). М., 1976. 142 с.
3. Методика обучения ботанике / Под ред. Н.В. Падалко, В.Н. Федоровой. М., 1977. 343 с.
4. Журкова Е.Н., Ильина Е.Я. Комнатные растения: Справочная кн. для учителей. М., 1968. 231 с.
5. Roth J. Pflanzen fürs Zimmer. 1. Aufl. Leipzig, 1987. 272 s.
6. Делла Беффа М.Т. Комнатные растения: Справочник / Пер. с итал. Н. Сухановой. М., 2002. 303 с.
7. Горбачева Г.Н., Мамедова Э.Т. Комнатные растения: Энциклопедия. М., 2002. 184 с.
8. Казаринова Н.В., Ткаченко К.Г. Здоровье дарят комнатные растения. СПб., 2003. 128 с.
9. Хессайон Д.Г. Все о комнатных растениях. 2-е изд. М., 2004. 255 с.



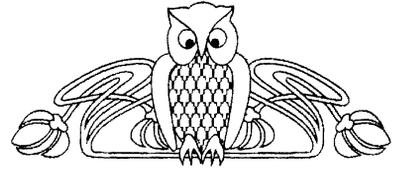
УДК 579.835:57.083.334

## ИММУНОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИГЕННЫХ СВОЙСТВ ПОЧВЕННЫХ РОСТСТИМУЛИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM*

Ю.А. Филипьева, А.Е. Беляков\*, Г.Л. Бурьгин\*, С.А. Коннова

Саратовский государственный университет  
E-mail: LjuChe@yandex.ru

\* Учреждение Российской академии наук Институт биохимии  
и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: gena@ibppm.sgu.ru



В статье представлены результаты иммунохимического анализа 63 штаммов ассоциативных ризобактерий рода *Azospirillum*. Показаны значительная гетерогенность О-антигенов штаммов видов *A. lipoferum* и *A. brasilense*, а также высокое сходство антигенных свойств ЛПС штаммов *A. irakense*. Серологически обособленным оказался штамм *A. amazonense*. Продемонстрирована высокая консервативность мажорных белковых антигенов данных бактерий.

**Ключевые слова:** *Azospirillum*, липополисахариды, серотипирование.

**Immunochemical Study of Antigenic Properties of Soil Plant-Growth-Promotion Bacteria of the Genus *Azospirillum***

Yu.A. Filipecheva, A.E. Belyakov, G.L. Burygin, S.A. Konnova

The results of immunochemical analysis of 63 strains of associative rhizobacteria genus *Azospirillum* presented in this paper. Significant heterogeneity of O-antigens of strains of *A. lipoferum* and *A. brasilense* have been demonstrated, as well as the high similarity of the antigenic properties of LPS strains of *A. irakense*. Serologically proved isolated strain *A. amazonense*. High conservatism of major protein antigens of these bacteria have been showed.

**Key words:** *Azospirillum*, lipopolysaccharides, serotyping.

Бактерии рода *Azospirillum* относят к группе ростстимулирующих ризобактерий, которые могут быть перспективными компонентами бактериальных консорциумов – микробных удобрений для инокуляции сельскохозяйственных растений [1]. При этом ряд штаммов азоспирилл могут быть использованы при биоремедиации почвы от загрязнения нефтепродуктами и гербицидами [2]. Азоспириллы обнаруживаются в ризосфере сельскохозяйственных и различных дикорастущих растений, на листьях мангровых растений, а также в почвах тундры [3–5]. Это дает основание утверждать, что они являются весьма широко распространенными ассоциативными бактериями, а их поликсенность указывает на отсутствие жесткой специфичности к растению-хозяину [6].

На сегодняшний день отсутствует оптимальный специфический метод детекции и мониторинга численности почвенных ризосферных бактерий. Одним из методов, используемых при изучении колонизации микроорганизмами растений, является иммунохимическое выявление. Однако большинство работ, выполняемых с помощью этого метода (по имеющимся литературным сведениям), посвящены изучению взаимодействия растений с фитопатогенами или представителями рода *Rhizobium*. Очень мало подобных работ, посвященных азотфиксирующим бактериям, вступающим во взаимодействие с небобовыми растениями.

В ИБФРМ РАН были проведены подробное исследование антигенных свойств и хемотипирование азоспирилл, но в основном модельных штаммов. Наша работа направлена на исследование разнообразия поверхностных антигенов азоспирилл коллекционных штаммов с целью построения системы серологической классификации данных бактерий.

В работе были использованы 63 штамма бактерий рода *Azospirillum* из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН, относящихся к 4 видам: *A. amazonense*, *A. brasilense*, *A. irakense* и *A. lipoferum*. Бактерии культивировали при 30°C на синтетической малатной среде [7].

Препараты ЛПС (О-Аг) для иммунохимических экспериментов получали модифицированным методом экстракции ЭДТА-содержащим буфером [8].

Для получения препарата полярного жгутика бактерии выращивали на жидкой малатной среде до логарифмической фазы роста, осаждали центрифугированием и ре-



суспендировали в достаточном количестве физиологического раствора. Полученную суспензию гомогенизировали блендером (1200 об/мин) в течение 90 с. Суспензию клеток дважды центрифугировали в течение 15 мин при 3000g. Полученный супернатант подвергали ультрацентрифугированию в течение 1 ч при 100000g.

В работе использовали кроличьи поликлональные антитела (Ат), обладающие О-антигенной специфичностью, полученные: на обработанные 2%-ным раствором глутарового альдегида клетки модельных штаммов *A. brasilense* [9]: Sp7 (Ат1), Sp245 (Ат2), JM125A2 (Ат3), *A. lipoferum* Sp59b (Ат4), *A. amazonense* Am14 (Ат8); на хроматографически очищенный липополисахарид (ЛПС) штаммов *A. brasilense* S-17(Ат5) и *A. irakense* KBC-1 (Ат6); Ат, полученные на интактные клетки *A. brasilense* Sp7 (Ат7), и Ат – на флагеллин полярного жгутика *A. brasilense* Sp7 (Ат9).

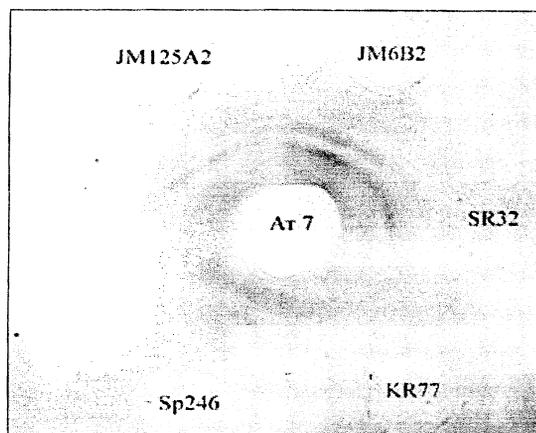
Иммунодиффузионный анализ осуществляли по стандартной методике в 1%-ном агарозном геле с последующим выявлением преципитата красителем Кумасси синим R-250 [10].

Твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА) выполняли, как описано в статье А.И. Красова с соавт. [11].

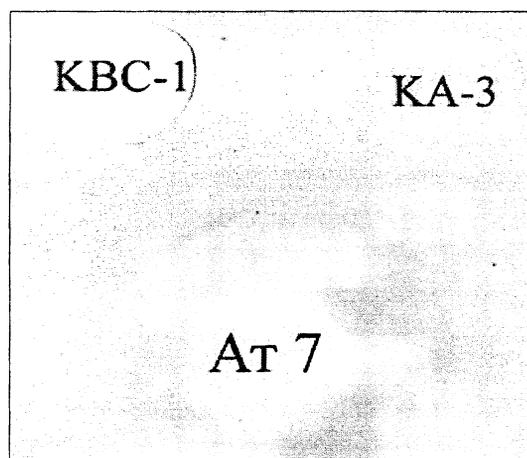
Денатурирующий электрофорез в ПААГ [12] с последующим Вестерн-блотом проводили в 10%-ном концентрирующем ПААГ.

Полученные результаты подвергали статистической обработке. Доверительные интервалы определяли для 95% уровня значимости. Эксперименты проводились минимум в трех повторностях.

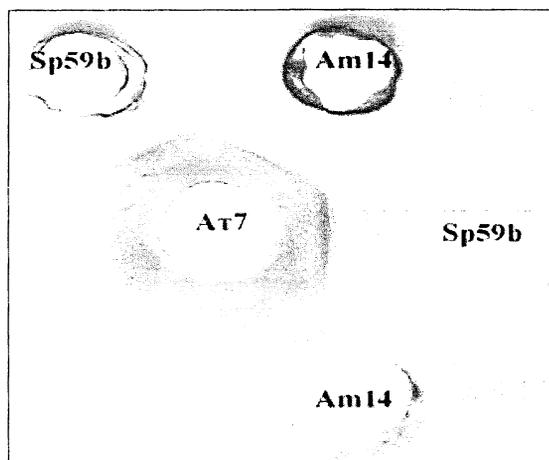
В результате проведенных экспериментов выявлено, что все 63 исследованных штамма взаимодействовали с родоспецифичными Ат. При этом штаммы видов *A. brasilense* и *A. lipoferum* в иммунодиффузии образовывали несколько полос преципитации (исключением являлся штамм *A. brasilense* KR77) (рис. 1, а), в то время как штаммы видов *A. irakense* и *A. amazonense* продемонстрировали образование лишь одной преципитационной полосы (рис. 1, б, в).



а



б



в

Рис. 1. Иммунодиффузионный анализ экстрактов клеток штаммов *A. brasilense* JM125A2, JM6B2, SR32, KR77, Sp246 (а); *A. irakense* KBC-1, KA-3 (б); *A. amazonense* Am14 и *A. lipoferum* Sp59b (в) с родоспецифичными антителами (Ат7)



При изучении свойств флагеллинов полярного жгутика (Н-антигена) бактерий рода *Azospirillum* иммунодиффузионным методом и проведением денатурирующего электрофореза в ПААГ с последующим Вестерн-бло-

том было выявлено, что жгутиковый антиген азоспирилл не является варибельным и у всех исследованных штаммов он реагирует с Ат на флагеллин полярного жгутика типового штамма *A. brasilense* Sp7 (рис.2).

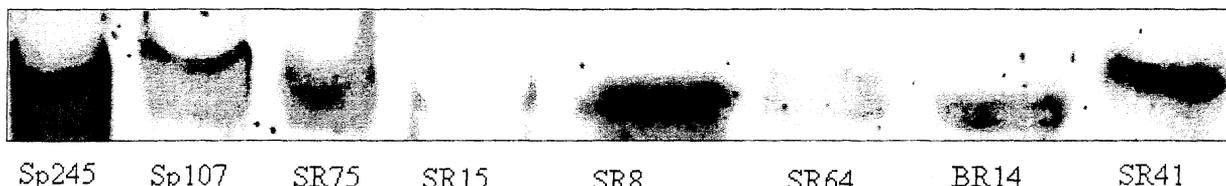


Рис. 2. Результат Вестерн-блота препаратов флагеллина штаммов Sp245, Sp107, SR75, SR15, SR8, SR64, BR14 и SR41 с Ат на флагеллин полярного жгутика *A. brasilense* Sp7 (Ат9)

Проведенные эксперименты свидетельствуют о высокой консервативности белковых антигенов у всех исследованных штаммов азоспирилл, что подтверждает возможность использования данных Ат для родовой идентификации.

Анализ результатов изучения разнообразия ЛПС (О-антигенов) азоспирилл позволил

разделить на 4 группы штаммы вида *A. brasilense* и на 3 группы штаммы *A. lipoferum* (таблица). При этом в каждом из этих видов выявлены штаммы, не имеющие антигенных перекрестов с О-антигенами модельных штаммов, но взаимодействующие с родоспецифичными антителами.

**Результаты серотипирования бактерий *A. brasilense* и *A. lipoferum***

Серотип	Серовариант	Характеристика сероварианта						Штаммы, отнесенные к сероварианту
		Ат 1	Ат 2	Ат 3	Ат 4	Ат 5	Ат 7	
<i>A. brasilense</i>								
I	A	+	-	-	-	++	+	SR80, Sp7
	B	+	-	-	-	+	+	SR55
	C	+	-	-	-	-	+	SR14
II	D	-	++	-	-	+	+	SR75, Sp107, Sp245
	E	-	+	-	-	+	+	SR81, S-27
	F	-	++	-	-	-	+	SR15
III	G	-	-	+	-	+	+	JM125A2, JM6B2, Sp246
	H	-	-	+	-	++	+	SR32
	I	-	-	+	-	-	+	KR77, SR115
Штаммы, не отнесенные к выделенным серотипам	J	-	-	-	-	+	+	SR7, SR37, SR57, SR88, SR92, SR96, SR100, SR103, S-17, SR59, SR74, SR120
	K	-	-	-	-	++	+	SR50, SR56, SR111, SR87, SR79
	L	-	-	-	-	-	+	SR8, SR64, SR72, SR41, BR14
<i>A. lipoferum</i>								
I	A	-	+	-	-	-	+	RG20a
II	B	-	-	-	+	-	+	SR4, SR38, SR61, SR85, SR98, SR99, Sp59b, SR65, SR62, SR35
	C	-	-	-	++	-	+	SR33
Штаммы, не отнесенные к выделенным серотипам	D	-	-	-	-	+	+	SR 42, SR 94, SR77
	E	-	-	-	-	++	+	SR 46, SR 47
	F	-	-	-	-	-	+	SR5, SR44, SR54, SR16

Примечание. «+» – одна полоса преципитации; «++» – две полосы преципитации; «-» – отсутствие взаимодействия.



Полученные данные во многом совпадают с таковыми работы [13], в которой были описаны антигенные свойства ЛПС нескольких штаммов видов *A. brasilense* и *A. lipoferrum*. Авторы указанной работы отмечают также высокую консервативность антигенных детерминант, выявляемых Ат к ЛПС *A. brasilense* S-17 (Ат5), что объясняется участием рамнозы в формировании эпитопов ЛПС азоспирилл. В отличие от препаратов ЛПС [13], ЭДТА-экстракт клеток *A. brasilense* Sp7 не реагировал с Ат4, что требует дальнейшего изучения.

Два исследованных штамма *A. irakense* оказались иммунохимически близкими между собой, но отличались от представителей других видов. При этом по результатам и иммунодиффузионного анализа, и ИФА взаимодействие штамма КВС-1 с гомологичными Ат было более интенсивно, нежели для клеток штамма КА-3, что указывает на имеющиеся различия в строении поверхностных антигенов изученных штаммов. Наши данные несколько расходятся с результатами, полученными в работе [13] для ЛПС *A. irakense* КВС-1 и Ат6. Возможно, это связано с различиями в экспонированности антигенных детерминант, находящихся в составе ЭДТА-экстракта клеток и в виде очищенного препарата ЛПС.

Серологически обособленным оказался штамм *A. amazonense* Ам 14, выявляемый только гомологичными и родоспецифичными Ат. Следует отметить, что ни один из исследованных штаммов других видов азоспирилл не взаимодействовал с Ат8, что может свидетельствовать об антигенной обособленности данного вида.

#### Библиографический список

1. Матора Л.Ю., Богатырев В.А., Дыкман Л.А., Щеголев С.Ю. Иммунохимическая идентификация азоспирилл и исследование их антигенных структур // Молекулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями / Под ред. В.В. Игнатова. М., 2005. С.209–237.
2. Муратова А.Ю., Турковская О.В., Антонюк О.Е. и др. Нефтеокисляющий потенциал ассоциативных ризобактерий рода *Azospirillum* // Микробиология. 2004. №6. С.1–7.
3. Agarwala-Dutt R., Tilak K.V.B.R., Rana J.P.S. Isolation of *Azospirillum* from interior of various parts of some graminaceous plants // Z. Mikrobiol. 1991. Bd.146. S.217–219.
4. Chaudhury S., Sengupta A. Association of nitrogen fixing bacteria with leaves of *Avicennia officinalis* L. a tidal mangrove tree of Sandarban // Indian. J. Microbiol. 1991. Vol.31. P.321–322.
5. Nosko P., Bliss L.C., Cook F.D. The association of free-living nitrogen-fixing bacteria with the roots of High Arctic graminoids // Arct. Alp. Res. 1994. Vol.26. P.180–186.
6. Bashan Y., Holguin G. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990–1996) // Can. J. Microbiol. 1997. Vol.43. P.103–121.
7. Döbereiner J., Day J.M. Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites // Proc. Intern. Symp. on N<sub>2</sub>-Fixation. Washington. 1976. P.518–537.
8. Leive L., Shovlin V.K., Mergemhagen S.E. Physical, chemical and immunological properties of lipopolysaccharides released from *Escherichia coli* by ethylenediaminetetraacetate // J. Biol. Chem. 1968. Vol.243. P.6384–6391.
9. Bogatyrev V.A., Dykman L.A., Matora L.Yu., Schwartzburd B.I. The serotyping of *Azospirillum* spp. by cell-gold immunoblotting // FEMS Microb. Lett. 1992. Vol.96. P.115–118.
10. Матора Л.Ю., Шварцбург Б.И., Щеголев С.Ю. Иммунохимический анализ О-специфических полисахаридов почвенных азотфиксирующих бактерий *Azospirillum brasilense* // Микробиология. 1998. Т.67, №6. С.815–820.
11. Красов А.И., Попова И.А., Филиппчева Ю.А., Бурьгин Г.Л., Матора Л.Ю. Применение иммуноферментного анализа для выявления азотфиксирующих бактерий рода *Azospirillum* в почвенных суспензиях // Микробиология. 2009. Т.78, №5. С.662–666.
12. Hitchcock P.J., Brown T.M. Morphological heterogeneity among *Salmonella* polysaccharide chemotypes in silver-stain polyacrylamide gels // J. Bacteriol. 1983. Vol.154. P.269–277.
13. Коннова О.Н., Бойко А.С., Бурьгин Г.Л., Федоненко Ю.П., Матора Л.Ю., Коннова С.А., Игнатов В.В. Химические и серологические исследования липополисахаридов бактерий рода *Azospirillum* // Микробиология. 2008. Т.77. №3. С.350–357.

## ЭКОЛОГИЯ

УДК [502.175:574.3:623.4] (470.44)

### ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ СИСТЕМЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА НА ОБЪЕКТЕ ПО УНИЧТОЖЕНИЮ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ в 2002–2008 годах

Г.В. Шляхтин, Т.В. Перевозникова

Саратовский государственный университет  
E-mail: biofac@sgu.ru

В 2002–2008 гг. разработан и внедрен в эксплуатацию проект системы мониторинга растительного и животного мира зоны защитных мероприятий объекта по уничтожению химического оружия (пос. Горный Саратовской области). Приведены результаты комплексной оценки состояния экосистем вокруг терминала с использованием биологических показателей.

**Ключевые слова:** уничтожение химического оружия, система мониторинга флоры и фауны, биоиндикаторы, сохранение редких и исчезающих видов растений и животных.

**Functioning of a Biomonitoring System at the Chemical Weapon Deactivation Plant in Saratov Region in 2002–2008**

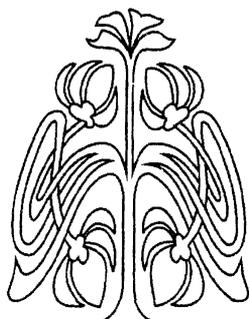
G.V. Shlyakhtin, T.V. Perevoznikova

A flora and fauna monitoring system for the protected area around the chemical weapon deactivation plant (town Gornyi, Saratov region) has been designed and introduced into practice (2002 - 2008). The results of our complex estimation of the ecosystem status around the object in terms of biological indicators are presented.

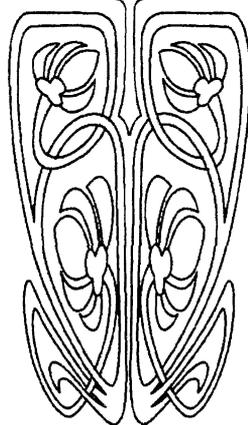
**Key words:** chemical weapon deactivation, flora and fauna monitoring system, biological indicators, conservation of rare and endangered species of plants and animals.

Первый в Российской Федерации объект по уничтожению химического оружия (ОУХО), расположенный в пос. Горный Саратовской области, функционирует более шести лет. Он был построен в соответствии с Конвенцией, ратифицированной Россией [1]. К декабрю 2005 г. были уничтожены все запасы иприта, люизита и их смесей, хранящиеся на территории терминала, что составило около 3% от общего объема запасов российского химического оружия (ХО). В настоящее время работа ОУХО в пос. Горный продлена до 2012 г. с целью уничтожения реакционных масс, получаемых в результате детоксикации люизита на ОУХО в пос. Горный и г. Камбарке (Постановление Правительства РФ от 24.10.2005 г. № 639 «О внесении изменений в федеральную целевую программу «Уничтожение запасов химического оружия в РФ»).

Строительство и функционирование потенциально опасных объектов, таких как ОУХО в Саратовской области, связаны с различными типами антропогенных перестроек экосистем [2]. Учитывая социальную значимость возникающих экологических проблем, а также пристальный контроль со стороны го-



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ





сударственных и общественных российских и международных организаций, ключевым направлением процесса УХО является обеспечение экологической безопасности [3–5]. Опыт создания систем безопасного химического разоружения, накопленный в Саратовском регионе, особенно важен при уничтожении ХО в других регионах: Удмуртии (г. Камбарка и г. Кизнер), Кировской (пос. Марадьковский), Брянской (г. Почеп), Курганской (г. Щучье) и Пензенской (пос. Леонидовка) областях.

Основополагающим фактором безопасного уничтожения ХО является экологический мониторинг [6–9]. Многоуровневая система экологического мониторинга на территории Саратовской области также включает концепцию биологического мониторинга (БМ) за состоянием популяций животных и растений в зоне техногенного влияния объекта. Цель БМ на территориях, сопредельных с ОУХО, заключается в получении информации, необходимой для оценки динамического состояния живых компонентов экосистем в условиях антропогенного вмешательства. Именно с помощью БМ могут быть получены косвенные данные о присутствии в различных компонентах экосистем токсичных и трудно идентифицируемых соединений [10–14]. Важно подчеркнуть, что за период функционирования системы экологического мониторинга вокруг ОУХО в Саратовской области в объектах окружающей природной

среды специфические загрязняющие вещества, выявляемые с помощью экоаналитических методов, не обнаружены.

#### Структура и основные направления комплексных биомониторинговых исследований

В связи с вышеизложенным необходимо представить главные направления функционирования системы БМ, внедряемой вокруг ОУХО в пос. Горный начиная с 2002 г. [15–22]. В качестве основного разработчика проекта БМ выступил Саратовский государственный университет. Алгоритм БМ реализован в рамках программы региональной многоуровневой системы экологического мониторинга окружающей среды района расположения ОУХО в пос. Горный.

Объектами БМ были выбраны ключевые биологические компоненты экосистем района расположения ОУХО в пос. Горный. Работы осуществлялись применительно к зоне защитных мероприятий (ЗЗМ) терминала, протяженность которой составляет 5–7 км от промышленной территории с общей площадью около 50 км<sup>2</sup>. Полевые исследования в ЗЗМ и на сопредельных с ОУХО территориях относились к трем уровням контроля: наблюдения за флорой и фауной на стационарных пунктах, использование подвижных средств регистрации состояния растительного и животного мира, а также мероприятия по биотестированию и биоиндикации (табл. 1).

Таблица 1

Структура комплексных биомониторинговых наблюдений, основные направления исследований, объем материала

Вид мониторингового контроля	Основные задачи исследований	Объекты исследований	Объем работ
Подвижные средства контроля и маршруты	Исследование видового разнообразия растений и животных	Растения и животные территории ЗЗМ	Пройдено ежегодно не менее 340 км маршрутов (площадь 52,5 км <sup>2</sup> )
Стационарные пункты наблюдений (модельные площадки)	Исследование биоразнообразия, динамики продуктивности экосистем	Растения и животные модельных площадок района расположения ОУХО	Заложено 10 модельных площадок 10 × 10 м для долговременных наблюдений
Биоиндикация и биотестирование	Интегральная оценка качества природной среды по биологическим показателям	Модельные виды животных (в том числе домовая и малая лесная мыши; речной окунь, плотва, серебряный карась, щука, озерная лягушка)	Осуществлен ежегодный отбор биопроб (по 25–75 экз. рыб, 25–30 экз. амфибий, 25 экз. млекопитающих)

На различных этапах исследований средствами оперативного и стационарного мониторинга ежегодно осуществлялось регулярное (в пределах сезонных аспектов) слежение за биологическими переменными (выделение и характеристика основных типов сообществ, изучение биоразнообразия ЗЗМ, картографирование и описание динамических особенностей флоры и фауны, выявление наиболее уязвимых и чувствительных видов-биоиндикаторов техногенного загрязнения, анализ показателей продуктивности продуцентов и консументов наземных экосистем).

Кратность экспедиционных выездов в район исследования в весенне-осеннее время – в среднем через каждые 20 дней, в зимний период – 1 раз в месяц. Учеты на маршрутах проводились с использованием общепринятых методик, разработанных для различных таксономических групп растений и животных. С учетом основных типов растительности, розы ветров и приуроченности точек химического пробоотбора заложено 10 модельных площадей, а также ряд дополнительных учетных площадок и мест сбора биообъектов, которые выбирались в зависимости от цели исследования (рис. 1). Ежегодно с модельных площадок анализировалось более 100 проб растительности.

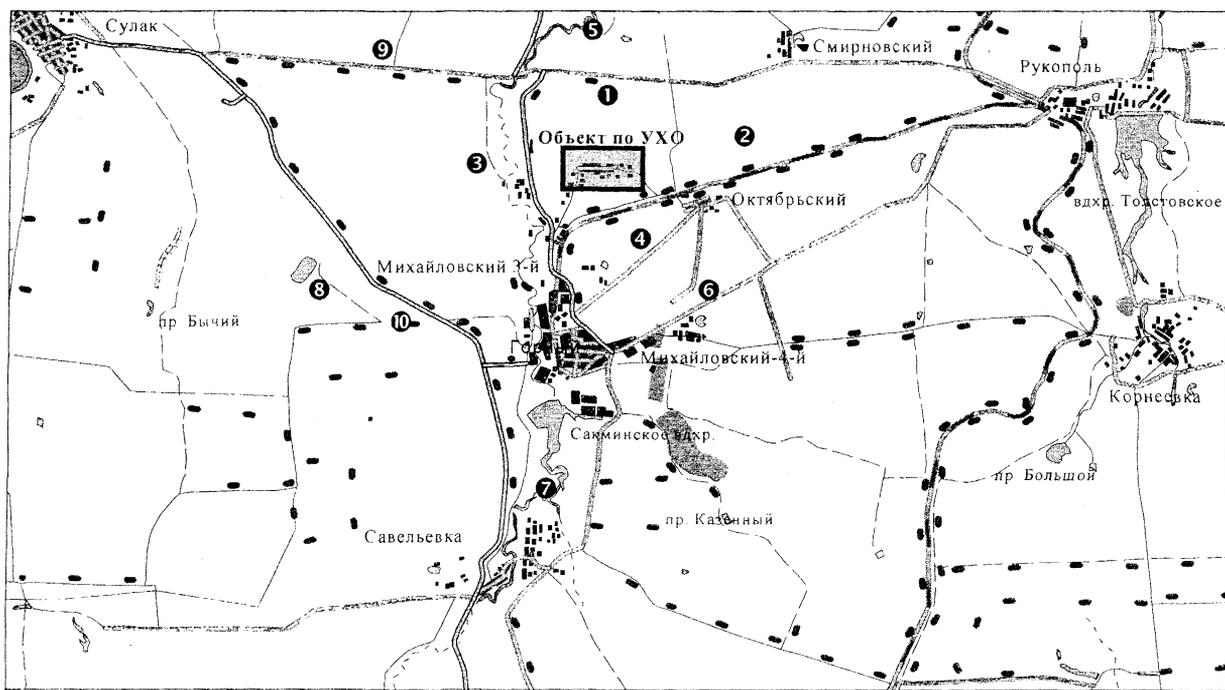


Рис. 1. Места расположения стационарных площадок вокруг ОУХО: 1, 3, 4, 6, 9 – пастбищные участки на различных сукцессионных стадиях; 2 – целинная степь; 5 – лугово-степной участок; 7 – пойма р. Сакмы; 8 – агроценозы; 10 – ползащитные насаждения

Заключение о состоянии наземных и водных экосистем района расположения ОУХО составляли также на основе применения интегральной методики оценки качества среды и изучения некоторых характеристик морфогенетического, цитогенетического и иммунологического гомеостаза модельных организмов [23–25]. С этой целью были использованы 4 вида рыб, 1 вид амфибий и 2 вида млекопитающих. Отбор животных проводился в 4 точках (центр пос. Горный;

р. Сакма в центре поселка; около границы с ОУХО; р. Сакма у развилки на ст. Рукополь). Контрольные точки находились в 25 км от пос. Горный.

В качестве показателя морфогенетического гомеостаза принималась величина флуктуирующей асимметрии билатеральных морфологических структур, которая оценивалась по абсолютному и относительному различию между сторонами. Цитогенетический гомеостаз определялся на основе учета



частоты хромосомных aberrаций и микроядер в клетках красного костного мозга. Общая оценка иммунологического гомеостаза получена при исследовании клеточного состава периферической крови модельных видов, а также с помощью метода розеткообразования с теофиллином [23–25]. Полученные данные обрабатывались на персональном компьютере с использованием пакета программ Statgraphics. Применение нескольких подходов и методов позволило получить достаточно объективные результаты биомониторинговых исследований.

#### Результаты биомониторинговых работ

Оценка фонового состояния растительного и животного мира района расположения ОУХО, которая проводилась с 2002 г., показала, что флора изучаемой территории насчитывает 454 вида сосудистых растений, из которых 25 занесены в Красную книгу Саратовской области. Фауна позвоночных бедна и включает около 210 видов, при этом более 50 из них являются редкими. Герпетофауна представлена 7-ю видами, среди которых степная гадюка отнесена к редким и охраняемым. Наиболее разнообразна фауна птиц: выявлено 137 видов, в том числе 39 редких и исчезающих. Состав млекопитающих включает 40 видов (8 редких и подлежащих охране). В ихтиофауне 22 вида, из которых 3 являются редкими. В ЗМ были также изучены некоторые группы беспозвоночных. Например, чешуекрылые представлены 339 видами, из которых 106 редкие и охраняемые.

Изучение флоры и фауны основных типов экосистем района ОУХО позволило сделать вывод о том, что динамика биоразнообразия за годы исследований относительно стабильна. Не выявлено значимых отличий в видовом составе по сравнению со стартовым состоянием (2002 г.). Это может свидетельствовать об устойчивом состоянии экосистем района расположения терминала. Следует подчеркнуть, что флора и фауна сопредельных с объектом территорий относительно бедны. Это связано с небольшим разнообразием биотопов в этом районе и его значительной антропогенной преобразованностью.

При изучении динамики биомассы первичных продуцентов отмечено, что показатели биопродукции имеют хорошо выраженную сезонную и фитоценотическую специфичность (рис. 2). Минимальные показатели биомассы в начале вегетационного периода ( $B_0$ ) выявлены для пастбищных участков, находящихся на различных сукцессионных стадиях (площадки 4 и 6), – 0.7 и 0.5 кг СВ/м<sup>2</sup> соответственно. Наиболее продуктивными в весенний период являются лугово-степные и прибрежноводные сообщества (площадки 5 и 9), для которых биомасса в конце вегетационного периода ( $B_m$ ) составила 5.7 и 6.2 кг СВ/м<sup>2</sup> соответственно (2002 г.). Продукция естественных фитоценозов характеризуется типичными для данной геоэкологической зоны чертами. Динамика их биопродукции свидетельствует о повышенном антропогенном влиянии, выражающемся в перевыпасе (площадки 3, 4 и 6) и другой сельскохозяйственной деятельности (площадка 8).

Анализ показателей биомассы консументов наземных экосистем подтверждает вывод о том, что динамические показатели состояния фауны определяются также в большей степени сезонными и биоценотическими факторами. Так, для малой лесной мыши в 2002 г. на участках, находящихся на разных сукцессионных стадиях демутации пастбищного сбоя, в летний период  $B_m$  составила  $2.1 \cdot 10^{-6}$  кг СВ/м<sup>2</sup>, а в осенний период –  $1.0 \cdot 10^{-6}$ . Это значительно уступает аналогичному показателю для тех же периодов в пределах слабо нарушенных местообитаний луговой степи ( $7.7$  и  $7.8 \cdot 10^{-5}$  кг СВ/м<sup>2</sup> соответственно).

Оценка величины вторичной продукции экосистем района исследования показала, что она вполне сопоставима с аналогичными показателями для других природных комплексов, испытывающих антропогенный пресс. На внешние воздействия наиболее сильно реагируют зоофаги основных местообитаний и фитофаги ценозов, нарушенных перевыпасом. Прямого влияния ОУХО на динамические показатели биомассы при изучении ассоциаций продуцентов и консументов наземных экосистем не обнаружено.

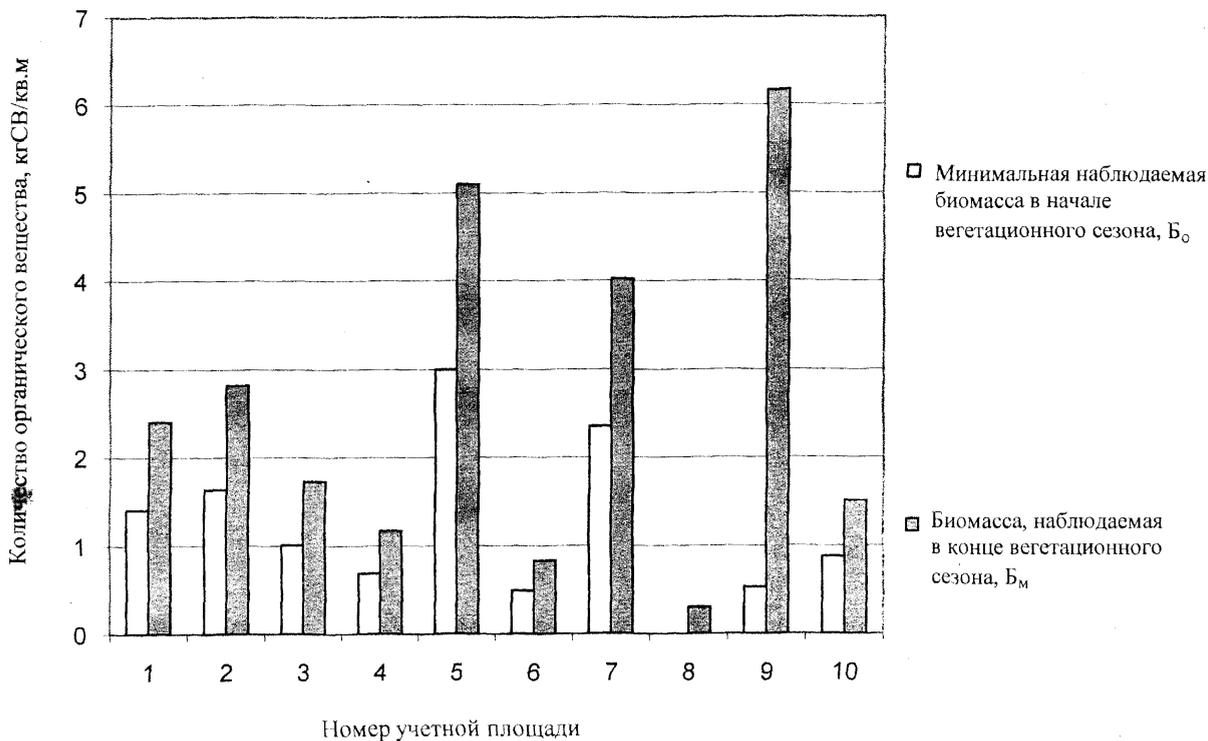


Рис. 2. Соотношение количества органического вещества биомассы в начале и конце вегетационного периода 2002 г. и ее годовой прирост на учетных площадях вокруг ОУХО: 1 – предклимаксовая сукцессионная стадия демуляции пастбищного сбоя; 2 – целинная типчаково-ковыльняная степь; 3 – сукцессионная стадия корневищных злаков демуляции пастбищного сбоя; 4 – пионерно-сукцессионная стадия демуляции пастбищного сбоя; 5 – лугово-степная растительность; 6 – полынный сбой пастбищной дигрессии залежи; 7 – прибрежно-водная растительность р. Сакмы; 8 – агроценозы (пары); 9 – бурьянистая стадия демуляции залежи; 10 – полезащитная лесная полоса (травянистый ярус)

Изучение состояния организмов семи модельных видов животных, которое осуществлялось с применением интегральной методики оценки здоровья среды и трех эколого-физиологических подходов, показало, что несмотря на некоторые различия в результатах, полученных по разным методам и видам, общая картина сходна. Анализ показателей морфогенетического гомеостаза двух модельных видов млекопитающих позволяет отметить, что ситуация на обширных пространствах агроценозов и участках степей различной стадии дигрессии вокруг объекта и поселка в целом соответствует условной норме (рис. 3).

Относительно тяжелая ситуация по пятому критическому баллу пятибалльной шкалы отклонений от нормы обнаружена в зоне наиболее сильного антропогенного воздействия – в центральной части пос. Горный. Причина этого – комплекс воздействий при-

родного и антропогенного характера, не связанных со спецификой функционирования терминала по УХО. В непосредственной близости от границ промышленной площадки терминала степень отклонения от нормы снижается или остается на прежнем уровне. При этом малая лесная мышь является более чувствительным видом в отношении внешних воздействий по сравнению с домовою.

Оценка состояния рыб и земноводных показала, что для участка русла р. Сакмы в пределах центральной части пос. Горный отклонения состояния организма по большинству параметров очень значительны (соответствуют IV–V баллам пятибалльной шкалы отклонений от нормы) и наблюдаются даже в Сакминском водохранилище (рис. 4).

В непосредственной близости от ОУХО ситуация несколько нормализуется (II–III баллы), однако она несколько хуже показателей, отмеченных для контрольной точки (р. Б. Ир-

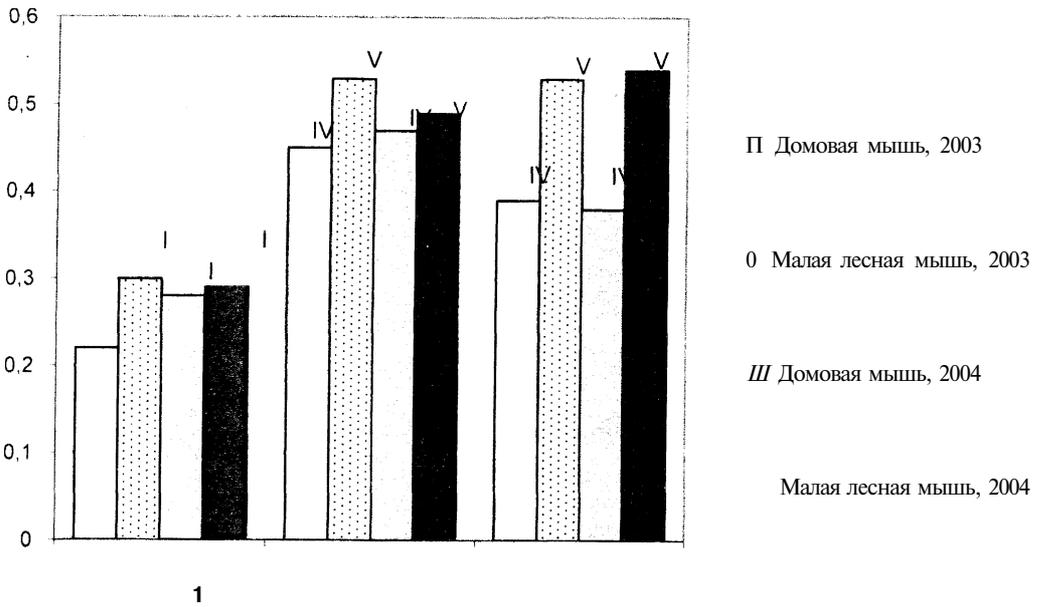


РИС. 3. Величина интегрального показателя стабильности развития в выборках двух видов млекопитающих, полученных в 2003-2004 гг.: / - 25 км от пос. Горный (контрольная); 2 ~ центр пос. Горный; 3 - у границ ОУХО; I-У - балльная оценка показателя, в которой I балл соответствует условной норме

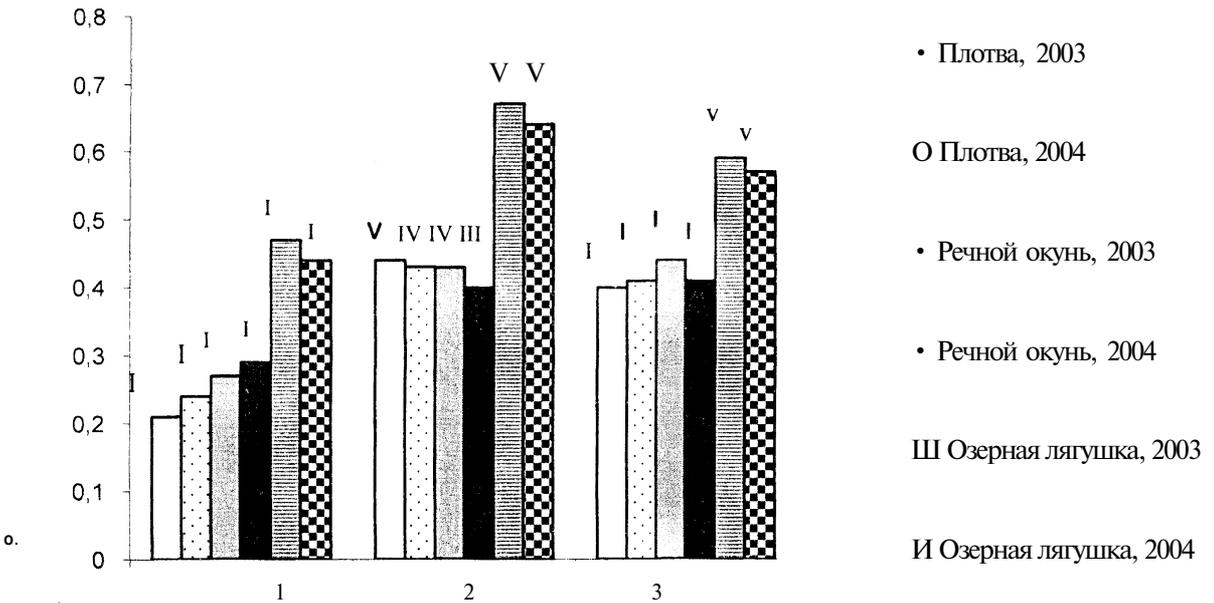


РИС. 4. Величина интегрального показателя стабильности развития в выборках двух видов рыб и одного вида амфибий (2003 -2004 гг.): / - р. Б. Ирғиз, 25 км от пос, Горный (контрольная); 2 - р. Сакма у переезда в центре пос. Горный; 3 - р. Сакма у границ ОУХО, развилка на ст. Рукополь

гиз в окрестностях с. Н. Сакма). Дополнительно было отмечено, что озерная лягушка более чувствительна к внешним воздействиям, чем другие использованные биоиндикаторы из группы гидробионтов. Главной при-

чиной негативного состояния р. Сакмы в пределах населенного пункта являются бытовые стоки и низкая проточность водоема, что значительно ухудшает ее способность к самоочищению. Прямого или опосредован-



ного воздействия ОУХО на водные ценозы за годы исследования не выявлено. В целом интегральный показатель морфогенетического гомеостаза у водных и наземных позвоночных достоверно выше в выборках из точек, находящихся в центральной части пос. Горный, и его значения соответствуют в среднем 4.3 балла пятибалльной шкалы оценки отклонений от нормы. В местах с интенсивным сельским хозяйством и выпасом скота, а также рядом с крупной автомобиль-

ной развилкой, находящейся на границе с ОУХО, этот показатель составил 3.9 балла.

Полученная оценка цитогенетического гомеостаза модельных видов млекопитающих по частоте aberrаций хромосом свидетельствует о его нарушении у животных из точек 2 и 3 по сравнению с контролем (табл. 2, 3). По пятибалльной шкале отклонений от нормы ситуация в условно контрольной точке соответствует первому баллу, в остальных отмечены отклонения от нормы, соответствующие II–III баллам.

Таблица 2

Частота клеток с разными типами хромосомных нарушений в выборках домовых мыши из разных точек в окрестностях пос. Горный

Показатели	Точки					
	1		2		3	
	2003 г.	2004 г.	2003 г.	2004 г.	2003 г.	2004 г.
Число особей	15	15	25	25	25	25
Число клеток	189	211	201	219	254	211
Аберрантные клетки, %:						
- с хромосомными делециями	1.6	1.8	6.7	6.2	5.4	5.3
- анеуплоидные клетки	–	–	–	–	0.5	–
Общее число аберрантных клеток*	1.6±0.90	1.6±0.09	6.7±1.04	6.5±1.06	5.9±1.05	5.7±1.02

\* В качестве спонтанного уровня принята частота аберрантных клеток до 3.5%.

Таблица 3

Частота встречаемости эритроцитов с микроядрами в периферической крови домовых мыши из разных точек пос. Горный и его окрестностей

Показатели	Точки					
	1		2		3	
	2003 г.	2004 г.	2003 г.	2004 г.	2003 г.	2004 г.
Число особей	15	15	25	25	25	25
Число клеток	9000	10000	21000	17000	11000	13000
Частота микроядерных клеток, %	2.12	2.01	3.12	3.11	1.76	1.89

Анализ результатов микроядерного теста у домовых мыши выявил, что максимальная частота клеток с микроядрами отмечена в выборке из точки 2, в которой исследованный вид показал превышение известной частоты спонтанного образования микроядер на 1% больше нормы. Данные микроядерного теста, характеризующего мутагенность среды, свидетельствуют о неблагоприятной ситуации в центральной части пос. Горный при наибольшем антропогенном воздействии.

Анализ периферической крови домовых мышей в исследуемых выборках показывает, что у животных из точек 2 и 3 наблюдается

лейкопения при выраженном лимфоцитозе. У животных из точки 2 отсутствуют изменения в количестве нейтрофилов и моноцитов по сравнению с контролем. Число эозинофилов в выборке мышей из точки 2 достоверно (при  $p < 0.05$ ) меньше. В противоположность этому у мышей из точки 3 наблюдалось пониженное содержание нейтрофилов и повышенное эозинофилов. Результаты, подтверждающие некоторые нарушения цитогенетического и иммунологического гомеостаза, были также получены в отношении малой лесной мыши, четырех модельных видов рыб и одного вида амфибий.



На основании результатов интегральной оценки качества среды необходимо заключить, что состояние экосистем на большей части района является удовлетворительным, однако имеет черты, характерные для регионов с развитыми сельским хозяйством и промышленностью и не связано со спецификой функционирования терминала по УХО. Зафиксированное антропогенное воздействие на природные комплексы, граничащие с объектом, является множественным и имеет отрицательную, а в некоторых случаях даже позитивную направленность. Например, с одной стороны, в ЗЗМ возрос фактор беспокойства вследствие привлечения к строительству промышленного комплекса значительного количества строительной техники и автотранспорта. Прокладка новых подъездных артерий, сооружение очистных сооружений и линий электропередачи, распашка эталонных степных и лугово-степных участков, примыкающих к границе промышленной зоны, сказались на увеличении раздробленности и контурности полей, а также вызвали некоторое снижение видового разнообразия природных комплексов в непосредственной близости от объекта.

С другой стороны, переход завода в режим штатного функционирования постепенно приводил к ситуации, когда степень антропогенного воздействия на экосистемы ЗЗМ несколько снизилась. Этапы исследований 2004–2008 гг. показали, что большинство подъездных путей к объекту, интенсивно используемых при его строительстве, законсервировано или демонтировано; в зоне отчуждения вокруг терминала стали преобладать молодые залежи, которые сформировались после распашки доминирующих здесь ранее целинных участков. В связи с этим в непосредственной близости от терминала были зарегистрированы различные формы пребывания редких для Саратовской области видов птиц (дрофы, стрепета, красавки, огаря, ходулочника, степной тиркушки).

#### Принципиальная схема мониторинга биоты на ОУХО

В результате осуществленных исследований вокруг ОУХО в пос. Горный обоснована система мониторинга биоты, которая объединяет как традиционные методы биологических исследований, так и специальные

методики. Она может быть рекомендована к использованию на других ОУХО. Алгоритм исследований состоит из нескольких последовательных этапов: подготовительного, этапа апробации и внедрения, анализа результатов мониторинга, контроля, корректировки и оптимизации системы, этапа управления качеством среды и управленческих решений (рис. 5).

На подготовительном этапе проводится определение биоиндикаторных и биомаркерных показателей состояния экосистем района расположения ОУХО. В состав биоиндикаторов включаются виды растений и животных, соответствующие требованиям, предъявляемым к тест-объектам, и являющиеся фоновыми в условиях расположения ОУХО. При создании системы определяются критерии качества окружающей природной среды по биологическим показателям для конкретного региона. Критерии качества, предлагаемые для использования в биологическом мониторинге, должны относиться к различным уровням организации живых систем – организменному, популяционному и экосистемному.

С учетом расположения основных типов растительности, геотехнических систем и мест химического пробоотбора в районе расположения ОУХО разрабатывается система стационарных площадок и маршрутов, проводится их картирование и маркирование для долговременного использования. Затем определяются периодичность и сроки выполнения биомониторинговых работ. Этап апробации и внедрения регламента мониторинга биоты заключается в постоянном круглогодичном слежении за состоянием растительного и животного мира средствами оперативного и стационарного мониторинга. Главной тенденцией данного этапа является оценка современного фонового состояния растительного и животного мира. При качественном анализе состава флоры оцениваются спектр жизненных форм, эндемизм и степень синантропизации. Изучение фауны предполагает определение фаунистических типов, количества и обилия фоновых и редких видов. Особое место в исследованиях отводится выявлению видов животных и растений, занесенных в Красные книги различного ранга.

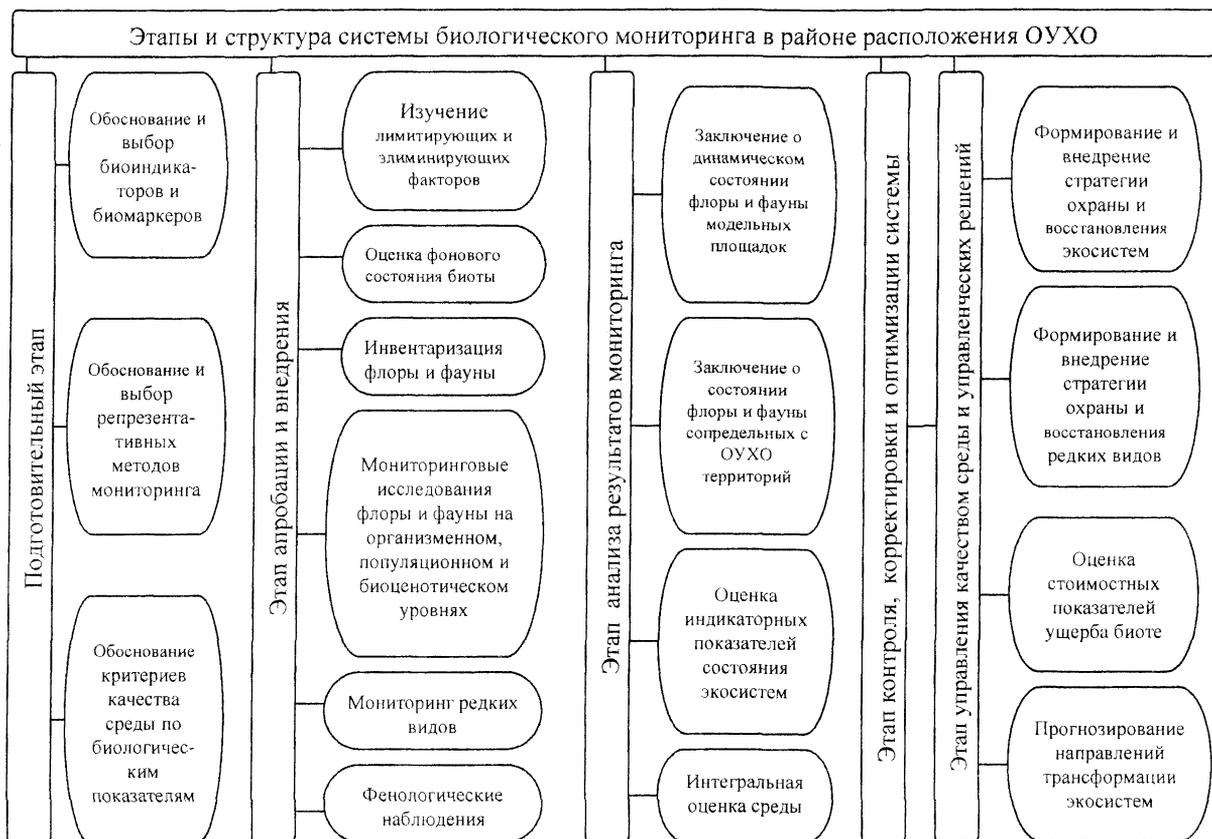


Рис. 5. Принципиальная схема мониторинга биоты в ЗЗМ ОУХО

Представление о фоновом состоянии экосистем дополняется сведениями о динамике биоценозов. Одновременно с определением основных типов растительных сообществ анализируются показатели динамики биомассы растительности модельных площадок. Оценивается также динамика зооценозов, в том числе колебания численности фоновых видов животных и особенности образования вторичной продукции в различные периоды наблюдений. Важным компонентом исследовательской деятельности на данном этапе является отбор проб растительности и животного материала для последующего анализа содержания в них загрязняющих веществ. Отбор биопроб производится в тех же точках, где отбираются почва, вода и воздух с учетом видовой территориальной представительности биообъектов и их транслокационной способности к загрязняющим веществам. На этапе апробации и внедрения целесообразно использовать комплексные тест-системы, включающие интегральную оценку качества окружающей среды [23–25].

Следующий этап биомониторинговых наблюдений является полностью аналитическим. Данные, полученные при реализации предыдущих этапов, представляют основу для описания состава и структуры фито- и зооценозов, построения индексов, характеризующих видовое разнообразие, полового и возрастного составов сообществ, анализа индикаторных показателей состояния экосистем и т.д. Результаты комплексных биомониторинговых работ, выполненных с помощью различных методик как на модельных площадках, так и на сопредельных территориях, способствуют получению интегральной оценки состояния природных комплексов района расположения ОУХО.

Контроль, корректировка и оптимизация алгоритма БМ охватывают все направления биомониторинговых работ. Например, дорабатываются методики унифицированного описания фенологических процессов, с помощью статистических методов определяются временные границы сезонных аспектов жизнедеятельности растительных и живот-



ных сообществ, в пределах которых проводится дальнейшее описание динамических процессов в экосистемах.

Этап управления качеством природной среды заключается в принятии и реализации управленческих решений с учетом информации, полученной на основе анализа результатов БМ. Кроме того, данный этап работ должен закладывать основу для прогнозирования динамики биологических показателей в период функционирования ОУХО и в последующий после УХО период. С использованием параметров, характеризующих состав и структурные особенности растительных и животных сообществ, исторических сведений о функционировании биоценозов в прошлом, а также сведений о современных динамических процессах в популяциях формируется модель наиболее вероятного последующего развития биоты. При этом рассматриваются варианты естественной трансформации экосистем и ожидаемые изменения при различной интенсивности воздействия контролируемых факторов, вплоть до последствий техногенной катастрофы. Нормативные документы, основанные на данных о биоразнообразии исследованных территорий и характере антропогенного вмешательства, представляют собой предварительные материалы для определения стоимостных показателей ущерба растительному и животному миру, который может быть нанесен в процессе строительства и функционирования ОУХО.

Результаты мониторинга биоты на сопредельных с ОУХО территориях актуализировали проблему сохранения и восстановления нарушенных человеческой деятельностью экосистем, и особенно редких и исчезающих видов флоры и фауны. С целью определения путей минимизации возможного ущерба в результате штатного и внештатного функционирования объекта в работе представлена стратегия охраны и восстановления экосистем и их разнообразия. Важно, чтобы охранные и восстановительные мероприятия на сопредельных с ОУХО территориях начинались с биоремедиации, технической и биологической рекультивации, специализированной территориальной охраны, лесовосстановительных работ и озеленения.

Современный этап БМ на территории вокруг ОУХО предполагает решение задач по оптимизации вхождения разработанной системы в единую систему государственного экологического мониторинга, а также по внедрению современных высокотехнологичных биологических подходов и ГИС-технологий.

#### Библиографический список

1. Конвенция о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении. М., 1996.
2. Шкодиц П.Е., Желтобрюхов В.Ф., Клаучек В.В. Эколого-гигиенические проблемы уничтожения химического оружия. Волгоград. 2004. 236 с.
3. Куценко В.В., Горлов В.Г., Протопопов Е.В. Обоснование общей концепции обеспечения экологической безопасности работ по уничтожению химического оружия // Рос. хим. журн. (Журн. Рос. хим. о-ва им. Д.И. Менделеева). 1994. Т. XXXVIII, № 2. С. 110–112.
4. Холстов В.И., Тарасевич Ю.В., Григорьев С.Г. Пути решения проблемы безопасности объектов по уничтожению химического оружия // Рос. хим. журн. (Журн. Рос. хим. о-ва им. Д.И. Менделеева). 1995. Т. XXXIX, № 4. С. 65–72.
5. Симманский А.В. Обеспечение безопасности хранения и уничтожения ХО // Состояние окружающей среды в районе хранения химического оружия и месте размещения будущего объекта по его уничтожению. Пенза, 1999. С. 5–13.
6. Кургузкин М.Г. Экологический мониторинг и контроль на объектах повышенной опасности // Экологический мониторинг. М.; Ижевск, 2002. С. 122–126.
7. Зубцовский Н.Е. К вопросу об организации системы локального экологического мониторинга на территории Удмуртской Республики // Экологический мониторинг. М.; Ижевск, 2002. С. 55–65.
8. Израэль Ю.А., Филиппова Л.М., Семевский Ф.Н. О некоторых теоретических аспектах экологического мониторинга состояния природной среды // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. Л., 1979. Т. 2. С. 7–29.
9. Решетников С.М. Некоторые вопросы экологического мониторинга в связи с проблемами уничтожения вооружений // Экологический мониторинг. М.; Ижевск, 2002. С. 66–68.
10. Голденков В.А., Дикий В.В., Лизунова Г.В. Феномен множественной химической чувствительности как следствие воздействия сверхмалых доз веществ // Рос. хим. журн. (Журн. Рос. хим. о-ва им. Д.И. Менделеева). 2002. Т. XLVI, № 6. С. 39–45.
11. Стрельцов А.Б. Региональная система биологического мониторинга. Калуга, 2003. 158 с.
12. Криволицкий Д.А., Тихомиров Ф.А., Федоров Е.А. Биоиндикация и экологическое нормирование // Влияние промышленных предприятий на окружающую среду. М., 1987. С. 18–27.



13. Захаров В.Ю. Концепция биомониторинга как составной части комплексного экологического мониторинга // Экологический мониторинг. М.; Ижевск, 2002. С.42–54.

14. География и мониторинг биоразнообразия. М., 2002. 432 с.

15. Шляхтин Г.В., Завьялов Е.В., Перевозникова Т.В. Теоретические подходы и практические рекомендации по созданию и внедрению системы биологического мониторинга на объектах по уничтожению химического оружия // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения. Саратов, 2004. Вып.7. С.119–130.

16. Шляхтин Г.В., Завьялов Е.В., Перевозникова Т.В. Экологические и исторические аспекты уничтожения химического оружия в Саратовской области // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения. Саратов, 2005. Вып.8. С.88–96.

17. Шляхтин Г.В., Завьялов Е.В., Перевозникова Т.В. Экологические проблемы уничтожения химического оружия в Саратовской области // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения. Саратов, 2005. Вып.8. С.97–105.

18. Толстых А.В., Шляхтин Г.В., Завьялов Е.В., Перевозникова Т.В. Разработка, внедрение и эксплуатация системы биологического мониторинга на объекте по уничтожению химического оружия в Саратовской области // Поволж. экол. журн. Спец. вып. Саратов, 2005. С.47–62.

19. Шляхтин Г.В., Толстых А.В., Завьялов Е.В., Перевозникова Т.В. Оценка морфогенетического гомеостаза живых компонентов экосистем в системе биологического

мониторинга (на примере объекта по уничтожению химического оружия в пос. Горный Саратовской области) // Поволж. экол. журн. Спец. вып. Саратов, 2005. С.83–102.

20. Шляхтин Г.В., Завьялов Е.В., Перевозникова Т.В. Интегральная оценка состояния живых компонентов экосистем в биологическом мониторинге объектов по уничтожению химического оружия (на примере пос. Горный Саратовской области) // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения. Саратов, 2006. Вып.9. С.82–90.

21. Перевозникова Т.В., Шляхтин Г.В., Завьялов Е.В., Березуцкий М.А. Теоретические и практические подходы к выделению модельных площадей как основополагающий этап в организации биомониторинговых наблюдений на объектах по уничтожению химического оружия // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения. Саратов, 2006. Вып.9. С.97–102.

22. Перевозникова Т.В. Система биологического мониторинга вокруг объектов по уничтожению химического оружия (на примере терминала в пос. Горный Саратовской области): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 2007. 20 с.

23. Захаров В.М. и др. Биотест: Интегральная оценка здоровья экосистем и отдельных видов. М., 1993. 68 с.

24. Захаров В.М. и др. Последствия чернобыльской катастрофы: Здоровье среды. М., 1996. 170 с.

25. Захаров В.М., Баранов А.С., Борисов В.И., Валецкий А.В. Здоровье среды: методика оценки. М., 2000. 68 с.

УДК 577.35

## ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЕРЕМЕННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ПРИРОСТ ОДНОКЛЕТОЧНОЙ ВОДОРΟΣЛИ *SCENEDESMUS*

Д.А. Усанов, А.В. Скрипаль, А.В. Рзянина, А.Д. Усанов

Саратовский государственный университет  
E-mail: UsanovDA@info.sgu.ru

Исследована зависимость прироста биомассы одноклеточной водоросли *Scenedesmus* от времени воздействия переменного низкочастотного магнитного поля. Установлено, что длительность культивирования водоросли в переменном магнитном поле можно сократить до 3 суток. Этого достаточно, чтобы существенно повысить скорость роста одноклеточной водоросли *Scenedesmus*.  
**Ключевые слова:** одноклеточные водоросли *Scenedesmus*, переменное магнитное поле, биомасса.

**Influence of Action Time of Variable Low-Frequency Magnetic Field on the Growth of Single-Celled Alga *Scenedesmus***

D.A. Usanov, A.V. Skripal, A.V. Rzyanina, A.D. Usanov

The dependence of biomass growth of single-cell alga *Scenedesmus* on action time of variable low-frequency magnetic field has been investigated.

It has been established that the long of cultivation of the alga in variable magnetic field can be to reduce up to 3 days. That is enough for essential increase of growth rate of single-cell alga *Scenedesmus*.

**Key words:** single-cell alga, *Scenedesmus*, variable magnetic field, biomass.



### Введение

Фотосинтезирующие организмы, в частности микроводоросли, привлекают все большее внимание исследователей в области биотехнологии. По своим морфологическим, физиолого-биохимическим характеристикам микроводоросли являются общепризнанным объектом массового культивирования для нужд биотехнологического производства.

Для этой цели, в частности, могут быть использованы одноклеточные водоросли – хлорелла и сценедесмус [1–4]. Это довольно неприхотливые, быстро делящиеся водоросли. При выращивании в благоприятных условиях процесс деления их клеток занимает примерно 12 часов. Фотосинтез в этих организмах некоторое время может продолжаться



13. Захаров В.Ю. Концепция биомониторинга как составной части комплексного экологического мониторинга // Экологический мониторинг. М.; Ижевск, 2002. С.42–54.

14. География и мониторинг биоразнообразия. М., 2002. 432 с.

15. Шляхтин Г.В., Завьялов Е.В., Перевозникова Т.В. Теоретические подходы и практические рекомендации по созданию и внедрению системы биологического мониторинга на объектах по уничтожению химического оружия // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения. Саратов, 2004. Вып.7. С.119–130.

16. Шляхтин Г.В., Завьялов Е.В., Перевозникова Т.В. Экологические и исторические аспекты уничтожения химического оружия в Саратовской области // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения. Саратов, 2005. Вып.8. С.88–96.

17. Шляхтин Г.В., Завьялов Е.В., Перевозникова Т.В. Экологические проблемы уничтожения химического оружия в Саратовской области // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения. Саратов, 2005. Вып.8. С.97–105.

18. Толстых А.В., Шляхтин Г.В., Завьялов Е.В., Перевозникова Т.В. Разработка, внедрение и эксплуатация системы биологического мониторинга на объекте по уничтожению химического оружия в Саратовской области // Поволж. экол. журн. Спец. вып. Саратов, 2005. С.47–62.

19. Шляхтин Г.В., Толстых А.В., Завьялов Е.В., Перевозникова Т.В. Оценка морфогенетического гомеостаза живых компонентов экосистем в системе биологического

мониторинга (на примере объекта по уничтожению химического оружия в пос. Горный Саратовской области) // Поволж. экол. журн. Спец. вып. Саратов, 2005. С.83–102.

20. Шляхтин Г.В., Завьялов Е.В., Перевозникова Т.В. Интегральная оценка состояния живых компонентов экосистем в биологическом мониторинге объектов по уничтожению химического оружия (на примере пос. Горный Саратовской области) // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения. Саратов, 2006. Вып.9. С.82–90.

21. Перевозникова Т.В., Шляхтин Г.В., Завьялов Е.В., Березуцкий М.А. Теоретические и практические подходы к выделению модельных площадей как основополагающий этап в организации биомониторинговых наблюдений на объектах по уничтожению химического оружия // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения. Саратов, 2006. Вып.9. С.97–102.

22. Перевозникова Т.В. Система биологического мониторинга вокруг объектов по уничтожению химического оружия (на примере терминала в пос. Горный Саратовской области): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 2007. 20 с.

23. Захаров В.М. и др. Биотест: Интегральная оценка здоровья экосистем и отдельных видов. М., 1993. 68 с.

24. Захаров В.М. и др. Последствия чернобыльской катастрофы: Здоровье среды. М., 1996. 170 с.

25. Захаров В.М., Баранов А.С., Борисов В.И., Валецкий А.В. Здоровье среды: методика оценки. М., 2000. 68 с.

УДК 577.35

## ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЕРЕМЕННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ПРИРОСТ ОДНОКЛЕТОЧНОЙ ВОДОРОСЛИ *SCENEDESMUS*

Д.А. Усанов, А.В. Скрипаль, А.В. Рзянина, А.Д. Усанов

Саратовский государственный университет  
E-mail: UsanovDA@info.sgu.ru

Исследована зависимость прироста биомассы одноклеточной водоросли *Scenedesmus* от времени воздействия переменного низкочастотного магнитного поля. Установлено, что длительность культивирования водоросли в переменном магнитном поле можно сократить до 3 суток. Этого достаточно, чтобы существенно повысить скорость роста одноклеточной водоросли *Scenedesmus*.  
**Ключевые слова:** одноклеточные водоросли *Scenedesmus*, переменное магнитное поле, биомасса.

**Influence of Action Time of Variable Low-Frequency Magnetic Field on the Growth of Single-Celled Alga *Scenedesmus***

D.A. Usanov, A.V. Skripal, A.V. Rzyanina, A.D. Usanov

The dependence of biomass growth of single-cell alga *Scenedesmus* on action time of variable low-frequency magnetic field has been investigated.

It has been established that the long of cultivation of the alga in variable magnetic field can be to reduce up to 3 days. That is enough for essential increase of growth rate of single-cell alga *Scenedesmus*.

**Key words:** single-cell alga, *Scenedesmus*, variable magnetic field, biomass.



### Введение

Фотосинтезирующие организмы, в частности микроводоросли, привлекают все большее внимание исследователей в области биотехнологии. По своим морфологическим, физиолого-биохимическим характеристикам микроводоросли являются общепризнанным объектом массового культивирования для нужд биотехнологического производства.

Для этой цели, в частности, могут быть использованы одноклеточные водоросли – хлорелла и сценедесмус [1–4]. Это довольно неприхотливые, быстро делящиеся водоросли. При выращивании в благоприятных условиях процесс деления их клеток занимает примерно 12 часов. Фотосинтез в этих организмах некоторое время может продолжаться



и в темноте за счет энергии, запасенной в «светлый» период. Для увеличения выхода биомассы требуется регулярное перемешивание суспензии водорослей. Ясно, что исследования, связанные с повышением скорости роста водорослей и, следовательно, с повышением выхода биомассы, представляют как научный, так и практический интерес.

В последнее время накоплено большое количество экспериментальных данных по воздействию слабых магнитных полей на биологические объекты и водные растворы биомолекул [5–9]. В ряде работ, например, в [10], показано опосредованное влияние магнитного поля на живые организмы. То есть воздействие магнитного поля, как на биообъекты, так и на среды их обитания, может оказывать влияние на жизнедеятельность организмов. В частности, можно предположить, что результатом такого воздействия будет изменение скорости их размножения. Поэтому представляет интерес исследование изменения скорости роста водорослей в результате воздействия низкочастотного магнитного поля с целью выявления возможности повышения эффективности технологии получения сырья для биотехнологического производства.

В результате ранее проведенных исследований по воздействию магнитного поля на плодовитость пресноводного рачка – *Daphnia magna* Straus, являющегося тест-объектом при оценке состояния водной среды [11–14], было установлено, что выраженный эффект повышения плодовитости наблюдался при частоте воздействующего магнитного поля 6 Гц с индукцией 25 мТл и времени воздействия не менее 60 мин. В ряде работ при исследовании воздействия магнитного поля на биообъекты и среды их обитания не указывалось время воздействия. Однако авторами работ [15–17] подчеркивалась высокая значимость влияния этого фактора на результат воздействия. Кроме научной значимости при производстве биомассы он может иметь и экономическое значение.

В этой связи целью настоящей работы явилось исследование влияния времени воздействия низкочастотного магнитного поля с

индукцией 25 мТл и частотой 6 Гц на скорость роста одноклеточной водоросли *Scenedesmus*.

#### Методика эксперимента

В качестве тест-объекта нами была выбрана лабораторная культура одноклеточной водоросли *Scenedesmus*. Культивирование водоросли осуществлялось при температуре 20–25°C в конических колбах объемом 250 мл, на одну треть заполненных питательной средой. Для приготовления питательной среды использовалась аквариумная стерилизованная вода с добавлением солей. Для приготовления 3-х литров среды в стерильную аквариумную воду добавляли: 0,24 г  $Mg\ SO_4$ , 0,024 г  $KH_2\ PO_4$ , 0,3 г  $KNO_3$ , 0,3 мл  $FeCl_3\ 6H_2O$ . Культуру водоросли перемешивали 1–2 раза в сутки для предотвращения оседания клеток водоросли на дно и обогащения культуры  $CO_2$ . Пересев культуры *Scenedesmus* проводили не реже одного раза в 10 дней. Для этого стерильной пипеткой производили забор части «старой» культуры и вносили ее в свежую питательную среду в соответствии с рекомендациями, данными в [17, 18].

Для проведения эксперимента культуру одноклеточной водоросли *Scenedesmus* помещали в переменное низкочастотное магнитное поле с индукцией 25 мТл и частотой 6 Гц. Образцы подвергались воздействию магнитного поля в течение различных периодов времени (1, 2, 3, 4, 5, 6 суток). Далее за всеми образцами на протяжении и 6–7 сут проводилось наблюдение. Ежедневно подсчитывалось количество клеток водоросли в 1 мл раствора для определения скорости роста культуры в образцах, подвергнутых омагничиванию в течение различных периодов времени.

Источником магнитного поля служил вращающийся диск диаметром 25 см, на котором были радиально прикреплены чередующиеся по полярности постоянные магниты с осью намагничивания, перпендикулярной плоскости диска. Диск помещался непосредственно под колбу с культурой водоросли и вращался с помощью электродвигателя



в горизонтальной плоскости с фиксированной скоростью, обеспечивающей наличие в любой точке рабочей камеры переменного поля заданной частоты. Амплитуда индукции магнитного поля  $H$  внутри камеры вблизи ее дна составляла 25 мТл. Было исследовано влияние магнитного поля с частотой 6 Гц.

#### Результаты эксперимента

В результате проведенных экспериментов была получена зависимость прироста клеток одноклеточной водоросли *Scenedesmus* от времени предварительного воздействия на культуру переменного низкочастотного магнитного поля с индукцией 25 мТл и частотой 6 Гц (рис. 1).

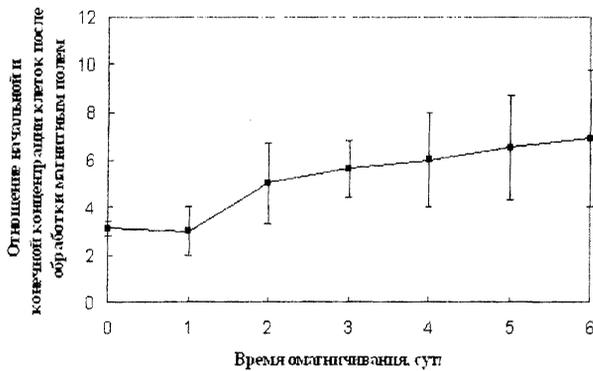


Рис. 1. Зависимости прироста клеточной массы (отношения начальной и конечной концентрации клеток) от времени воздействия магнитного поля

Из результатов, приведенных на рис. 1, видно, что существенный прирост клеточной массы наблюдается, начиная с 2–3-х суток предварительного облучения, т.е. для стимуляции роста клеток под действием переменного магнитного поля необязательно постоянно держать культуру в поле действия магнитов. Можно предположить, что стимуляция произойдет, если дать предварительный «толчок» в виде воздействия на биосреду переменным магнитным полем с индукцией 25 мТл и частотой 6 Гц в течение определенного времени, что в дальнейшем приведет к существенному приросту биомассы клеток.

На рис. 2 представлены данные о приросте клеточной массы в образцах, обработанных переменным магнитным полем с индукцией 25 мТл и частотой 6 Гц, по сравнению с контролем. Видно, что более длительная обработка дает большее увеличение выхода клеток.

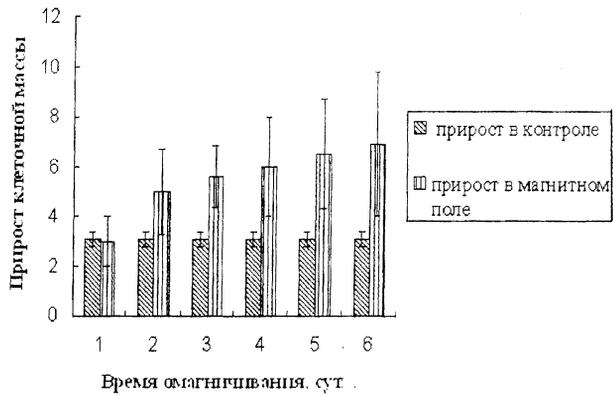


Рис. 2. Прирост клеточной биомассы (отношение начальной и конечной концентрации клеток) в образцах, подвергнутых воздействию магнитного поля, по сравнению с контролем

На рис. 3 приведены результаты определения скорости прироста клеток в зависимости от времени воздействия магнитного поля.

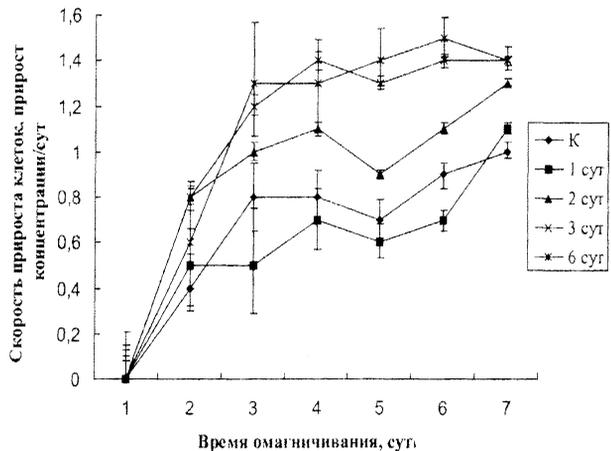


Рис. 3. Скорость прироста клеток одноклеточной водоросли *Scenedesmus*

Видно (рис. 3), что кривая скорости прироста клеток в сутки для культур клеток, обработанных магнитным полем двое и более суток, идет значительно выше, чем для контрольной культуры и культуры, обработанной магнитным полем в течение одних суток. Начиная с 3-суточной обработки культуры клеток магнитным полем, наблюдается сначала рост кривой скорости прироста клеток с последующим выходом на плато. Следует также отметить, что кривые скорости прироста клеток в этом случае идут выше, чем при менее длительной обработке. Начиная с 3-суточной обработки, зависимости скорости прироста клеток от времени омагничивания



отличаются слабо. Следовательно, при использовании описанной технологии культивирования одноклеточной водоросли можно ограничить время воздействия магнитного поля тремя сутками.

#### Заключение

Таким образом, в результате исследования воздействия низкочастотного магнитного поля с индукцией 25 мТл и частотой 6 Гц на скорость роста одноклеточной водоросли *Scenedesmus* в зависимости от времени воздействия магнитного поля установлено, что длительность культивирования водоросли в переменном магнитном поле можно сократить до 2–3 суток. Этого достаточно, чтобы существенно повысить скорость роста тестируемой культуры и увеличить выход биомассы клеток.

#### Библиографический список

1. Дебабов В.Г. Биотопливо // Биотехнология. 2008. №1. С.3–14.
2. Калужный С.В. Энергетический потенциал анаэробного сбраживания отходов с получением биогаза и использованием микробных топливных элементов в условиях России // Биотехнология. 2008. №3. С.3–12.
3. Рокосов Ю.В. Геохимия процессов образования и гидротермального разложения сапропелитового керогена: Дис. ... д-ра геол.-минерал. наук: 25.00.09. Кемерово, 2004. 334 с.
4. Миллиметровые волны и фотосинтезирующие организмы / Под ред. Ю.В. Гуляева, А.Х. Тамбиева. М., 2003. 175 с.
5. Казначеев В.П., Михайлова А.П. Биоинформационная функция естественных электромагнитных полей. Новосибирск, 1985. 184 с.
6. Fesenko E.E., Gluvstein A.Ya. Changes in the state of water induced by radiofrequency electromagnetic fields // FEBS Letters. 1995. Vol.367. P.53–55.
7. Фесенко Е.Е., Новиков В.В., Кувичкин В.В., Яблокова Е.В. Действие обработанных слабыми магнитными полями водно-солевых растворов на собственную флуоресценцию БСА // Биофизика. 2000. Т.45. С.232–239.
8. Лехтлаан-Тыниссон Н.П., Шапошникова Е.Б., Холмогоров В.Е. Действие магнитного поля низкой частоты на культуру бактерий *E. coli* // Вестн. ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. 2003. №2. С.145–147.
9. Беляченко Ю.А., Усанов А.Д., Тырнов. В.С., Усанов Д.А. Влияние низкочастотного магнитного поля на митотическую активность клеток сорго // Биомедицинская радиоэлектроника. 2007. №11. С.57–60.
10. Усанов Д.А., Шишкин Г.Г., Скрипаль А.В., Усанов А.Д. Влияние внешнего переменного магнитного поля на частоту сердцебиений пресноводного рачка – дафнии // Биомедицинская радиоэлектроника. 2001. №8. С.57–61.
11. Усанов Д.А., Шишкин Г.Г., Скрипаль А.В., Усанов А.Д., Панасенко В.И. Дафния как биоиндикатор электромагнитных воздействий на водную среду // Петербургский журнал электроники. 2001. №4. С.38–42.
12. Усанов Д.А., Шишкин Г.Г., Скрипаль А.В., Усанов А.Д. Воздействие переменных магнитных полей низкой интенсивности на частоту сердцебиений дафнии // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. 2003. №3. С.59–62.
13. Усанов Д.А., Скрипаль Ал.В., Скрипаль Ан.В., Абрамов А.В. Видеотехнологии автоматизированного контроля. Саратов, 2001. 96 с.
14. Усанов Д.А., Скрипаль Ан.В., Рзынина А.В., Усанов А.Д. Влияние низкочастотного переменного поля на выживаемость и плодовитость пресноводного рачка – *Daphnia magna* Straus // Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине: Учебное пособие / Под ред. Д.А. Усанова. Саратов, 2007. С.112–113.
15. Усанов Д.А., Шишкин Г.Г., Горбатов С.С., Усанов А.Д. Определение влияния переменного магнитного поля на физические характеристики воды СВЧ-методом // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. 2006. №5–6. С.65–69.
16. Усанов Д.А., Сучков С.Г., Усанов А.Д. Корреляция между характером влияния переменного магнитного поля на акустические свойства воды и сердцебиение дафнии // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. 2006. №1–2. С.67–69.
17. Успенская В.И. Экология и физиология питания пресноводных водорослей. М., 1966. 124 с.
18. Методическое руководство по биотестированию воды. РД 118-02-90, М. 1991. 48 с.

## PERSONALIA

УДК 577+929 Игнатов

### К ЮБИЛЕЮ ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК, ПРОФЕССОРА, ЗАСЛУЖЕННОГО ДЕЯТЕЛЯ НАУКИ РФ ИГНАТОВА ВЛАДИМИРА ВЛАДИМИРОВИЧА



Игнатов Владимир Владимирович, 1935 г. рождения, окончил Саратовский медицинский институт в 1960 г., а в 1963 г. – аспирантуру по кафедре биохимии того же института. С первых лет студенческой жизни посвятил себя биохимии, занимался в научном студенческом кружке на кафедре биохимии СМИ под руководством известного бактериохимика, дважды лауреата Государственной премии, профессора

Н.Н. Ивановского. В 1964 г., работая ассистентом кафедры биохимии мединститута, стажировался на кафедре биохимии растений Московского государственного университета под руководством академика А.Н. Белозерского в области исследования нуклеиновых кислот у микроорганизмов и высших грибов.

Начало научной деятельности В.В. Игнатова относится к 1960 г. и связано с исследованиями возбудителя гнойных инфекций и пищевых отравлений человека и животных – стафилококка. Исследованию стафилококков Владимир Владимирович посвятил 20 лет. Главные направления этих исследований связаны с изучением молекулярных основ формирования лекарственной устойчивости у микроорганизмов к антибиотикам, химического состава компонентов клеточной стенки стафилококка – пептидогликана и тейхоевых кислот, участия в синтезе этих элементов клеточной стенки полиизопреноидов цитоплазматической мембраны, а также биофизических свойств мембран стафилококков.

В эти же годы в связи с разработкой Министерством электронной промышленности специальных стерилизующих устройств, в основе которых был использован метод сверхвысокочастотного (СВЧ) нагрева протекающей жидкости, В.В. Игнатовым был проведен большой объем исследований, позволивших применять принцип СВЧ-нагрева в отечественных электронных СВЧ-печах и специальных устройствах. По итогам этих работ им опубликован ряд статей в открытой и закрытой отечественной печати, а также издана монография «Влияние электромагнитных полей СВЧ-диапазона на бактериальную клетку» в издательстве Саратовского университета в 1978 г.

ПРИЛОЖЕНИЯ



В 1964 г. В.В. Игнатов защитил кандидатскую диссертацию. С 1963 по 1966 год работал ассистентом кафедры биохимии Саратовского медицинского института и читал спецкурс по химии нуклеиновых кислот на биологическом факультете Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского. С 1966 г. он работал доцентом кафедры физиологии растений и микробиологии Саратовского университета, организовал при кафедре лабораторию биохимии и биофизики, которая в 1977 г. была преобразована в кафедру того же названия. В 1976 г. В.В. Игнатов защитил докторскую диссертацию, с 1978 г. он – профессор, заведующий кафедрой биохимии и биофизики Саратовского университета.

В 1980 г. В.В. Игнатов был избран и утвержден директором открытого в г. Саратове Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов АН СССР (впоследствии РАН), которым бессменно руководил до декабря 2007 г. Переход В.В. Игнатова из университета в созданный им Институт изменил и направление его исследовательской работы. Основной областью научных интересов стали молекулярные аспекты взаимодействий ризосферных микроорганизмов (в основном азоспирилл) с корневой системой диких и культурных злаков. Им сформировано новое научное направление в изучении дистанционных, контактных и трофических взаимоотношений растений с ассоциативными микроорганизмами. Созданная В.В. Игнатовым научная школа «Выяснение молекулярно-генетических механизмов взаимодействий микроорганизмов с растениями, как основы для развития эффективных современных генно-инженерных, экологических, аграрных и иных технологий» стала (2003–2009 гг.) одной из ведущих научных школ страны, неоднократно подтвердившей свой статус. В возглавляемой им лаборатории В.В. Игнатов продолжает руководить госбюджетными темами НИР и работами по грантам от ряда российских и международных научных фондов.

Научная деятельность В.В. Игнатова отражена более чем в 320 отечественных и зарубежных публикациях, шести авторских

свидетельствах, четырех монографиях. Он является научным редактором двух монографий сотрудников ИБФРМ РАН, выпущенных в 2005–2008 гг. МАИК «Наука». Под его руководством защищено более 50 диссертаций. Ученики В.В. Игнатова ныне работают в научных и образовательных учреждениях России, США, Великобритании и других стран мира.

В.В. Игнатов входил в состав оргкомитетов авторитетных российских и международных научных конгрессов, съездов и конференций, неоднократно возглавлял их. По инициативе В.В. Игнатова в Саратове систематически проводятся российские и международные научные конференции и школы для биохимиков и микробиологов, консультации и рабочие совещания по важным фундаментальным и прикладным аспектам развития и использования современных биотехнологий, интеграции академической науки с вузовским образованием.

В.В. Игнатов успешно совмещает плодотворную научную и научно-организационную работу с деятельностью по подготовке высококвалифицированных специалистов-биологов, продолжая и ныне работать профессором на кафедре биохимии и биофизики СГУ. Под его руководством создан и активно развивается Учебно-научный центр физико-химической биологии СГУ и ИБФРМ РАН.

Наряду с научными исследованиями и преподавательской деятельностью В.В. Игнатов много внимания уделяет организаторской и общественной работе. В разные годы он был деканом биологического факультета СГУ, председателем совета директоров академических учреждений Саратова, возглавлял организованные им саратовские отделения биохимического и микробиологического научных обществ при Академии наук, входил в состав совета при правительстве Саратовской области по науке, технологиям и образованию. В.В. Игнатов активно занимается общественной деятельностью. В течение 10 лет он был депутатом областного и городского советов народных депутатов, в тяжелые годы становления экологического движения он возглавил комиссию по охране природы при Саратовском горсовете, был у



истоков создания экологической службы в Саратовской области и долгое время являлся членом коллегии Саратовского областного комитета по экологии. В настоящее время возглавляет Гильдию ученых Саратовской губернской Торгово-промышленной палаты.

За научную, педагогическую и общественную деятельность В.В. Игнатову в 1994 г. было присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации».

В 1995 г. В.В. Игнатов получил грант Международной Соросовской Программы в области точных наук по подпрограмме «Соросовские профессора», с 1996 г. по 2004 г. он был делегатом России в Федерации Европейских микробиологических обществ, являлся членом редакционной коллегии журнала «Прикладная биохимия и микробиология».

В 1999 г. за большой вклад в развитие отечественной науки, многолетнюю добросовестную работу и в связи с 275-летним юбилеем Российской академии наук Владимиру Владимировичу Игнатову была объявлена благодарность, и он был награжден орденом Почета (Указ Президента РФ от 30.07.99 г. № 933). В 2010 г. В.В. Игнатов был награжден Почетной грамотой Российской академии наук и профсоюза работников РАН.

Сотрудники Саратовского государственного университета сердечно поздравляют Владимира Владимировича с 75-летием и желают крепкого здоровья, успехов в научной и педагогической деятельности!

*С.А. Коннова, Г.В. Мельников*