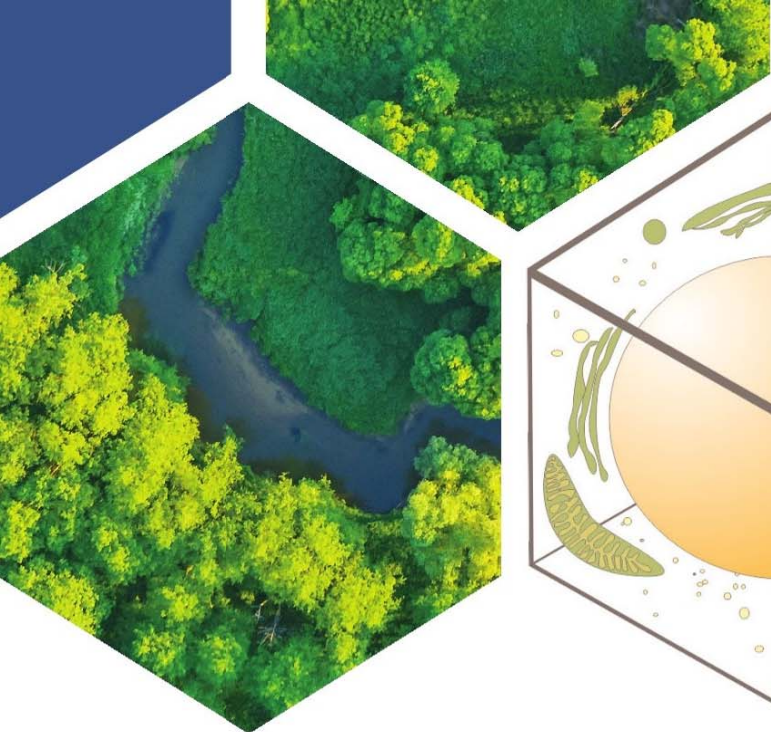




СИБИРСКИЙ
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ

SIBERIAN
FEDERAL
UNIVERSITY

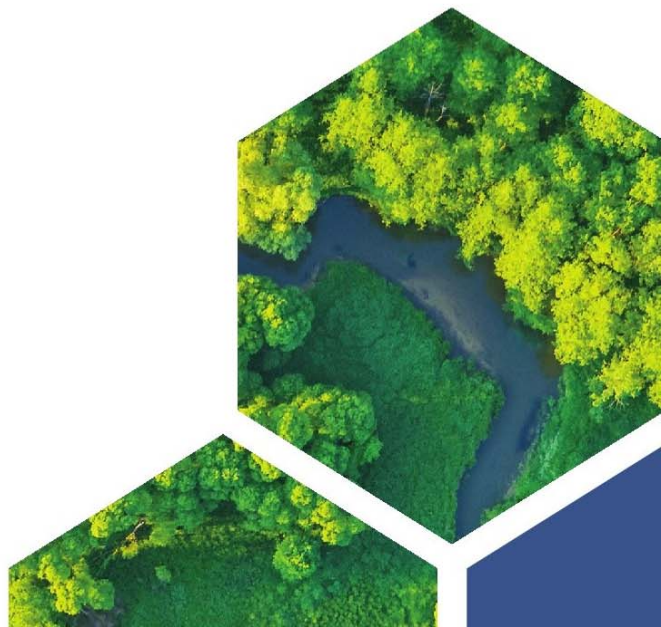


XX международный симпозиум
**«Сложные системы
в экстремальных условиях»**
**сателлитная конференция
при поддержке SETAC RLB**
**«Экологический мониторинг.
Методы и подходы»**

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ

20-24 сентября 2021
Красноярск, Россия

symposium.kirensky.ru



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Сибирский федеральный университет

Экологический мониторинг. Методы и подходы

Материалы Международной сателлитной конференции

"Экологический мониторинг: методы и подходы"

и XX Международного симпозиума

"Сложные системы в экстремальных условиях"

Красноярск, 20-24 сентября 2021 г.

Электронное издание

Красноярск
СФУ
2021

УДК 502/504
ББК 28.081.4
Э400

Ответственные редакторы: д.б.н., профессор Кратасюк В.А.; д.ф-м.н., профессор Кудряшова Н.С.; д.б.н., профессор Суховольский В.Г.

Э400 Экологический мониторинг: методы и подходы : материалы Международной сателлитной конференции "Экологический мониторинг: методы и подходы" и XX Международного симпозиума "Сложные системы в экстремальных условиях". Красноярск, 20-24 сентября 2021 г. [Электронный ресурс] / отв. за вып. О. В. Крюкова. – Электрон. дан. (31 Mb). – Красноярск : Сиб. федер. ун-т, 2021. – 247 с. – Систем. требования : PC не ниже класса Pentium I ; 128 Mb RAM ; Windows 98/XP/7/8/10 ; Adobe Reader V8.0 и выше. – Загл. с экрана.

ISBN 978-5-7638-4569-3

Статьи участников конференции представлены в авторском варианте. Ответственность за аутентичность и точность цитат, имен и иных сведений, а также за соблюдение законов об интеллектуальной собственности несут авторы публикуемых материалов.

**УДК 502/504
ББК 28.081.4**

ISBN 978-5-7638-4569-3

© Сибирский федеральный
университет, 2021

Электронное научное издание

Подписано в свет 17.09.2021. Заказ № 14418
Тиражируется на машиночитаемых носителях

Библиотечно-издательский комплекс
Сибирского федерального университета
660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 82а
Тел. (391) 206-26-67; <http://bik.sfu-kras.ru>
E-mail: publishing_house@sfu-kras.ru

ПРИМЕНЕНИЕ БИЮМИНЕСЦЕНТНЫХ БИОТЕСТОВ В СПОРТЕ

**А.Ф. Акрамова¹, О.В. Колесник¹,
Л.В. Степанова¹, О.А. Коленчукова^{1,2}, А.С. Федотова³,
А.В. Коломейцев³, А.В. Макаров¹, В.А. Кратасюк^{1*}**

¹ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет»,
Красноярск, Россия

²ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр
Сибирского отделения Российской академии наук» обособленное подразделение
Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера,
Красноярск, Россия

³ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет»,
Красноярск, Россия

Одной из актуальных проблем спортивного коневодства в России и за рубежом является оценка физиологического состояния лошади в тренировочном процессе. Существующие клинические методы тестирования лошадей не дают однозначного представления о функциональном состоянии животных в покое и при физических нагрузках [1-4]. Таким образом необходимо искать объективные критерии оценки реакции организма на физическую нагрузку и разрабатывать новые методы объективного тестирования. В этой связи предлагаем использовать простой, быстрый неинвазивный метод оценки организма животных на основе ингибирующего влияния слюны на активность ферментов светящихся бактерий [5]. Целью работы являлось исследование биюминесцентного биотеста слюны как возможного метода тестирования функционального состояния спортивных лошадей в тренинге.

Объектом исследования являлись спортивные лошади (n=21) тракененской породы со специализацией «выездка». Лошади содержались в стандартных условиях учебно-спортивного комплекса коневодства Красноярского государственного аграрного университета (ФГБОУ ВО Красноярский ГАУ). Тестирование лошадей, сбор их слюны и крови проводили до и после тренировок с низкой, средней и высокой интенсивностями.

Функциональные показатели организма лошадей определяли по частоте дыхательных движений (ЧДД) и частоте сердечных сокращений (ЧСС), и электрокардиограмме (ЭКГ). ЧДД определяли визуально, оценку ЧСС проводили по электрокардиограмме (ЭКГ), на электрокардиографе ЭКЗТ-01-Р-Д («Монитор», Россия). Снятие ЭКГ проводили в трех стандартных и трех усиленных отведениях от конечностей. Анализ ЭКГ лошадей проводили по общепринятой методике, включающая в себя определение характера сердечного ритма; систолический показатель желудочков (СПЖ); высота и ширина зубцов и интервалов. Гематологический анализ крови лошадей проводили по общепринятой ме-

* © Акрамова А.Ф., Колесник О.В., Степанова Л.В., Коленчукова О.А., Федотова А.С., Коломейцев А.В., Макаров А.В., Кратасюк В.А., 2021

тодике с подсчетом количества эритроцитов и лейкоцитов в камере Горяева, содержание гемоглобина – по методу Сали.

Биохимический анализ сыворотки крови проводили по общепринятой методике, тестировали содержание белка и уровень глюкозы. Биолюминесцентное и хемилюминесцентное тестирование, а также определение лактата в слюне, проводили после ее центрифугирования. Биолюминесцентное и хемилюминесцентное тестирование проводили на планшетном люминометре TriStar LB 941 («Berthold Technologies», Германия). Биолюминесцентное тестирование слюны проводили на биферментной системе NADH:FMN-оксидоредуктаза + люцифераза, входящий в комплект реактивов аналитической биолюминесценции (КРАБ) (ИБФ СО РАН, Красноярск). Концентрацию лактата (молочной кислоты) в образцах слюны измеряли фотометрическим методом (калориметрирование) в соответствии с реакцией Берга.

Показано повышение ЧСС и ЧДД, также возрастание возбуждения предсердий и сокращение времени сердечной диастолы с увеличением интенсивности физических нагрузок. При этом гематологические и биохимические показатели изменялись в пределах нормы. Полученные результаты свидетельствовали о высоком уровне тренированности спортивных лошадей.

Выявлено, что реакция биферментной системы при воздействии слюны зависела от уровня физической нагрузки (рис. 1). При физических нагрузках низкой и средней интенсивности происходило снижение величины остаточного свечения, при высокой интенсивности – остаточное биолюминесцентное свечение возрастало.

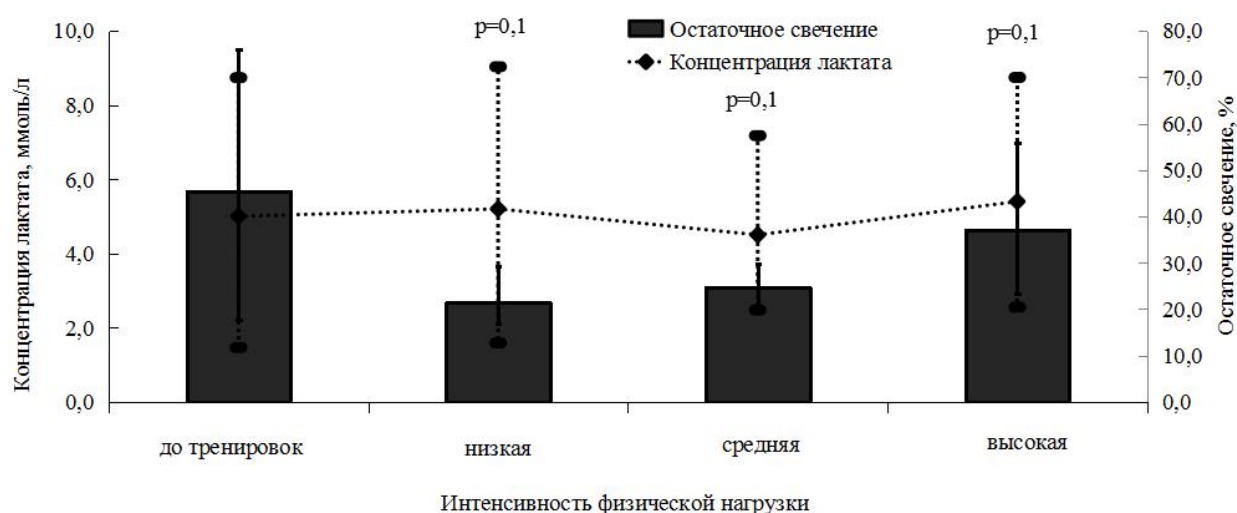


Рис. 1. Изменения остаточного свечения и концентрации лактата в слюне с повышением интенсивности физических нагрузок

При этом уровень остаточного свечения снижался при повышении общего белка и снижении глюкозы и количества эритроцитов в крови, а также на уровень ингибирования свечения влияло увеличение активности каталазы и концентрации лактата в слюне.

Таким образом, впервые показано, что влияние стрессовых физических нагрузок разной интенсивности на состояние организма лошади можно выявить биоллюминесцентным тестированием слюны с использованием биферментной реакции, катализируемой NADH:FMN-оксидоредуктазой и бактериальной люциферазой. Ингибирование биоллюминесцентного свечения может быть показателем функционального состояния лошади в тренинге. Такой интегральный результат теста может применяться в спортивном коневодстве не только для контроля, но и для предупреждения спортивных перегрузок.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Красноярского краевого фонда науки в рамках научного проекта № 19-416-240001

Список литературы

1. de Mare L., Boshuizen B., Plancke L., de Meeus C., de Bruijn M., Delesalle C. Standardized exercise tests in horses: Current situation and future perspectives. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 2017, 86(2): 63-72.
2. Allen K., Franklin S. Exercise testing in the equine athlete. *Equine Veterinary Education*, 2016, 28: 89-98.
3. Costa E. D., Dai F., Lebelt D., Scholz P., Barbieri S., Canali E., Zanella A. J., Minero M. Welfare assessment of horses: The AWIN approach. *Animal welfare*, 2016, 25(4):481-488 (doi: 10.7120/09627286.25.4.481).
4. Munk R., Jensen R. B., Palme R. et al. An exploratory study of competition scores and salivary cortisol concentrations in Warmblood horses. *Domestic Animal Endocrinology*, 2017, 61: 108–116. (doi: 10.1016/j.domaniend.2017.06.007).
5. Степанова Л. В., Вышедко А. М., Коленчукова О. А., Жукова Г. В., Кратасюк В. А. Использование биоллюминесцентного тестирования слюны в оценке физической подготовленности спортсменов разной квалификации. *Сибирское медицинское обозрение*. 2017, 6:63-69 (doi: 10.20333/2500136-2017-6-63-69).

ЗАВИСИМОСТЬ ПАРАМЕТРОВ РОСТА ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ В ЛАБОРАТОРНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЕ «ВОДА-ДОННЫЕ ОТЛОЖЕНИЯ»

Ю.В. Александрова¹, Т.А. Зотина^{*1,2},
Н.А. Гаевский², Е.А. Прокофьева^{2†}

¹Институт биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия

²Институт фундаментальной биологии и биотехнологии,
Сибирский федеральный университет,
Красноярск, Россия

Попадающие в водоем ксенобиотики накапливаются в донных отложениях, где могут храниться многие годы, воздействуя на водную биоту и представляя потенциальную опасность для человека в силу возможности их переноса в организм человека с водой и пищей. В связи с этим возникает необходимость оценки качества донных отложений методами биотестирования. Сосудистые водные растения хорошо подходят для этой задачи, поскольку донные отложения являются их естественной средой обитания. В настоящее время в международной практике используются два сертифицированных теста, основанных на использовании сосудистых водных растений урути водной (*Myriophyllum aquaticum*) (ISO 16191, 2003) и урути колосистой (*M. spicatum*) (OECD guideline 239, 2014) в качестве индикаторов. Ранее нами была предложена модельная система «вода-донные отложения» для биотестирования донных отложений с использованием элодеи канадской (*Elodea canadensis*) в качестве вида-индикатора [1, 2]. При разработке биотестов очень важно создать оптимальные условия для роста макрофитов в «отрицательном» контроле. Целью настоящей работы было определение диапазона оптимальной освещенности для растений-индикаторов в модельной тест-системе. Изучались зависимости индикаторных параметров трех видов макрофитов – потенциальных биоиндикаторов для контактного тестирования донных отложений в предложенной модельной тест-системе: урути колосистой, элодеи канадской и эгерии плотнolistвенной (*Egeria densa*) от уровня освещенности. Методика проведения экспериментов описана в работе Александровой с соавт. [3]. Изучены световые зависимости таких параметров растений, как длина побегов, длина корней, вес побегов, скорость роста (по биомассе), концентрация фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов) и их соотношение, величина pH в диапазоне поверхностной освещенности от 0 до 10 кЛк (максимальная плотность потока квантов света составила 143 мкмоль·м⁻²·с⁻¹). Регрессионные зависимости параметров роста растений от уровней освещенности анализировались с помощью пакета анализа «drc» в программе R [4]. Световые зависимости индикаторных параметров исследованных видов растений отличаются по виду. Например,

* zotina@ibp.ru

† © Александрова Ю.В., Зотина Т.А., Гаевский Н.А., Прокофьева Е.А., 2021

длина побегов, длина корней и концентрация фотосинтетических пигментов имеют пик в области низких освещенностей, что обусловлено лимитированием роста светом, при увеличении уровня освещенности кривая выходит на плато. Такой вид кривой описывался дозовой зависимостью с гормезисом. Световые зависимости биомассы, скорость роста и рН имеют вид кривых с насыщением и описываются уравнением Моно или Михаэлиса-Ментен. Параметры световых зависимостей для скорости роста (по биомассе) приведены в таблице.

Таблица

Параметры регрессионной зависимости скорости роста трех видов макрофитов от уровня освещённости (Михаэлиса-Ментен): максимальная величина (V_{max}) и константа полунасыщения (K_m), средняя величина $\pm SE$

Вид растения	V_{max} , 1/сут	K_m , кЛк	p
<i>E. canadensis</i>	0.056 ± 0.003	0.51 ± 0.15	<0.0001 (V_{max}); 0.001 (K_m)
<i>E. densa</i>	0.076 ± 0.003	0.45 ± 0.08	<0.0001 (V_{max} , K_m)
<i>M. spicatum</i>	0.076 ± 0.002	0.46 ± 0.08	<0.0001 (V_{max} , K_m)

Результаты экспериментов показали, что в диапазоне поверхностной освещенности от 4 до 8 кЛк все вышеперечисленные индикаторные параметры растений имеют постоянные значения, следовательно, этот диапазон освещенности можно считать оптимальным для роста макрофитов в модельной тест-системе «вода-донные отложения».

Список литературы

1. Зотина Т.А., Трофимова Е.В., Болсуновский А.Я. Анищенко О.В. Экспериментальная оценка возможности использования погруженных макрофитов для биотестирования донных отложений р. Енисей. Сиб. Экол. Журн. 2014 № 4. С. 547–560.
2. Zotina T. A., Trofimova E. A., Medvedeva M. Yu., Dementyev D. V., Bolsunovsky, A. Ya. Use of the aquatic plant *Elodea canadensis* to assess toxicity and genotoxicity of Yenisei River sediments. Environmental Toxicology and Chemistry. 2015 V. 34. P. 2310–2321.
3. Александрова Ю.В., Зотина Т.А., Гаевский Н.А. Влияние светового фактора на рост и содержание фотосинтетических пигментов элодеи канадской (*Elodea canadensis*) в модельной системе «вода-донные отложения» // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология. 2020 № 2. С. 188–196.
4. R Development Core Team. R: a Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna. 2011. Available at: <http://www.R-project.org>.

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФОТОБИОСЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ ПСИХРОФИЛЬНЫХ СВЕЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ

К. Аленина^{*1}, Л. Алескерова¹,
Л. Гавирова¹, А. Сарангова², А. Исмаилов^{1†}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,

Москва, Россия

²Сибирский федеральный университет,

Красноярск, Россия

Различные виды фотобактерии широко используются в качестве тест-объекта при биомониторинге среды в лиофильно высушенном или иммобилизованном виде. Психрофильные фотобактерии группы *Photobacterium phosphoreum*, по сравнению с мезофильными бактериями групп *Vibrio harveyi* и *Vibrio fischeri*, характеризуются высокой удельной активностью, длительностью и стабильностью эмиссии в жидкой среде. В представленной работе проведен сравнительный анализ технологий и стабилизирующих сред для получения лиофильно высушенных препаратов психрофильных штаммов фотобактерий, с оценкой морфофизиологических параметров, удельной люминесцентной активности, выживаемости, ростовых и спектральных параметров реактивированных клеток бактерий. Особое внимание уделено возможности образования темновых мутантов. В данной работе использованы штаммы светящихся бактерий, выделенные из кишечника рыб: корчака европейского *Mioxocephalus scorpius*, палтуса белокорого *Hippoglossus hippoglossus*, камбалы (*Pleuronectes platessa*). Все выделенные штаммы симбиотических фотобактерий по биолюминесцентным, физиологическим и ростовым признакам соответствовали психрофильным бактериям группы *P. phosphoreum*. Спектры эмиссии всех штаммов практически идентичны, имеют характерный для бактерий группы *Photobacterium* максимум около 478 нм., и близкие характеристические параметры спектральной картины. У всех бактерий отсутствует т.н. аутоиндукция. Эмиссионная активность монотонно нарастает в ходе роста биомассы в экспоненциальной фазе роста и остается практически постоянной на протяжении 200 ч. глубинного культивирования. Установлено, что кинетические профили роста и свечения выделенных из разных объектов штаммов имеют близкие параметры. Характерной особенностью глубинного культивирования при оптимальной для свечения температуре (–15 °С), является длительная (более 150 ч) стационарная фаза. Вторая особенность – стабильный и высокий ($1 - 5 \times 10^4$ квант/с. кл.) уровень удельной люминесцентной активности клеток. Люминесцентный цикл свыше 190 ч. и снижается одновременно с падением плотности биомассы. Детектируемый уровень эмиссии культуры до 1 месяца. Бактерии для лиофилизации отбирались из поздней логарифмической фазы, (48-50 ч.) роста. Проведено сравнение защитных свойств трех сред, содержа-

* anvaris@list.ru

† © Аленина К., Алескерова Л., Гавирова Л., Сарангова А., Исмаилов А., 2021

щих в качестве криопротекторов лактат, крахмал, снятое молоко. Показано, что все среды эффективны для высокой выживаемости бактерий – выживаемость 15-20 %. Лиофильное высушивание проводили в течение суток после замораживания биомассы до -80°C . Высушенные препараты хранили при -20°C . В этих условиях сохранялось практически 100 % активности в течение 1 года. Специфическая низкотемпературная регидратация и реактивация в течение 24 – 30 ч. Удельная активность реактивированных клеток восстанавливалась полностью до величин, предшествующих процедурам лиофилизации и реактивации. Положение максимума и спектральные профили биолюминесценции существенно не изменялись. На рисунке 1 представлена удельная биолюминесцентная (Q , квант / с. кл.) активность в процессе роста в глубинной культуре трех указанных штаммов психрофильных бактерий, после высушивания и реактивации.

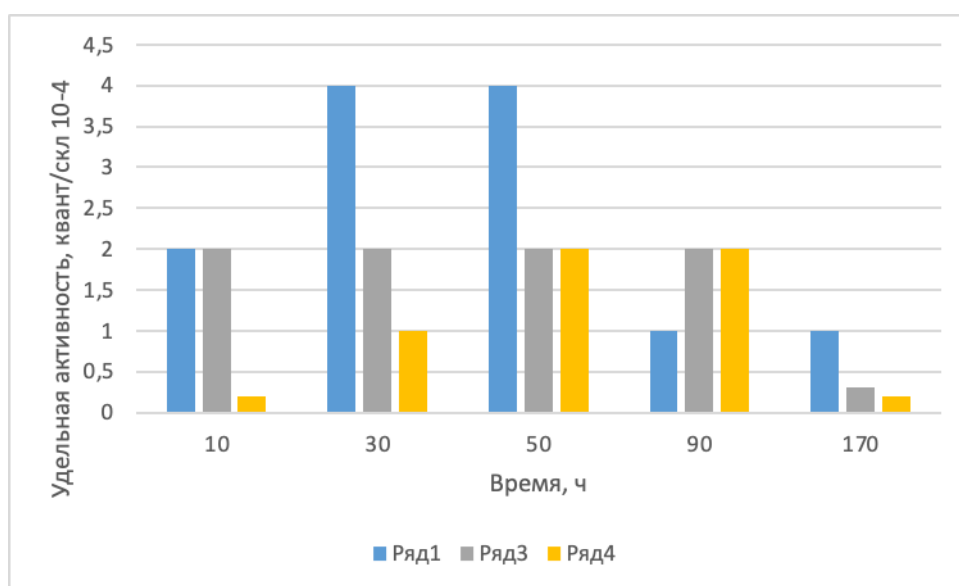


Рис. 1. Удельная биолюминесцентная активность штаммов психрофильных бактерий, после высушивания и реактивации

Визуальная оценка эмиссионной активности индивидуальных колоний показала полное отсутствие темновых и тусклых вариантов для всех штаммов и однородность морфологических признаков после 3-4 пересевов на агаризованной среде. Таким образом установлено, что использованные в данной работе процедуры лиофилизации, хранения и реактивации позволяют сохранить высокую удельную активность и относительно высокую выживаемость психрофильных фотобактерий со стабильной интенсивной эмиссией, при этом избежать появления темновых мутантов. Технологии могут найти применение при использовании психрофильных фотобактерий в качестве токсикологических биосенсоров.

ПОДХОДЫ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ФЕРМЕНТАТИВНОГО БИОТЕСТИРОВАНИЯ

М.М. Байгин^{1*}, Е.М. Колосова^{2†}

¹*Сибирский федеральный университет, ИКИТ,
кафедра высокопроизводительных вычислений,
Красноярск, Россия*

²*Сибирский федеральный университет, ИФБиБТ, кафедра биофизики,
Красноярск, Россия*

В литературе описаны несколько подходов к формализации результатов оценки состояния почв. Одним из таких подходов является интегральный индекс батареи биотестов, который определяется как среднее значение всех реакций тест-объектов с различными весовыми коэффициентами [1]. Для определения токсикологических параметров в зависимости от степени ингибирования токсичными веществами также были предложены экобаллы [2]. Третий подход основан на одновременном учете в качестве индикаторов концентрации химических веществ в пробе, реакции биотестов и результатов биоиндикации [3]. Существенным ограничением вышеуказанных подходов является то, что для расчета индексов почв необходимо знать концентрацию токсичных веществ в почвах, что не всегда возможно определить.

Логическим развитием системы методологии биотестирования с использованием биотестов является объединение двух подходов – стандартных грунтов для сравнения при исследовании сред сложного состава и программного обеспечения для упрощения процедуры их анализа и визуализации – в единый инструмент.

Целью работы было создание программы, которая сможет сравнивать введенные параметры образца с существующими эталонами и находить наиболее подходящий эталон.

Разработанный программный продукт основан на поиске наиболее подходящего стандартного образца почвы с помощью евклидовой метрики. Для разработки программного обеспечения по соответствию стандартной активности ферментативных биотестов для анализа загрязнения почвы был подготовлен 51 образец почвы. Проведен анализ данных образцов с помощью химических и биологических методов. Программа написана на языке C# без использования дополнительных библиотек. Использование данного языка программирования позволяет запускать программу на большинстве компьютеров под управлением операционной системы Windows. Модульный подход при проектировании и реализации программы может стать основой при разработке и внедрении дополнительных критериев отбора эталонных значений как почвы, так и других сред.

* bayginmatthew@gmail.com

† © Байгин М.М., Колосова Е.М., 2021

Входные данные представляют собой массив векторов размерности $m \times n$, где m – число характеристик стандартного образца грунта, а n – число стандартов. Массив данных содержится в коде программы. Пользователь вводит данные своего образца (рисунок 1). Важным критерием при разработке программы было создание пользователе-ориентированного интерфейса.

1	0	Остаточная активность БухЭ, %
2	0	Остаточное свечение Т, % для Р+Л
3	0	Остаточное свечение Т, % для Р+Л+ЛДГ
4	0	Значение абсорбции
5	0	Содержание гумуса, %
6	0	рН сол
7	0	Процент физической глины

Рис. 1. Ввод данных

После ввода данных осуществляется сравнение введенного образца с каждым стандартным значением для определения наименьшего отклонения по формуле 1:

$$d(p, q) = \sqrt{(p_1 - q_1)^2 + (p_2 - q_2)^2 + \dots + (p_n - q_n)^2} = \sqrt{\sum_{k=1}^n (p_k - q_k)^2}, \quad (1)$$

где p и q являются численными признаками исследуемой почвы и эталона.

После нахождения образца с минимальным отклонением строится график с наложением двух почвенных образцов – эталон и введенный образец (рисунок 2).

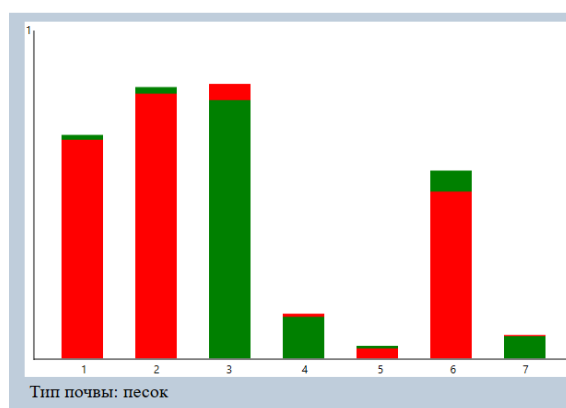


Рис. 2. Графики двух почвенных образцов

Таким образом, данное программное обеспечение позволяет сравнивать исследуемый образец почвы с существующими эталонами для наглядного просмотра отличий между двумя образцами почвы для определения отклонений и интерпретации результатов. У программы простой интерфейс, ее могут исполь-

зовать как в профессиональных лабораториях центров метрологии или экологической экспертизы, так и в популярных образовательных проектах – например, для обучения школьников экологической грамотности [4]. На программу получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ. Результаты опубликованы в журнале *Sensors* [5], обновленная версия программы на языке JavaScript находится в открытом доступе [6].

Список литературы

1. Prato, E.; Parlapiano, I.; Biandolino, F. Ecotoxicological evaluation of sediments by battery bioassays: Application and comparison of two integrated classification systems. *Chem. Ecol.* 2015, 31, 661–678, doi:10.1080/02757540.2015.1069278.
2. Lors, C.; Ponge, J.F.; Aldaya, M.M.; Damidot, D. Comparison of solid and liquid-phase bioassays using ecoscores to assess contaminated soils. *Environ. Pollut.* 2011, 159, 2974–2981, doi:10.1016/j.envpol.2011.04.028.
3. Terekhova, V.A.; Pukalchik, M.A.; Yakovlev, A.S. The triad approach to ecological assessment of urban soils. *Eurasian Soil Sci.* 2014, 47, 952–958, doi:10.1134/S1064229314090129.
4. В СФУ предложили программу для быстрого распознавания загрязнителей почвы // Naked Science [Электронный ресурс]. URL: <https://naked-science.ru/article/column/v-sfu-predlozhili-programmu-dlya-bystrogo> (дата обращения: 04.04.2021).
5. Kratasyuk, V.A.; Kolosova, E.M.; Sutormin, O.S.; Lonshakova-Mukina, V.I.; Baygin, M.M.; Rimatskaya, N.V.; Sukovataya, I.E.; Shpedt, A.A. Software for Matching Standard Activity Enzyme Biosensors for Soil Pollution Analysis. *Sensors* 2021, 21, 1017. doi:10.3390/s21031017
6. Barcode // GitHub [Электронный ресурс]. URL: <https://github.com/actimel35/barcode> (дата обращения: 04.04.2021).

TEMPERATURE EFFECTS ON REACTIVE OXYGEN SPECIES METABOLISM OF PLANTS UNDER METAL TOXICITY

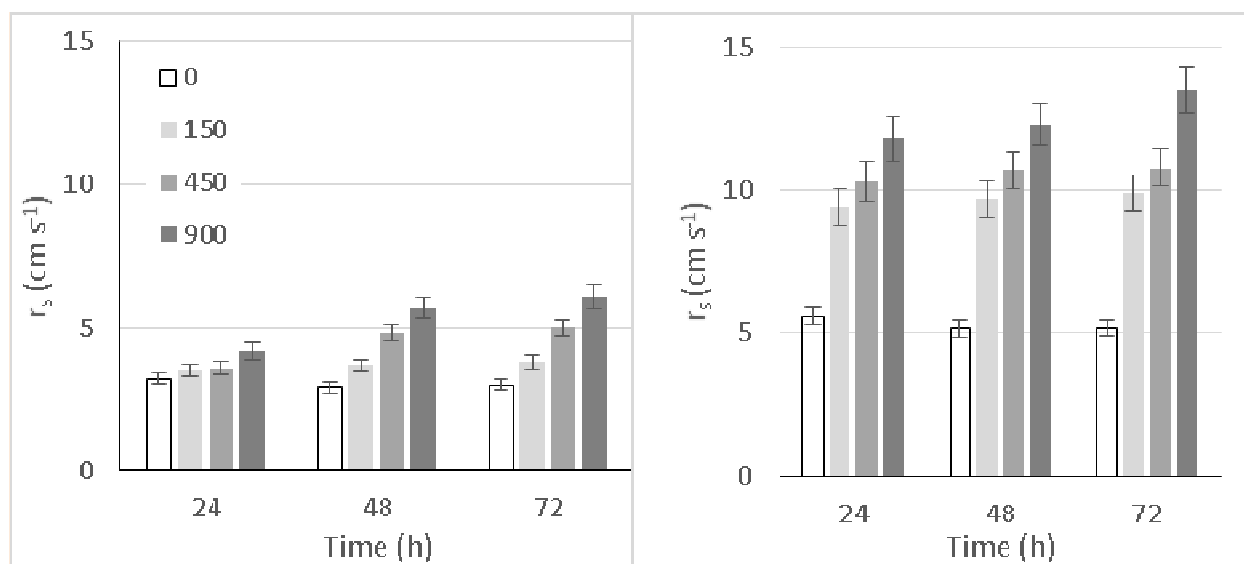
T.I. Balakhnina^{1*}, I.R. Fomina^{1,2†}

¹*Institute of Basic Biological Problems, Russian Academy of Sciences,
Pushchino, Moscow Area, 142290, Russia*

²*Biosphere Systems International Foundation,
Tucson, Arizona, USA*

Fluctuations in daytime temperatures from 16 to 30 °C that occur in mid-latitudes in summer, as a rule, are not dangerous for most plants. As for *Plantago major* L. plants, their temperature optimum ranges from 19.0 to 21.2 ± 3 °C during plant ontogenesis. So, temperature fluctuations from 16 to 30 °C may not cause an irreversible negative changing in plants, but they inevitably affect the intensity of many other metabolic processes, including oxidative stress. Therefore, an experiment where plants of *P. major* L. were exposed in 0, 150, 450, and 900 µM aqueous Pb(NO₃)₂ solution at 20 and 28 °C for 2, 24, 48, and 72 hours was conducted. The response of the plants was assessed by the content of lead in the leaves, changes in stomatal resistance and development of oxidative stress. The intensity of oxidative degradation was evaluated by the content of thiobarbituric acid reactive substances (TBARs), antioxidant potential – through the activity of ascorbate peroxide (AsP) and glutathione reductase (GR) in the leaves.

It was shown that the moderately high temperature inhibits the accumulation of lead in *Plantago major* L. leaves because of increased stomatal resistance (r_s).



Stomatal resistances, r_s , in upper plant leaves treated with 150, 450, and 900 µM Pb for 72 hours at a temperature of 20°C and 28°C

* tbalakhnina@rambler.ru

† © Balakhnina T.I., Fomina I.R., 2021

The values r_s of plants in the lead-free plants were higher at 28 °C, by approximately 73–79 %, compared with the r_s values recorded at 20 °C. Application of Pb has not lead to a significant enhance in r_s at 20 °C after 24-hour exposure. The r_s values for plants exposed to 28 °C were higher in all treatments than the r_s values for plants exposed to 20 °C.

The negative effects of lead, especially at the beginning of the experiment, were stronger at the higher temperature (28 °C), which led to an earlier decline in the adaptive potential of plants. Increasing temperature up to 28 °C caused a 26 % enhance of TBARs relative to plants exposed for 2 hours at 20 °C in a lead-free growth medium. Later, after 24- and 72-h of the experiment, the difference in the concentrations of TBARs between the plants maintained at the temperature 20 °C and 28 °C decreased. Pb intensified oxidative reactions in all variants; however, the maximal meanings of TBARs concentration were registered in plants exposed with 900 μ M Pb at 28°C.

Plantago plants adapt to Pb contamination in the following order: an increase in AsP activity in the earlier days of stress development is replaced by activation of GR, as the second antioxidant enzyme in the ascorbate-glutathione cycle.

Conclusions

Regulation of the functional activity of the stomatal apparatus can be considered as one of the protective mechanisms of plants to prevent the accumulation of heavy metals in the leaves.

Less accumulation of lead in the leaves of *Plantago major* L. at moderately elevated temperatures exceeding 20 °C is associated with increased stomatal resistance of the leaves.

There is a synergy of the negative effect of Pb and moderately high temperature on the leaves of *Plantago major* L.

The negative effects of Pb-induced stress are amplified at elevated temperatures.

The effect of moderate high temperature in Pb-treated plants is most pronounced in the initial phase of stress development.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ СТИМУЛА, ПОЛУЧЕННОГО РЕКУРРЕНТНОЙ НЕЙРОННОЙ СЕТЬЮ, ПО ПАТТЕРНУ НЕЙРОННОЙ АКТИВНОСТИ

С.И. Барцев^{1,2*}, Г.М. Маркова^{2†}

¹ Институт биофизики СО РАН –
обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия

² Сибирский федеральный университет,
Красноярск, Россия

Возможность реконструкции содержания той информации, которая обрабатывается мозгом, по динамическим паттернам нейронной активности составляет ключевую задачу концепции нейронных коррелятов сознания [1]. В настоящее время стоит задача оценить воспроизводимость паттернов, соответствующих одному и тому же содержанию. Согласно современным представлениям и нейрофизиологическим данным [2, 3, 4, 5] кодирование релевантной для задачи информации в рабочей памяти является очень динамичным. При этом идентичность стимула представлена широко колеблющимися паттернами нейронных ответов.

В работе [6] вопрос о том, сохраняется ли релевантная информация о поступившем в нейронную сеть стимуле в виде статического или динамического паттерна возбуждения исследован на рекуррентной искусственной нейронной сети (РНС). С помощью метода кросс-временной классификации было показано, что кодировка информации о внешнем стимуле, полученном в ходе теста отложенного сравнения с образцом (ОСО), является динамичной. Следовательно, закономерности, наблюдаемые на биологических нейронных сетях, были воспроизведены также на искусственных нейронных сетях, что позволяет использовать их для моделирования нейронной активности.

Цель настоящей работы – оценить возможность идентификации стимула, полученного простейшей РНС, по паттерну нейронной активности в период времени, когда РНС хранит информацию о данном стимуле в рабочей памяти.

Мы использовали РНС с двумя входами, двумя выходными нейронами и различным числом внутренних нейронов. Выход РНС – $y_o^{(t)}$ в момент времени t вычисляется с использованием следующих уравнений:

$$y_h^{(t)} = f_h(W_h \cdot y_h^{(t-1)} + W_i \cdot x^{(t)})$$
$$y_o^{(t)} = f_o(W_o \cdot y_h^{(t)})$$

где W_h , W_i , W_o – матрицы весовых коэффициентов внутренних нейронов, входов и выходных нейронов соответственно; $x^{(t)}$ – вектор входных сигналов в момент времени t ; векторы $y_h^{(t)}$ и $y_h^{(t-1)}$ описывают уровни возбуждения внутренних ней-

* bartsev@yandex.ru

† © Барцев С.И., Маркова Г.М., 2021

ронов в моменты времени t и $t-1$. Функции $f_h(\cdot)$ и $f_o(\cdot)$ являются функциями активации внутренних и выходных нейронов соответственно.

Активационная функция внутренних нейронов имеет традиционный сигмоидный вид, а выходных – кусочно-линейный, чтобы произвести точный выходной сигнал 0/1:

$$f_h(x) = \frac{1}{2} \left(\frac{x}{a + |x|} + 1 \right), \quad f_o(x) = \begin{cases} 0, & \text{if } x \leq 0, \\ b \cdot x, & \text{if } x > 0 \text{ \& } x < 1, \\ 1, & \text{if } x \geq 1 \end{cases}$$

Обучение РНС проводилось с помощью алгоритма обратного распространения ошибки. РНС обучались прохождению теста ОСО. Первым на вход поступал один из трех случайно выбранных стимулов – входных векторов: А – (01), В – (10) и С – (11). После паузы, продолжительность которой случайным образом варьировалась от 3 до 6 тактовых циклов, на вход поступал второй стимул, также выбранный случайно. На третьем шаге после предъявления второго стимула РНС вырабатывала сигнал (10), если эти стимулы совпадали, и (01) в противоположном случае. После этого цикл реакции повторялся (см. рисунок 1).

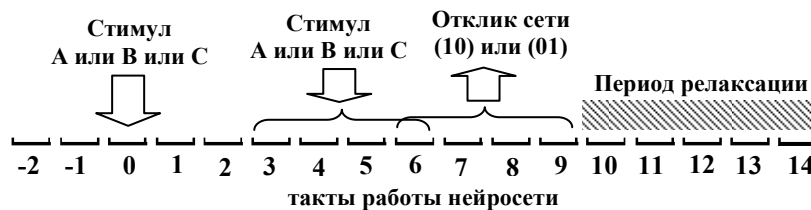


Рис. 1. Схема реализации теста ОСО

РНС указанной конфигурации обучились прохождению теста ОСО, усложненного варьированной продолжительностью паузы между стимулами. В период паузы РНС хранили сведения о первом полученном стимуле, сохраняя готовность в любой момент использовать их для сопоставления со вторым стимулом. При дальнейшем анализе рассматривались уровни возбуждения нейронов РНС, обученных тесту ОСО со случайной продолжительностью паузы между стимулами, соответствующие четырем тактам перед предъявлением второго стимула.

Анализ нейронной активности методом кросс-временной классификации, проведенный в [6] на 200-нейронных РНС, функционировавших в непрерывном режиме, был повторен нами на простейших РНС малых размеров в дискретном временном режиме. Полученные матрицы точности кодирования позволяют оценить динамичность кодирования трех релевантных для ОСО переменных: сущность первого стимула, сущность второго стимула, отклик. О высокой вариативности во времени, характерной для кодировки сущности первого стимула, говорит расположение участков точного декодирования (белый цвет) на диагонали (см. рисунок 2).

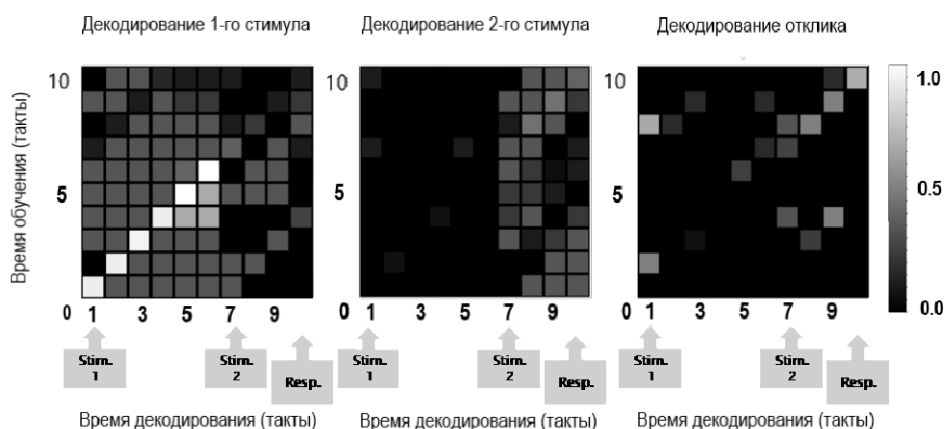


Рис. 2. Матрицы точности кодирования, полученные методом кросс-временной классификации при анализе паттернов возбуждения 25-нейронной сети, обученной тесту ОСО

Поскольку паттерн нейронной активности, обеспечивающий хранение информации о полученном стимуле, является динамичным, требуется выделить инвариант на любом из тактов в период хранения. Для этого использовался метод центроидов [7]. По минимальному значению расстояния в многомерном пространстве размерности R_n , где n – количество нейронов, определялся предсказанный по методу центроидов вид полученного РНС стимула. Показано, что в разные моменты времени в период хранения стимула точность идентификации данным методом меняется (см. рисунок 3).

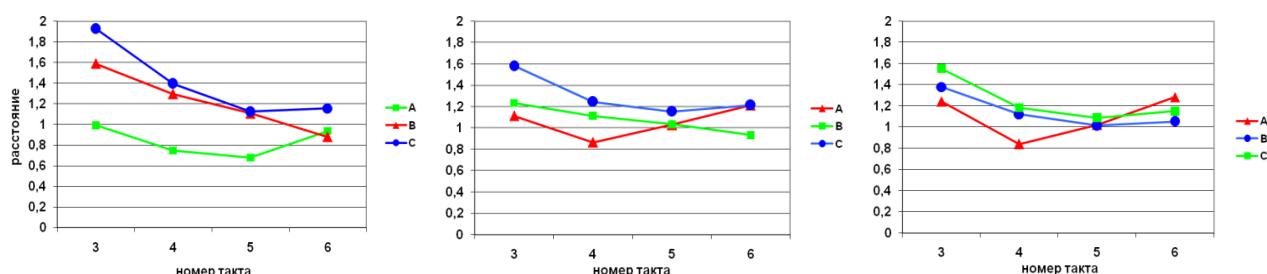


Рис. 3. Расстояния между центроидами трех возможных стимулов и текущими координатами нейронной активности в многомерном пространстве. Графики слева направо соответствуют центроидам: А, В, С

Хотя в ряде случаев метод центроидов позволяет верно идентифицировать стимул, хранящийся в паттерне нейронной активности в данный момент времени, его эффективность не превышает 75-80 %, что объясняется высокой вариабельностью сигнала. В то же время возможности для идентификации стимула по паттерну нейронной активности присутствуют, поскольку 1) более чем в половине случаев удалось верно идентифицировать стимул, 2) исходная РНС, проходящая тест ОСО, справлялась с задачей. В дальнейшем для идентификации предполагается разработать индивидуальный нейросетевой декодер.

Список литературы

1. Crick F., Koch C. A framework for consciousness. *Nature Neuroscience*. 2003. Vol. 6. № 2. P. 119–126.
2. Meyers E.M. Dynamic population coding and its relationship to working memory. *Journal of Neurophysiology*. 2018. Vol. 120. № . 5. P. 2260-2268.
3. Meyers E.M., Freedman D.J., Kreiman G., Miller E.K., Poggio T. Dynamic population coding of category information in inferior temporal and prefrontal cortex. *Journal of neurophysiology*. 2008. Vol. 100. № 3. P. 1407-1419.
4. Barak O., Tsodyks M., Romo R. Neuronal population coding of parametric working memory. *Journal of Neuroscience*. 2010. Vol. 30. P. 9424–9430
5. Stokes M.G., Kusunoki M., Sigala N., Nili H., Gaffa D., Duncan J. Dynamic coding for cognitive control in prefrontal cortex. 2013. *Neuron*. Vol. 78. № 2. P. 364-375.
6. Miconi T. Biologically plausible learning in recurrent neural networks reproduces neural dynamics observed during cognitive tasks. *Elife*. 2017. Vol. 6. P. e20899.
7. Crowe D.A., Averbeck B.B., Chafee M.V. Rapid sequences of population activity patterns dynamically encode task-critical spatial information in parietal cortex. *Journal of Neuroscience*. 2010. Vol. 30. № 35. P. 11640-11653.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ГЕРБИЦИДОВ НА КУЛЬТУРАХ БАКТЕРИЙ

Ю.В. Батаева*, Л.Н. Григорян†

ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный университет»,
Астрахань, Россия

Использование в растениеводстве пестицидов привело к острой проблеме загрязнения окружающей среды. Попадание пестицидов в почвенные покровы сопровождается обеднением состава биоценоза почвы, выпадением из нее ценных видов, и, как следствие, снижению плодородия почвы и деградацией почвенных экосистем. Кроме того, значительно обостряется проблема выращивания и производства экологически чистой растениеводческой продукции. Микробные удобрения и средства защиты растений становятся все более приоритетными на рынке удобрений в связи с экологической безопасностью и высокой эффективностью (Григорян и др., 2020). Но существует проблема выживаемости и эффективности применения микробиологических препаратов при совместной обработке пестицидами посевов в агропромышленном комплексе (Чиров и др., 2003).

Целью данной работы явилось исследование влияния фосфорорганического гербицида «Глифос» на почвенные бактерии вида *Bacillus megaterium* и циано-бактериальные сообщества, у которых обнаружены активные фитостимулирующие и фунгицидные свойства. Гербицид «Глифос» изготовлен на основе глифосата и является универсальным средством борьбы с различными сорняками.

Токсичность пестицидов определяли по ингибированию роста культур бактерий в жидкой питательной среде – бобовом агаре (для бактерий *Bacillus megaterium*) и среде BG-11 (для цианобактерий) с добавлением элюата в разведениях (1:1, 1:5, 1:10 и 1:100) (Селивановская, Галицкая, 2011). Опытные образцы сравнивали с контрольными, в которые вместо элюата добавляли стерильную дистиллированную воду. Фиксировали светопропускание фотометрически на цифровом фотоколориметре AP-101, затем вычисляли оптическую плотность культур. Количество клеток помимо фотометрического определения изучали с помощью камеры Горяева.

По результатам исследования выяснено, что во всех образцах культура бактерии *Bacillus megaterium* находится в подвижном состоянии и их численность во всех образцах примерно одинакова. Коэффициент светопропускания варьировал в пределах от 42,0 до 59,5 во всех разведениях.

Второй этап эксперимента заключался в использовании в качестве элюата тот же гербицид, но с добавлением в питательную среду концентрированного раствора «Глифоса» и его разведения (1:1, 1:5, 1:10 и 1:100).

* aveatab@mail.ru

† © Батаева Ю.В., Григорян Л.Н., 2021

На втором этапе опыта наглядно были видны различия между образцами. Так, в образцах с наиболее концентрированным содержанием «Глифоса» (концентрат и его разведение 1:1) наблюдалось ингибирование роста культуры *Bacillus megaterium*. При количественном учете клеток в исследуемых образцах установлено, что маленькие концентрации рабочего раствора (разведение 1:5) глифоса стимулируют рост культуры *Bacillus megaterium*.

При исследовании влияния пестицида на циано-бактериальные сообщества выявлено ингибирование роста культуры практически во всех разведениях глифоса. В рабочем растворе, разведении 1:100 рабочего раствора и разведении глифоса 1:5 установлено стимулирующее действие на цианобактерии. В разведении 1:100 наблюдалось минимальное значение коэффициента светопропускания $45,65 \pm 10,05$, что подтверждает стимулирование роста культуры.

На основании полученных результатов, можно сделать вывод, что губительное влияние на микроорганизмы оказывают только высокие концентрации содержания токсиканта: концентрированный раствор и раствор 1:1, которые в указанных пропорциях не используются в сельском хозяйстве. В остальных концентрациях токсикант не приводил к гибели бактерий и есть вероятность того, что некоторые концентрации гербицида стимулируют рост клеток бактерий, но неизвестно какое влияние оказывает пестицид на клеточном и молекулярном уровнях.

Список литературы

1. Григорян Л.Н. Батаева Ю.В., Шляхов В.А., Магзанова Д.К., Баймухамбетова А.С. Фитотоксичность и инсектоакарицидная активность актиномицетов, выделенных из засоленных почв аридной территории. Юг России: экология, развитие. 2020. Т. 15. № 2. С. 103-112.
2. Чиров П.А., Ксенофонтова О.Ю. Пестициды и их взаимодействие с микроорганизмами. Ветеринария Поволжья. 2003. № 3 (6). С. 8-10.
3. Селивановская С.Ю., Галицкая П.Ю. Биологические методы в оценке токсичности отходов и почв. Казань: Казанский университет. 2011. С. 96.

ЭКСПЕДИЦИОННЫЕ МОНИТОРИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ РЕКИ ОБИ В 2016–2020 ГОДАХ

**Д.М. Безматерных^{*}, А.В. Пузанов,
А.В. Котовщиков, Н.И. Ермолаева, В.В. Кириллов,
Л.В. Яныгина, Л.М. Киприянова, Е.Ю. Зарубина,
О.С. Бурмистрова, Г.В. Винокурова[†]**

*Институт водных и экологических проблем СО РАН
Барнаул, Россия*

Обь – одна из крупнейших рек в мире (длина более 3,6 тыс. км), занимает первое место в России по водосборной площади (почти 3 млн км²) и третье – по стоку (395 км³ в год, в районе г. Салехард). Поверхность Обь-Иртышского бассейна дренируется многими тысячами рек, общая длина которых превышает 250 тыс. км. Истоком Оби принято считать место слияния рек Бия и Катунь, берущих начало в горах Алтая [1].

Многолетнее функционирование в бассейнах рек Оби и Иртыша крупнейших в России радиохимических, угледобывающих, металлургических, нефтехимических, нефте- и газодобывающих производств локально привело к радиоактивному, химическому и биологическому загрязнению вод и донных отложений рек, озер, болот и искусственных водоемов, подземных горизонтов. Проблемы качества воды в большей степени характерны для крупных промышленных центров, водоснабжение которых главным образом осуществляется за счет поверхностных водных источников. Разнообразие природных и антропогенных факторов обуславливает значительную вариабельность содержания химических элементов и загрязняющих веществ в природных водах (от низкого, недостаточного для живых организмов до превышающего ПДК) [2].

В соответствии с планами экспедиционных исследований на научно-исследовательских судах Минобрнауки России (ранее – Федерального агентства научных организаций) в 2016–2020 гг. Институтом водных и экологических проблем СО РАН проведены комплексные экспедиционные водно-экологические исследования в бассейне р. Оби на участке от г. Камень-на-Оби до пос. Карымкары с использованием научного флота (НИС «199»).

Цель экспедиций – комплексное изучение русла, поймы и притоков Оби (на отдельных характерных и важных в практическом отношении участках) и Новосибирского водохранилища, включающее морфометрические, гидрофизические, гидрологические, гидрохимические и гидробиологические исследования, выполняемые для мониторинга экологического состояния, изучения пространственно-временной организации и функционирования экосистем реки, сохранения и рационального использования ее водных и биологических ресурсов.

^{*} bezmater@iwepr.ru

[†] © Безматерных Д.М., Пузанов А.В., Котовщиков А.В., Ермолаева Н.И., Кириллов В.В., Яныгина Л.В., Киприянова Л.М., Зарубина Е.Ю., Бурмистрова О.С., Винокурова Г.В., 2021

Некоторые итоги этих экспедиций ранее уже были опубликованы [2–5]. Обобщение полученных за 2016–2020 гг. результатов позволило выявить следующие закономерности.

Новосибирское водохранилище – крупнейший в Западной Сибири искусственный водоем многоцелевого назначения. Для различных участков водоема характерны значительные сезонные и межгодовые колебания содержания в воде органических веществ, нефтепродуктов, фенолов, соединений тяжелых металлов и микроэлементов. На формирование гидрохимического режима верхней части водоема основное влияние оказывает химический сток р. Оби, на остальной акватории – водосбор и внутриводоемные процессы. Несмотря на то, что интегральная оценка воды водохранилища по гидрохимическим и гидробиологическим показателям в среднем за год соответствует категории «умеренно загрязненная», существуют участки «экологического напряжения», связанные с высокой антропогенной нагрузкой. По уровню загрязнения биогенами и органическими веществами к таким участкам можно отнести Крутихинское мелководье, Ордынский и Бердский заливы. За последние годы отмечено увеличение видового разнообразия фитопланктона, возрастание количества доминирующих видов и преобладание в их составе цианобактерий, что может свидетельствовать об ускорении процессов эвтрофирования. Это подтверждает и величина первичной продукция фитопланктона, которая в июле 2020 г. изменялась от 0,04 до 0,96 мгО₂/л*час., и увеличивалась в направлении к нижней части водохранилища с максимальными значениями в Бердском заливе. При этом, значительных изменений в видовом разнообразии макрофитов и степени зарастания водохранилища (~5 %) за последние годы не отмечено, что может косвенно свидетельствовать о стабильности ситуации в водохранилище.

На исследованном 2000-километровом участке р. Оби ниже плотины Новосибирской ГЭС вниз по течению снижается прозрачность вод, цвет воды приобретает больше желто-коричневых тонов, уменьшается электропроводность, рН, степень насыщения кислородом. Снижается количество основных катионов в ионном составе, увеличивается содержание хлоридов. Повышаются концентрации всех минеральных форм азота, а также фосфатов. Содержание общего фосфора имеет максимум в районе впадения р. Васюган, а также в Нижней Оби. Возрастает окисляемость вод и содержание общего органического вещества, особенно в Нижней Оби. В связи с повышением концентрации хлоридов солоноватоводные виды зоопланктона появляются в Оби задолго до впадения в Обскую губу, ниже г. Ханты-Мансийска [5].

Содержание хлорофилла фитопланктона в р. Оби в целом увеличивается, но максимум отмечается на участке Средней Оби. На этом же участке, но выше по течению отмечается пик численности цианопрокариот в планктоне, что индицируется в том числе относительными пигментными показателями. Наиболее существенные изменения большинства показателей качества вод происходят ниже слияния Оби с Иртышом. Водная и прибрежно-водная растительность поймы Верхней Оби имеет повышенное ценотическое богатство, по сравнению с поймами Средней и Нижней Оби.

Выполнен сравнительный анализ сезонной динамики характеристик речной системы на двух различных участках Верхней Оби. Верхний участок расположен на 20–50 км выше Новосибирского водохранилища, нижний – на 100–150 км ниже плотины. На нижнем участке быстрее наступает летний прогрев; значительно увеличивается прозрачность воды; цвет воды приобретает больше желто-зеленых тонов; увеличивается рН и общая минерализация воды. На нижнем участке речной системы в половодье уменьшается содержание общего фосфора. Летом окислительный тип среды на верхнем участке, внизу сменяется на переходный с неустойчивым геохимическим режимом. Показатели содержания органического вещества увеличивается на нижнем участке. Количество фитопланктона в нижнем участке возрастает в несколько раз. Первичная продукция фитопланктона на нижнем участке значительно увеличивается в период половодья. На участке выше водохранилища обнаружено 169 видов и форм зоопланктона, а ниже – 118.

Полученные данные являются научной основой для совершенствования технологии экологического мониторинга поверхностных вод Обь-Иртышского бассейна [6]. В дальнейшем ИВЭП СО РАН планируется продолжение экспедиционных исследований экосистемы р. Оби с использованием научного флота. В 2021 г. уже реализуется экспедиционный проект «Комплексные гидроэкологические исследования реки Оби и Новосибирского водохранилища», а на 2022 г. запланированы экспедиции по проекту «Исследования современного экологического состояния Новосибирского водохранилища, рек Обь и Чулым».

Работа выполнена в рамках темы государственного задания ИВЭП СО РАН (рег. № 121031200178-8).

Список литературы

1. Современное состояние водных ресурсов и функционирование водохозяйственного комплекса бассейна Оби и Иртыша / отв. ред. Ю.И. Винокуров, А.В. Пузанов, Д.М. Безматерных; Рос. Академия наук, Сибирское отделение, Институт водных и экологических проблем СО РАН. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2012. 236 с.
2. Пузанов А.В., Безматерных Д.М., Винокуров Ю.И., Зиновьев А.Т., Кириллов В.В., Красноярова Б.А., Рыбкина И.Д., Котовщиков А.В., Дьяченко А.В. Современное состояние и экологические проблемы Обь-Иртышского бассейна // Водное хозяйство России: проблемы, технологии, управление. 2017. № 6. С. 106–118.
3. Пузанов А.В., Безматерных Д.М., Винокуров Ю.И., Зиновьев А.Т., Кириллов В.В., Котовщиков А.В., Красноярова Б.А., Рыбкина И.Д., Дьяченко А.В. Современное состояние водных ресурсов и водохозяйственного комплекса Обь-Иртышского бассейна // Водные и экологические проблемы Сибири и Центральной Азии: тр. III Всерос. науч. конф. с междунар. участ. (28 августа – 1 сентября 2017 г., Барнаул): в 4 т. Барнаул, 2017. Т. 1. С. 3–16.

4. Пузанов А.В., Безматерных Д.М., Зиновьев А.Т., Кириллов В.В., Рыбкина И.Д., Котовщиков А.В., Курепина Н.Ю. Обь-Иртышский бассейн: современное состояние, экологические проблемы и перспективы изучения // Географические основы и экологические принципы региональной политики природопользования: Матер. Междунар. науч.-практ. конф. (23–27 сентября 2019 г.). Иркутск: Институт географии СО РАН, 2019. С. 577–581.

5. Yermolaeva N., Dvurechenskaya S., Kirillov V., Puzanov A. Dependence of Long-Term Dynamics of Zooplankton in the Ob River on Interannual Changes in Hydrological and Hydrochemical Parameters // Water. 2021. 13, 1910. <https://doi.org/10.3390/w13141910>

6. Безматерных Д.М., Пузанов А.В., Папина Т.С., Кириллов В.В., Рыбкина И.Д., Ловцкая О.В., Кузник Я.Э. Перспективы совершенствования технологии экологического мониторинга поверхностных вод Обь-Иртышского бассейна // Известия Алтайского отделения Русского географ. общества. – 2020. – № 2. – С. 49-58. DOI: 10.24411/2410-1192-2020-15704

ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПИЧЕСКОГО СОСТАВА КЛЕТОК ВРОЖДЕННОЙ И АДАПТИВНОЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ РАСПРОСТРАНЕННЫМ ГНОЙНЫМ ПЕРИТОНИТОМ В ДИНАМИКЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИОДА

В.Д. Беленюк, А.А. Савченко, А.Г. Борисов^{*†}

*ФИЦ КНЦ СО РАН НИИ медицинских проблем Севера,
Красноярск, Россия*

Быстрое развитие медицинских технологий в последние годы принесло много новых решений в различной мере повлиявших на процессы терапии. Однако это не значит, что удалось изжить насущные проблемы, десятилетиями вносившие существенный вклад в статистику смертности. Одним из ярких примеров являются гнойно-септические заболевания [1]. Наиболее тяжелая нозология этого направления, разлитой гнойный перитонит (РГП), сопровождается летальностью на уровне 10-30 %, а в случае генерализации инфекции и развития полиорганной недостаточности 80-90 % [2]. За последние годы было показано, что практически любое заболевание в независимости от нозологии так или иначе связано с процессами, протекающими в системе иммунитета, и РГП не стал исключением [3,4]. Таким образом целью исследования, стало установление закономерностей изменения фенотипического состава и уровня активности клеток врожденной и адаптивной иммунной системы у больных распространенным гнойным перитонитом в динамике послеоперационного периода.

На базе Красноярского краевого гнойно-септического центра Краевой клинической больницы № 1, обследовано 32 пациента с РГП, в возрасте 25 – 65 лет (средний возраст пациентов составил $49,6 \pm 9,4$ лет), а также 36 относительно здоровых доноров. Забор крови для иммунологического исследования, при РГП, производили перед операцией (1 день), а также на 7, 14 и 24 сутки послеоперационного периода, утром натощак с 8 до 9 часов. Забор крови контрольной группы осуществлялся единожды. Иммунофенотипирование лейкоцитов проводили методом проточной цитометрии с использованием прямой пятицветной иммунофлуоресценции цельной периферической крови. Для дифференцировки лимфоцитов использовали готовые моноклональные антитела (Beckman Coulter, США). Пробоподготовку осуществляли по стандартной методике [5]. Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре Cytomics FC-500 (BeckmanCoulter, USA). В каждой пробе анализировали не менее 50000 лимфоцитов.

У больных РГП независимо от течения РГП отмечалось существенное увеличение количества нейтрофильных гранулоцитов, а также повышение числа нейтрофилов, несущих CD23 CD62L CD64 и HLA-DR. В зависимости от исхода заболевания при исследовании регуляторного влияния моноцитов и их

^{*} imprn@imprn.ru

[†] © Беленюк В.Д., Савченко А.А., Борисов А.Г., 2021

субпопуляций на популяционный состав гранулоцитарных лейкоцитов, обнаружено, что иммуновоспалительный процесс при РГП характеризуется снижением количества классических моноцитов в периферической крови и увеличением содержания неклассических моноцитов. Также при РГП в периферической крови понижается уровень моноцитов, экспрессирующих HLA-DR-рецепторы. Изменение соотношения субпопуляций моноцитов характеризует повышение роли провоспалительной фракции в патогенезе РГП. У пациентов с благоприятным исходом РГП в дооперационном периоде снижено содержание зрелых NK- и NKT-клеток, восстановление количества которых осуществляется к концу послеоперационного периода за счет повышения уровней зрелых, цитотоксических и цитокин-продуцирующих клеток. При благоприятном исходе заболевания к концу послеоперационного периода среди всех исследуемых субпопуляций NK-клеток крови повышается доля с экспрессией CD11b-рецептора и увеличивается количество CD57⁺NK-клеток относительно дооперационного уровня, эта же картина наблюдается и в случае с NKT-клетками. У больных с неблагоприятным исходом РГП в дооперационном и в течение всего послеоперационного периода выявляется снижение содержания зрелых NK- и NKT-клеток как относительно показателей здоровых людей, так и пациентов с благоприятным исходом заболевания. При неблагоприятном исходе РГП к концу наблюдаемого периода повышается уровень цитотоксических NK- и NKT-клеток в крови. У данной категории больных в дооперационном периоде и после операции доля зрелых NK- и NKT-клеток с экспрессией CD11b снижается. В течение всего послеоперационного периода при неблагоприятном исходе заболевания понижено содержание CD57⁺NK-клеток как относительно контрольного диапазона, так и количества в крови у больных с благоприятным исходом РГП, подобная картина повторяется и для NKT-клеток. Т-лимфоциты больных РГП значительно интенсивнее по сравнению с клетками здоровых людей экспрессируют рецепторы CD28 и CD62L. При этом, в дооперационном периоде и в течение двух недель послеоперационного лечения при благоприятном исходе РГП выявляется повышенное количество CD62L⁺Т-лимфоцитов по сравнению с показателями больных с неблагоприятным исходом заболевания. Другими особенностями фенотипического состава Т-лимфоцитов у больных с благоприятным исходом РГП является повышение Т-регуляторной активности Treg. При благоприятном исходе РГП уже на 14-е сутки лечения наблюдается повышение количества активированных цитотоксических Т-лимфоцитов, которое при неблагоприятном исходе наблюдается только на 21-е сутки лечения. Повидимому, Т-клеточная супрессия и активация цитотоксических Т-клеток являются факторами, определяющими снижение интенсивности воспалительных процессов при РГП и, тем самым, повышающими уровень благоприятного исхода заболевания. Установлено влияние послеоперационной антибиотикотерапии на состояние фенотипического состава Т-лимфоцитов при РГП. Причем, при неблагоприятном исходе заболевания послеоперационная терапия слабее или с запаздыванием влияет на динамику исследуемых показателей, чем при благоприятном исходе. В дооперационном периоде у больных РГП на фоне

низкого абсолютного уровня В-лимфоцитов в крови выявляется понижение содержания В1-клеток относительно контрольных значений. При этом у больных с неблагоприятным исходом РГП наблюдается более высокое количество активированных В1-лимфоцитов в крови, чем у пациентов с благоприятным исходом заболевания. У больных с благоприятным исходом РГП в течение послеоперационного периода наблюдается снижение количества большинства субпопуляций В-лимфоцитов, тогда как уровни содержания различных фракций В-клеток у пациентов с неблагоприятным исходом заболевания в послеоперационном периоде практически не меняются. Кроме того, в течение всего послеоперационного периода количество общих В-лимфоцитов, наивных В-клеток и В2-лимфоцитов, неэкспрессирующих и экспрессирующих CD23-рецептор, у больных с неблагоприятным исходом РГП выше, чем у лиц с благоприятным исходом заболевания. Предполагается, что установленные особенности в уровнях В-лимфоцитов в крови в зависимости от исхода определяются тем, что у больных с неблагоприятным исходом РГП снижен уровень миграции клеток в рамках развития иммунного ответа, а также пониженным уровнем чувствительности иммунной системы к послеоперационной антибактериальной терапии.

В результате проведенных исследований были установлены закономерности изменения популяционного состава клеток врожденного и адаптивной иммунной системы указывающие на наличие связи между исходом заболевания и типом иммунной реакции. Было показано, что у пациентов с благоприятным течением РГП происходит дифференцировка клеток в сторону Th-2 иммунного ответа, тогда как у больных с неблагоприятным течением заболевания чаще отмечалась дифференцировка в сторону Th-1 или Tfh типов иммунного ответа. В тоже время отмечалось замедление иммунного реагирования у пациентов с неблагоприятным течением РГП на фоне превалирования провоспалительных процессов в организме, что в большинстве случаев могло послужить причиной развития полиорганной недостаточности и способствовать срыву эффективного иммунного ответа. Полученные результаты легли в основу разработанного способа прогнозирования исхода распространенно гнойного перитонита, на основании расчёта коэффициента Т-клеточной регуляции (КТКР), представляющего собой соотношение процентного содержания В1-лимфоцитов к процентному содержанию активированных Т-регуляторных клеток. Доказано, что значение КТКР равное или выше 4,23 свидетельствует о снижении Т-регуляторной активности иммуновоспалительного процесса и повышении количества В1-лимфоцитов. При значении КТКР ниже 4,23 прогнозируют благоприятный исход РГП, при значении КТКР равном и выше 4,23 прогнозируют неблагоприятный исход заболевания.

Список литературы

1. Борисов А.Г., Савченко А.А., Черданцев Д. В. [и др.] Типы иммунного реагирования при распространенном гнойном перитоните (с комментарием). Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2016. № 9. С. 28-34.

2. Беленюк В.Д., Савченко А.А., Борисов А.Г., Кудрявцев И.В. Особенности фенотипа В-лимфоцитов крови в зависимости от исхода распространенного гнойного перитонита. Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11. № 3. С. 454-462.
3. Савченко А.А., Борисов А.Г., Черданцев Д. В. [и др.] Особенности фенотипа Т-лимфоцитов в динамике послеоперационного периода у больных перитонитом в зависимости от исхода заболевания. Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9. № 1. С. 115-127.
4. Савченко А.А., Борисов А.Г., Кудрявцев И.В., Беленюк В.Д. Фенотип НК-клеток в динамике послеоперационного периода у больных перитонитом в зависимости от исхода заболевания. Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9. № 3-4. С. 539-548.
5. Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. Екатеринбург: РИО УрО РАН. 2018. 720 с.

БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЛЮНЫ В ЭКОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ

Л.В. Бельская*, Е.А. Сарф†

*Омский государственный педагогический университет,
Омск, Россия*

Перспективным направлением методов лабораторного анализа в настоящее время является саливодигностика, имеющая существенные преимущества, в том числе при работе с детьми, а именно: безболезненность, неинвазивность, информативность, широкая доступность. При этом слюна адекватно отражает минеральный, белковый, биохимический статус и физиологическое состояние организма человека, что позволяет использовать ее в клинической лабораторной диагностике. Цель исследования – определить потенциальную возможность использования биохимических показателей слюны подростков для оценки уровня экологической напряженности в районах проживания.

Материалы и методы. Исследование проведено в сентябре 2020 года. В исследовании принимали участие 90 подростков в возрасте от 14 до 17 лет (39 мальчиков, 51 девочка), проживающих в 6 административных округах г. Омска с различным уровнем загрязнения окружающей среды. Предварительно получено добровольное информированное согласие родителей или законных представителей детей. Наличие хронических, воспалительных и инфекционных заболеваний было исключено путем предварительного анкетирования.

Пробы слюны собирали утром натощак после чистки зубов в 9-10 часов утра в соответствии с полученными ранее данными о суточной динамике состава слюны, после чего центрифугировали при 7000 об/мин. в течение 10 минут. Во всех образцах определяли биохимические параметры, включая белковый, минеральный состав, активность некоторых ферментов, а также показатели эндогенной интоксикации (молекулы средней массы МСМ) и системы ПОЛ (диеновые и триеновые конъюгаты, основания Шиффа, у.е.), общий антиоксидантный статус (АОС, ммоль/л), уровень иммуноглобулинов (ИГ, мкг/мл). Белок определяли по реакции с пирогаллоловым красным с использованием набора ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Микроэлементный состав (калий, натрий, магний, кальций, хлориды, фосфаты, нитриты, нитриты) оценивали методом капиллярного электрофореза (КАПЕЛЬ 105М Люмэкс). Антиоксидантную активность (АОА) определяли по регистрации скорости окисления восстановленной формы 2,6-дихлорфенолиндофенола (2,6-ДХФИФ) кислородом, растворенным в реакционной среде, для тестирования уровня иммуноглобулинов использовали натрий-сульфитный преципитационный тест, активность каталазы по Королюку и соавт., среднемолекулярные токсины (МСМ) определяли методом УФ-спектрофотометрии при длинах волн 254 и 280 нм. Для определения дие-

* belskaya@omgpu.ru

† © Бельская Л.В., Сарф Е.А., 2021

новых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) и оснований Шиффа (ОШ) использовался спектрофотометрический метод И.А. Волчегорского.

Статистическая обработка результатов проведена с использованием программы Statistica 10.0 (StatSoft) непараметрическим методом. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-75 %). Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Попарное сравнение проведено с использованием критерия Манна-Уитни. Анализ методом главных компонент (РСА) выполнен с использованием пакета R.

Результаты. Показано, что значения биохимических параметров слюны подростков, проживающих в разных районах г. Омска, меняются разнонаправлено. Например, увеличение уровня ДК сопровождается уменьшением АОА (ЦАО2), и наоборот минимальный уровень ДК соответствует максимальной АОА (КАО). Статистически значимые отличия между районами выявлены для содержания натрия, хлоридов, нитритов, а также уровня иммуноглобулинов. Тем не менее, однозначной закономерности в изменении параметров не прослеживается, поэтому данные были обработаны методом РСА, чтобы понять, существуют ли различия между составом слюны в зависимости от района проживания и какие параметры вносят наибольший вклад в разделение. При сравнении всех 6 районов было показано, что однозначного разделения не происходит (рис. 1а).

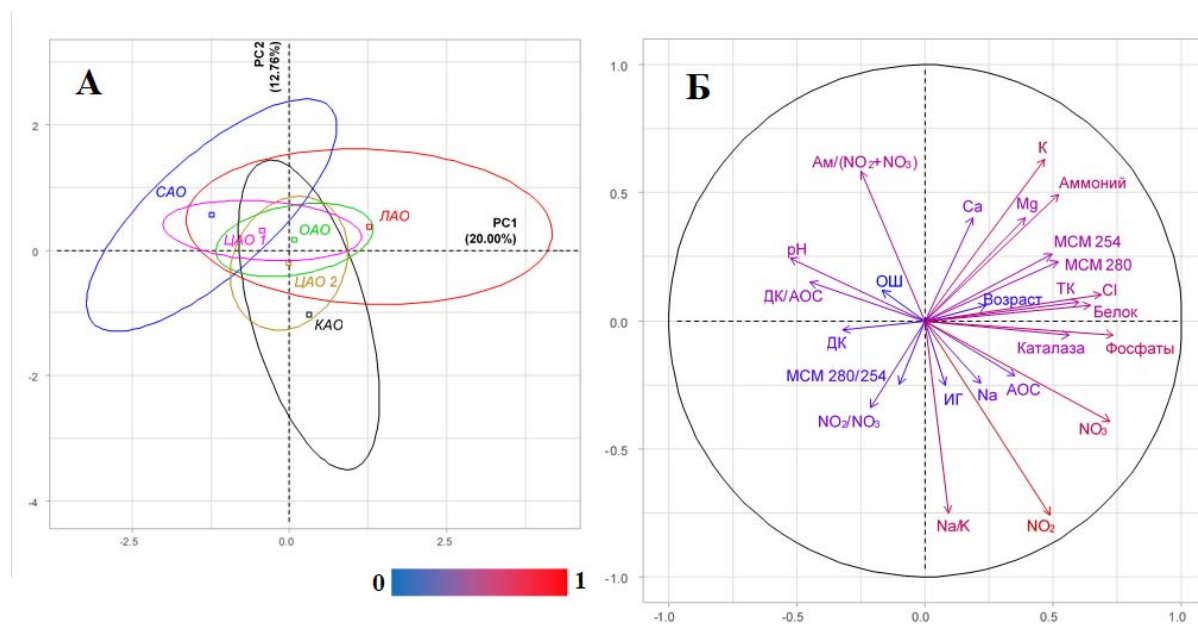


Рис. 1. Факторная плоскость (А) и корреляционный круг (Б) для сравнения всех районов проживания по биохимическому составу слюны. CAO – Советский АО, ЛАО – Ленинский АО, ОАО – Октябрьский АО, КАО – Кировский АО, ЦАО1 и ЦАО2 – Центральный АО

Первая главная компонента (PC1) разделяет между собой ЛАО и КАО (правее вертикальной оси) от CAO и ЦАО1 (левее оси). Горизонтальная ось (PC2) отделяет CAO, ЦАО1, ОАО и ЛАО от ЦАО2 и КАО (рис. 1а). Вклад

каждого биохимического параметра показан на корреляционном круге (рис. 1б). Видно, что практически все исследуемые параметры значимы для разделения групп. Однако, максимальный вклад вносят электролитные компоненты, белок и триеновые конъюгаты. На факторной плоскости (рис. 1а) максимально удалены друг от друга 3 района (КАО, САО и ЛАО), поэтому на следующем этапе мы провели сравнение этих районов между собой (рис. 2). Вертикальная ось (PC1) разделяет ЛАО и КАО от САО, Горизонтальная ось (PC2) отделяет САО и ЛАО от КАО (рис. 2а). Районы проживания подростков, у которых выявлены значимые отличия по исследуемым биохимическим параметрам слюны, закономерно максимально удалены друг от друга (КАО, ЛАО и САО). Выявленные различия, вероятно, могут быть связаны с преимущественным направлением ветра в регионе и особенностями распределения промышленных предприятий.

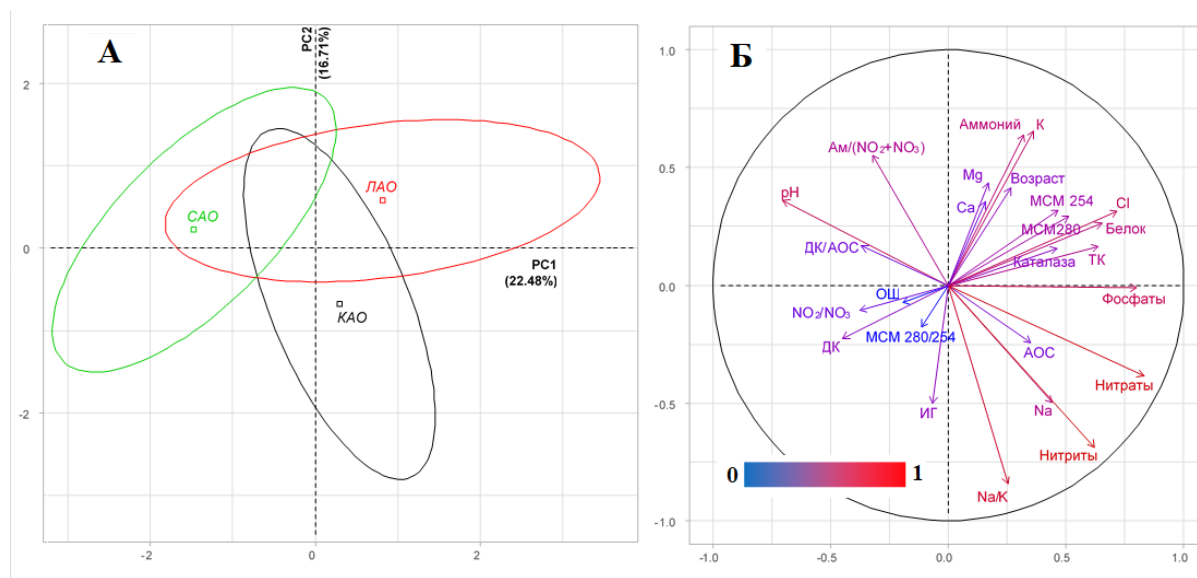


Рис. 2. Факторная плоскость (А) и корреляционный круг (Б) для сравнения КАО, САО и ЛАО районов проживания по биохимическому составу слюны

Детальный анализ биохимических параметров и их комбинации позволяет сформулировать гипотезу, что состояние влияния окружающей среды на организм у проживающих в районах в КАО и САО может рассматриваться как менее благоприятное, чем в ЦАО1, ЦАО2 и ЛАО. На диаграмме (рис. 2) показаны КАО, САО и ЛАО, в которых комбинация рассмотренных параметров максимально отличается друг от друга. Таким образом, в КАО и САО уровень ДК ниже, а АОС и ИГ имеют повышенные значения, в ЛАО напротив уровень ДК выше, а АОС и ИГ ниже. Согласно данным об экологическом мониторинге больше всего обращений на загрязнение атмосферного воздуха поступило из САО (35 %) и КАО (33 %) г. Омска, что согласуется с полученными данными. Мы провели предварительное исследование, которое показала принципиальную возможность применения слюны для мониторинга состояния организма.

Заключение. На примере подростков показано, что район проживания оказывает существенное влияние на показатели слюны. Однако в самостоятельном варианте ни один из определяемых параметров слюны не может быть использован для характеристики района проживания. Выявлена комбинация показателей слюны, которая позволяет в интегральной форме характеризовать состояние организма. Полученные данные соответствуют результатам экологического мониторинга в соответствующих районах.

ОЦЕНКА ОПАСНОСТИ ТОКСИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПО ХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ ЗАГРЯЗНЕННОСТИ РЕКИ ЕНИСЕЙ

Л.Г. Бондарева^{*†}

*ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора,
Мытищи. Московская область. Россия*

В условиях химического загрязнения одним из важнейших проявлений адаптационных процессов является направленное изменение эколого-генетической структуры природных популяций, позволяющее им выполнять свои биогеоценологические функции в изменившихся условиях среды. Такая модификация структуры возникает в результате взаимодействия токсического фактора и природных популяций, исходно характеризующихся полиморфизмом [1-3].

Качество воды – характеристика состава и свойств воды, определяющая пригодность ее для конкретных видов водопользования [4].

При использовании существующих и разработанных методов подготовки проб воды и последующим количественным определением, были получены данные по содержанию ряда элементов (металлов, неметаллов) в реке Енисей на участке, относящемся к территории Красноярской промышленной агломерации (Таблица 1).

Таблица 1

**Диапазоны содержания некоторых элементов на исследуемом участке
реки Енисей. Отборы 2006-2017 г.**

Содержание элементов, мкг/л							
Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	K
700-1200	1500-1700	7-15	1000-1500	30-50	2000-7000	500-900	800-1000
Fe	V	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn
5-230	1-3	0,1-2	1-3	0,2-0,8	1-3	2-4	3-5
As	Se	Sr	Hg	Pb	Bi	Th	U
0,5-0,8	1-2	200-300	0 –0,01	0,01-0,3	0,01- 0,06	0,2-0.5	0,9-1,2

На основании разработанных и утвержденных рекомендаций Росгидромета [5, 6], применяется математический аппарат для оценки опасности токсичности загрязнения по химическим показателям. Для этого используются данные мониторинга состояния водных источников, на основании которых разрабатываются критерии оценки уровня токсического загрязнения с учетом класса опасности выявленных загрязнителей [5, 6].

^{*} lydiabondareva@gmail.com

[†] © Бондарева Л.Г., 2021

При этом ранжирование проводится, как по отдельным группам веществ, так и по всей их сумме, а для отнесения к рангам токсического загрязнения используются наиболее жесткие параметры превышений нормативов ПДК в соответствии с таблицей 2.

Таблица 2

**Критерии оценки токсического загрязнения водных экосистем
по химическим показателям с учетом классов опасности (КО)
загрязняющих веществ (ЗВ)**

Уровень токсического загрязнения воды (класс качества воды)	Превышение ПДК
Условно нетоксичная (условно чистая)	Сумма ЗВ 1-2 КО не превышает ПДК, сумма всех ЗВ не превышает ПДК
Слабо токсичная (слабо загрязненная)	Сумма ЗВ 1-2 КО не превышает ПДК, сумма ЗВ 3-4 КО от 1 до 2 ПДК, сумма всех ЗВ не более 1 ПДК
Умеренно токсичная (загрязненная)	Сумма ЗВ 1-2 КО от 1 до 2 ПДК, сумма ЗВ 3-4 КО от 10 до 50 ПДК
Чрезвычайно токсичная (экстремально грязная)	Сумма ЗВ 1-2 КО более 5 ПДК, сумма ЗВ 3-4 КО более 50 ПДК

Метод по суммарным коэффициентам загрязненности воды используется для расчетов комплексных показателей загрязненности и основывается на расчетах различных коэффициентов загрязненности воды:

- по сумме кратности превышения величин концентраций токсичных загрязняющих веществ по отношению к их ПДК;
- по сумме кратности превышения величин концентраций токсичных загрязняющих веществ по отношению к их максимальным фоновым величинам в данном регионе, если ПДК превышены даже в фоновом створе.

Для каждого загрязнителя рассчитывается свой коэффициент загрязненности (Y_i):

$$Y_i = \frac{C_i}{\text{ПДК}_i}, \quad (1)$$

где C_i – концентрация i -го компонента состава загрязнения, мг/л,
 ПДК_i – ПДК i -го компонента состава загрязнения, мг/л.

Далее рассчитывают суммарный коэффициент загрязненности $Y_{\text{сум}}$ для всех токсичных загрязняющих веществ, обнаруженных в воде в результате химического анализа, используя формулу:

$$\Sigma Y_{\text{сум}} = \Sigma \frac{C_i}{\text{ПДК}_i} \quad (2).$$

Показателем экологической опасности является превышение коэффициентов загрязненности по сравнению с фоновым участком более чем в 30 раз.

На основании данных содержания основных загрязнителей в воде (табл. 1) и используя предложенный в Рекомендациях [138] математический аппарат (формулы 1 и 2) проведены расчеты коэффициентов загрязненности воды на участке № 1, относящейся к промышленной агломерации г. Красноярска. (Таблица 3), и на которой проживает значительная часть населения Красноярского края.

Таблица 3

Коэффициенты загрязненности воды на исследуемом участке

	ПДК, мг/л	КО	Содержание, мг/л	Y_i
Cu	0,001	3	0,004	4
Mn	0,01	4	0,003	0,3
Cr	0,07	3	0,002	0,028
Zn	0,01	3	0,005	5
V	0,001	3	0,003	3
Hg	0,00001	1	0,00001	1
Pb	0,006	2	0,0003	0,5
U – растворимые соединения	0,1	2	0,0012	0,012
Ni	0,01	3	0,003	0,3
Хлориды	300	4	0,73	0,002
Сульфаты	100	4	5,85	0,059
Суммарный коэффициент загрязненности				14,309

По результатам проведенных расчетов сделано следующее заключение. Вода реки Енисей на участке, находящемся под влиянием Красноярской промышленной агломерации, является умеренно токсичной (загрязненной), так как сумма загрязняющих веществ, относящихся к 1 и 2 классу опасности, составляет 1,5 ПДК, а сумма загрязняющих веществ 3 и 4 класса опасности – 12,81.

Благодарность: работы выполнены при частичной финансовой поддержке Роспотребнадзора.

Список литературы

1. Гольдберг В.М., Зверев В.П., Арбузов А.И., Казеннов С.М., Ковалевский Ю.В., Путилина В.С. Техногенное загрязнение природных вод углеводородами и его экологические последствия. М.: Наука, 2001. – 125 с.
2. Голубев, А.А., Люблина Е.И., Толоконцев И.А., Филов В.А. Количественная токсикология. Л.: Медицина, 1973. – 314 с.

3. Ракитский В.Н., Бондарева Л.Г., Федорова Н.Е. Научное обоснование закономерностей и механизмов антропогенного воздействия на биоценоз пресноводной экосистемы. Красноярск: Сиб. федер. ун-т, 2020. – 236 с. ISBN 978-5-7638-4342-2

4. ГОСТ 17.1.1.01–77 Охрана природы (ССОП). Гидросфера. Использование и охрана вод. Основные термины и определения (с Изменениями N 1, 2) <http://docs.cntd.ru/document/1200009357>

5. Организация и проведение режимных наблюдений за загрязнением поверхностных вод суши на сети Роскомгидромета: метод. указ. Охрана природы. Гидросфера. РД 52.24.309–92. СПб.: Гидрометеиздат, 1992. – 67 с.

6. РД 52.24.620–2000. Организация и функционирование подсистемы мониторинга антропогенного эвтрофирования пресноводных экосистем. – Ростов-на-Дону, 2008. – 42 с.

ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ ЙОДОДЕФИЦИТА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ ДЕТСКОГО ОРГАНИЗМА

А.П. Борейко^{*}, С.Ф. Лукина^{†‡}

*ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) федеральный университет
имени М.В. Ломоносова»,
Архангельск, Россия*

Известно, что в йоддефицитных регионах в 2 раза чаще встречается умственная отсталость, до 15 % школьников испытывают трудности в обучении, снижаются антропометрические показатели [1]. По данным исследований, проведенных в Архангельской области в [2], установлено, что наиболее йоддефицитными являются ее южные районы, где распространенность зоба составила до 98,5 % при наличии йодной недостаточности по медиане йодурии до 30 %. В то же время в северных районах области, расположенных на побережье Белого моря, выявлена легкая степень эндемии (до 11 % по распространенности зоба и до 74 % по медиане йодурии). В районах Архангельской области степень выраженности зубной эндемии по частоте тиромегалии варьирует от легкой (в г. Архангельске – 3,3 %, в г. Мезени – 6,7 %) до средней (в п. Пинега – 27,5 %) и тяжелой (в г. Онеге – 41,5 %) [3].

Цель исследования: выявить особенности морфофункционального и психофизиологического созревания организма детей 7 лет, проживающих в районах с разным уровнем йодообеспеченности.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 467 детей (230 девочек и 237 мальчиков) городов Архангельска, Мезени, Онеги и поселка Пинега. Средний возраст детей составил $7,13 \pm 0,42$ лет.

Оценка морфологической зрелости детей проводилась по показателям длины тела, по показателю школьной зрелости, по количеству прорезавшихся постоянных зубов и индикатору варианта развития. Функциональная зрелость оценивалась с помощью кистевой динамометрии и показателей гемодинамики. Для оценки психофизиологической зрелости использовали «Методику оценки уровня развития зрительного восприятия детей 5-7,5 лет» и тест Тулуз-Пьерона.

Математический и статистический анализ результатов исследования, проводился с применением пакета прикладных программ Microsoft Excel, SPSS 15,0. По результатам всех статистических методик различия считались достоверными при величине уровня значимости $p < 0,05$.

Результаты: Проведенный нами дисперсионный анализ не выявил значимого влияния ($p > 0,05$) пола ни на один показатель биологической зрелости первоклассников. Это дало возможность в настоящем исследовании при проведении статистических процедур в дальнейшем не учитывать влияние пола.

^{*} a.repina@narfu.ru

[†] s.lukina@narfu.ru

[‡] © Борейко А.П., Лукина С.Ф., 2021

Низкие темпы морфологического созревания по показателю длины тела чаще отмечаются в районе с тяжелой степенью зубной эндемии ($24,73 \pm 4,47 \%$). Показатель школьной зрелости достоверно ниже в группе детей из района с тяжелой степенью зубной эндемии, что свидетельствует об акселерированном развитии детей этой группы. Значение Индекса варианта развития у детей этой группы достоверно выше, что так же подтверждает ускоренный темп развития детского организма. Нами отмечены достоверные различия в темпах морфологического созревания по показателю зубной зрелости у детей, проживающих в районах с разной степенью зубной эндемии. Среди первоклассников, проживающих в районе с тяжелой степенью зубной эндемии большая часть выборки ($77,42 \pm 4,34 \%$) составляет группу с отставанием зубной зрелости от возрастной нормы.

Отмечены достоверные различия в темпах созревания по показателям мышечной силы кистей рук, так у детей, проживающих в районе с тяжелой степенью зубной эндемии, среднее значение силы мышц правой кисти составляет $8,22 \pm 2,31$ кг, левой – $6,89 \pm 2,01$ кг, что ниже, чем в районах с легкой и средней степенью зубной эндемии. Среди детей, проживающих в районе с тяжелой степенью зубной эндемии, $55,91 \pm 5,15 \%$ составляют группу со сниженной силой правой кисти, $84,95 \pm 3,71 \%$ – левой кисти. Средние значения частоты сердечных сокращений у детей, проживающих в районах с разной степенью зубной эндемии, имеют достоверные различия. Выявлено значительное количество детей с ускоренной частотой сердечных сокращений из района с тяжелой степенью зубной эндемии, что свидетельствует об отставании функционального развития по данному показателю. Средние значения показателей систолического и диастолического артериального давления крови детей соответствуют возрасту. Распределение детей по группам с разным показателем артериального давления показало, что среди детей, проживающих в районе со средним уровнем зубной эндемии, чаще отмечается повышение САД ($30,77 \pm 7,02 \%$). Случаев повышенного ДАД больше отмечено среди детей, проживающих в районе с легкой и тяжелой степенью зубной эндемии ($21,55 \pm 4,15 \%$ и $20,43 \pm 4,18 \%$ соответственно).

По мере увеличения степени зубной эндемии в районе проживания, у первоклассников достоверно снижаются показатели уровня развития зрительного восприятия и увеличивается количество детей с отставанием темпа формирования системы зрительного восприятия. Нами не выявлено достоверных различий в скорости выполнения теста Тулуз-Пьерона, что свидетельствует о менее выраженном влиянии дефицита йода на скоростные показатели психофизиологической деятельности. Качественные характеристики работоспособности, оцениваемые по показателю точности выполнения теста Тулуз-Пьерона, достоверно отличаются у детей, проживающих в районах с разной степенью зубной эндемии. Так, точность выполнения теста достоверно ухудшается по мере увеличения степени зубной эндемии в районе проживания.

Результаты корреляционного анализа свидетельствуют, что количество достоверных двусторонних корреляционных связей ($p < 0,05$) между показателями биологической зрелости у детей, проживающих в условиях разной степе-

ни йодной эндемии достоверно отличается. Показатели с максимальным количеством корреляционных связей: у детей, проживающих в условиях легкой степени зобной эндемии – это показатели зубной зрелости (8) и силы левой кисти (7), у детей, проживающих в условиях тяжелой степени зобной эндемии – показатели длины тела (7) и индикатора варианта развития (8). Анализ структурной корреляционной модели системы показателей биологической зрелости у детей 7 лет, проживающих в условиях легкой степени йододефицита позволяет выделить 3 системообразующих комплекса: морфологический, динамометрический и гемодинамический. У первоклассников, проживающих в условиях тяжелой йодной эндемии – 2 системообразующих комплекса: морфологический и динамометрический. У детей, проживающих в условиях средней степени йодной эндемии, не представляется возможным выделить системообразующих комплексов.

Факторный анализ, проведенный для показателей биологической зрелости в разных по степени зобной эндемии группах, показал существенные отличия в факторной модели обеспечения биологической зрелости. Показатели биологической зрелости у детей, проживающих в условиях легкой степени зобной эндемии, группируются в 6 факторов, составивших 64,34 % дисперсии: генеральный фактор включает показатели динамометрии, фактор 2 характеризует особенности развития сердечно-сосудистой системы. Показатели биологической зрелости у детей, проживающих в условиях средней степени йодной эндемии, группируются в 5 факторов, составивших 71,36 % дисперсии: генеральный фактор включает показатели развития сердечно-сосудистой системы, фактор 2 характеризует морфологические особенности развития. Показатели биологической зрелости у детей, проживающих в условиях тяжелой степени йодной эндемии, также группируются в 5 факторов, составивших 65,01 % дисперсии: генеральный фактор включает показатели морфологического развития, фактор 2 характеризует динамометрические показатели развития.

Выводы

Выявлено влияние уровня зобной эндемии в районе проживания на темпы биологического созревания первоклассников: дети, проживающие в районе с легкой степенью зобной эндемии более зрелые по большинству исследованных морфофункциональных показателей.

При анализе биологической зрелости первоклассников, проживающих в условиях в районах с разной степенью зобной эндемии, малоинформативными оказались показатели психофизиологической зрелости, они не составляют ни системообразующего комплекса, ни общего фактора в системе обеспечения биологической зрелости.

Результаты сравнения корреляционных и факторных моделей системы обеспечения биологической зрелости свидетельствуют в существенных отличиях в системе обеспечения биологической зрелости детей, проживающих в условиях разной зобной эндемии.

Список литературы

1. Стенникова О.В., Боборыкина А.Е., Левчук Л.В. Роль йодного обеспечения в формировании интеллектуального и соматического здоровья детского населения. Вопросы современной педиатрии. 2009. Т.8. № 3. С. 48–53.
2. Горбачев А.Л., Добродеева Л.К., Теддер Ю.Р., Шацова Е.Н. Биогеохимическая характеристика северных регионов. микроэлементный статус населения архангельской области и прогноз развития эндемических заболеваний. Экология человека. 2007. № 1. С. 4–11.
3. Горбачев А.Л., Сибилева Е.Н., Ломакин Ю.В. Некоторые параметры и причинные факторы зобной эндемии на территории приморского района архангельской области. Вестник Оренбургского государственного университета. 2006. № 12S (62). С. 68–69.

АНАЛИЗ ВРЕМЕННЫХ РЯДОВ В ИССЛЕДОВАНИИ СЕЗОННОЙ ДИНАМИКИ ВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ ЗООПЛАНКТОНА Р. ОБИ (В РАЙОНЕ Г. БАРНАУЛА)

О.С. Бурмистрова^{*†}

*Институт водных и экологических проблем СО РАН,
Барнаул, Россия*

Основой экологического мониторинга являются долговременные наблюдения различных параметров экосистем. Анализ временных рядов используется для выявления как малых колебаний в течении года (сезонных), так и более длительных. Выявление смены характерных для водного объекта периодичностей с временной привязкой расширяет возможности прогнозирования стока и мониторинга природных экосистем [1, 2]. Состав и структура биоты, как компоненты биоразнообразия, могут быть оценены с помощью различных критериев [3, 4, 5].

Пробы зоопланктона отбирали в 2013–2018 годах из поверхностного слоя воды р. Обь в черте г. Барнаула на двух станциях створа (всего 283 пробы). Для анализа видового разнообразия зоопланктона рассчитывали 15 индексов. Для выявления закономерностей изменений видового разнообразия зоопланктона во времени был проведен анализ динамических рядов. Для мониторинга и прогноза подходят данные, последовательность которых имеют не случайный характер (выявляли с помощью трех тестов рандомизации) – 9 индексов имели не случайный характер у обоих берегов. Для прогнозирования индексов видового разнообразия использовали модели Хольта-Винтерса с использованием аддитивного метода.

За весь период исследования обнаружено 203 вида и формы зоопланктона (у левого берега выявлено 177, у правого – 192). Наибольшее число видов и форм зоопланктона отмечено у левого берега в летнюю межень, у правого – во время спада второй волны весенне-летнего половодья. Различий в видовом составе зоопланктона (с помощью $Chao_2$, «складной нож 1 и 2», бутстреп), как и статистически значимых отличий в значениях индексов видового разнообразия (на остатках, после удаления тренд-циклового и сезонной компонент) у разных берегов не обнаружено. Устойчивых долговременных изменений в биоразнообразии нет (тест тренда Манна-Кендалла).

Как и на многих крупных реках умеренного типа, разнообразие зоопланктона русла реки Оби находится под влиянием не только верхних участков реки, но и водоемов и водотоков поймы, за счет которой происходит обогащение новыми видами [6, 7]. Многие авторы, изучающие влияние паводков на разнообразие зоопланктона русла реки или, наоборот, пойменных водоемов и водотоков, указывают на сильное влияние продолжительности и силы половодья [8, 9, 10]. Наибольшие значения обилия и видового разнообразия зоопланктона в те-

^{*} BurmOlga@yandex.ru

[†] © Бурмистрова О.С., 2021

чение года часто приходится на фазу половодья [11, 12]. Наибольшее видовое богатство зоопланктона (по числу видов в пробе (рис. 1А) и индексам Менхиника и Маргалефа) в р. Оби у г. Барнаула у обоих берегов отмечено в период спада второй волны половодья (у правого берега, где развита пойма сезонная волна выше). Во время многоводного 2013 года значения индексов богатства зоопланктона были ниже, а в 2014 и 2018 годах во время спада второй волны половодья отмечено более высокое видовое богатство, чем сезонное поднятие в это время. Отмечали смещенный пик видового богатства на позднюю осень в 2016 году (из-за позднего прогрева воды) и на летнюю межень в 2017 году (из-за раннего, короткого и наименьшего по объему стока весенне-летнего половодья).

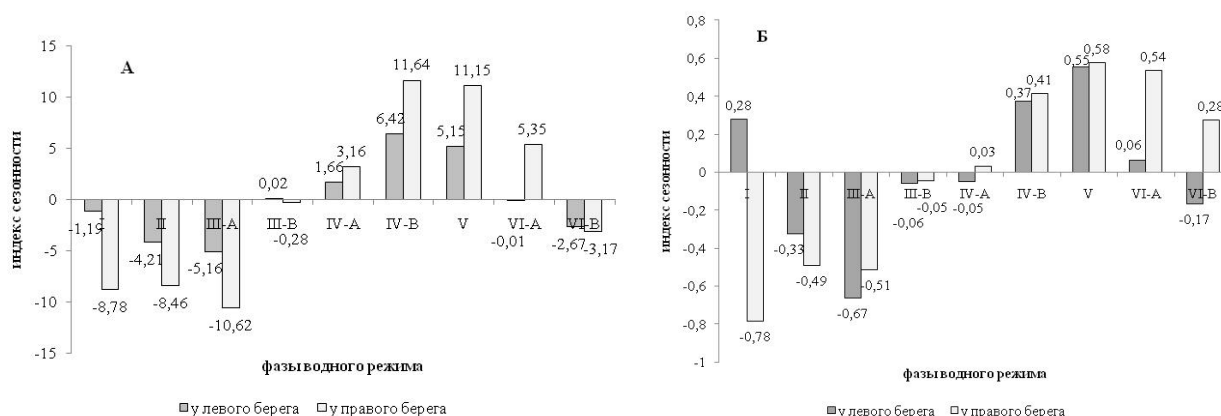


Рис. 1. Примеры сезонной волны индексов биоразнообразия р. Оби (г. Барнаул) для аддитивного метода построения модели: А. число видов в пробе, Б. индекс Шеннона (по численности)

Примечание: I зимняя межень; II – переходный период; III-A подъем первой волны половодья; III-B спад первой волны половодья; IV-A подъем второй волны половодья; IV-B спад второй волны половодья; V летняя межень; VI-A осенняя межень; VI-B поздняя осенняя межень

Индексы выравненности (Симпсона по численности и Пилоу) показывают максимальные значения в течение переходного периода, когда зимние виды зоопланктона снижают свою численность, а летние еще не развились в большом количестве. Наименьшая выравненность сообщества отмечена во время спада второй волны половодья. Из общих мер разнообразия тест на случайность динамического ряда прошли три показателя – индекс Шеннона, индекс полидоминантности и альфа Фишера. Индексы Шеннона (рис. 1Б) и полидоминантности показывают схожую сезонную динамику – наименьшие значения у левого берега во время подъема первой волны половодья, у правого берега в период зимней межени, наибольшие значения у обоих берегов в летнюю межень. Альфа Фишера наибольшее разнообразие показывает в период спада второй волны у обоих берегов.

Динамика видового богатства часто зависит от динамики стока рек [13]. Непрерывных рядов динамики за шесть лет исследования достаточно для изу-

чения сезонных особенностей видового разнообразия зоопланктона, но мало для выявления длительных циклов, поэтому требуется дальнейшие исследования.

Работа выполнена в рамках государственного задания Института водных и экологических проблем СО РАН (рег. № 121031200178-8) и гранта РФФИ (№ 20-05-00528). Автор выражает благодарность А.В. Котовщикову за помощь при отборе проб.

Список литературы

1. Pepin P., Verheye H.M. Global Comparison of Zooplankton Time Series. *Progress in Oceanography*. 2012. Т. 97–100. Р. 1–14.
2. Дубровская Л.И., Герасимова В.Р. Анализ многолетних колебаний стока рек Обь-Иртышского междуречья. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2015. Т. 17, № 6. С. 82–86.
3. Шитиков В.К., Розенберг Г.С. Оценка биоразнообразия: попытка формального обобщения. 1. Общий подход к оценке биологического разнообразия. Количественные методы экологии и гидробиологии (сборник научных трудов, посвященный памяти А.И. Баканова). 2005. С. 91–129.
4. Алексанов В.В. Методы изучения биологического разнообразия. 2017. 70 с.
5. Roswell M., Dushoff J., Winfree R. A conceptual guide to measuring species diversity. *Oikos*. 2021. Р. 1–18.
6. Opperman J., Luster R., McKenney B., Roberts M., Meadows A. Ecologically Functional Floodplains: Connectivity, Flow Regime, and Scale¹. *Journal of the American Water Resources Association*. 2010. Т. 46. Р. 211–226.
7. Потемкина Т.В., Шевелева Н.Г., Шабурова Н.И., Мишарина Е.А., Книжин И.Б. Структура, количественные показатели зоопланктона и зообентоса верхнего течения р. Лена и его водоемов. *Журнал Сибирского Федерального университета. Серия: Биологическая*. 2013. Т. 6, № 3. С. 313–329.
8. Thomaz S.M., Bini L.M., Bozelli R.L. Floods increase similarity among aquatic habitats in river-floodplain systems. *Hydrobiologia*. 2007. Т. 579. Р. 1–13.
9. Gozdziejewska A., Glinska-Lewczuk K., Obolewski K., Grzybowski M., Kujawa R., Lew S., Grabowska M. Effects of lateral connectivity on zooplankton community structure in floodplain lakes. *Hydrobiologia* 2016. Т. 774. Р. 7–21.
10. Chaparro G., Horvath Z., O'Farrell I., Ptacnik R., Hein T. Plankton metacommunities in floodplain wetlands under contrasting hydrological conditions. *Freshwater Biology*. 2018. Т. 63: Р. 380–391.
11. Lansac-Toha F.A., Bonecker C.C., Velho L.F.M., Simoes N.R., Dias J.D., Alves G.M., Takahashi E.M. Biodiversity of zooplankton communities in the Upper Parana River floodplain: interannual variation from long-term studies. *Revista brasileira de biologia*. 2009. Т. 69. Р. 539–550.

12. Gorski K., Collier K.J., Duggan I.C., Taylor C.M., Hamilton D.P. Connectivity and complexity of floodplain habitats govern zooplankton dynamics in a large temperate river system. *Freshwater Biology*. 2013. Т. 58(7). Р. 1458–1470.
13. Лазарева В.И. Структура и динамика зоопланктона Рыбинского водохранилища. 2010. – 183 с.

ECOTOXICOLOGICAL AND REGULATORY MANAGEMENT OF PRODUCED WATER

Kirit Wadhia^{*†}

*National Oilwell Varco (NOV), Flotta, Stromness,
Orkney, United Kingdom, KW16 3NP*

The discharge of produced water is of concern in view of potential environmental impact. Approach involving mere chemical analysis is no longer considered sufficient. A holistic approach entailing whole effluent toxicity (WET) assessment from an ecotoxicological perspective has been increasingly advocated. Moreover, there is a need to employ a risk-based approach/assessment (RBA).

RBA has been instigated under OSPAR initiative and member countries have put in place appropriate implementation programmes. This presentation provides a comprehensive perspective of the UK RBA process. An insight into the development of the initial trial to the formulation of the current stepwise programme process involving chemical analysis, ecotoxicity testing, modelling and reporting.

Key considerations of the produced water risk management elements are discussed. The aspect of intrinsic toxicity contribution from production chemicals and naturally occurring substances is examined. Essential considerations of the key regulatory criteria and drivers are analysed.

The implication of the findings of the initial phase of the UK risk-based approach (RBA) programme are highlighted and how these impact future sustainable developments.

A definitive evaluation of the global RBA panorama is presented to rationalise top-down and bottom-up strategies conveying the global disparity that exists in the regulatory approach and existing infrastructure to consolidate the way forward.

The predictions are that major oil companies not only will continue with current level of production but will expand their operations that extract and refine fossil fuels.

The realisation is becoming all too apparent that in order to have a stable and safe planet reaching net zero emission is imperative. Whilst renewables are viewed favourable in terms of significant growth area, indubitably the issues and considerations pertaining to safe discharge of produced water remain at the forefront.

The intrinsic elements of importance for evaluation including production chemicals and naturally occurring substances play a key part. Methodology for assessment and inference from a global regulatory perspective lacks definitive approach and the disparity that exists inevitably compounds issues and instils lack of confidence.

Scope for pragmatic and prudent solutions to address pertinent issues will be highlighted.

^{*} *kirit.wadhia@nov.com*

[†] © Wadhia Kirit, 2021

АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ПАТЕНТНОЙ АКТИВНОСТИ РАЗНЫХ СТРАН В ОТНОШЕНИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ МИКРООРГАНИЗМОВ ЗА ПОСЛЕДНИЕ 50 ЛЕТ

И.И. Гайдашева*, А.Л. Ярыгина†‡

*ФГАОУ ВО Сибирский федеральный университет,
Красноярск, Россия*

Экологически безопасной альтернативой химическим пестицидам служат биопрепараты, в т.ч. бактериальные и препараты на основе микромицетов. Основой таких препаратов являются как живые культуры микроорганизма – природного агента, способного эффективно конкурировать с фитопатогенами за питательные вещества и подходящую нишу для колонизации, так и продукты его метаболизма, которые либо находятся в культурной жидкости, либо адсорбированы на нейтральном носителе. Есть плюсы и минусы использования биопрепаратов, которые широко известны в научных кругах занимающихся подобными исследованиями, но до сих пор рынок биологических препаратов достаточно скуден. Нас заинтересовало, как в целом выглядит динамика активности исследователей в данной области.

Поэтому была поставлена цель, с использованием показателей активности научных групп выявить: тенденции развития объекта исследования; исследовать патентную ситуацию в РФ и в ведущих зарубежных странах

В исследовании были использованы данные из следующих баз данных: ФИПС; PATENTS.SU; EAPATIS; ESPACENET; DEPATISnet; INPI.FR; USPTO; IC.GC.CA; J-PLATPAT; KIPRIS; SIPO; PATENTSCOPE; ORBIT; GOOGLE PATENTS; GOOGLE АКАДЕМИЯ; GOOGLE; IEEE Xplore; AEM.ASM.ORG. Данные отбирались в диапазоне 1971-2020 годы в отношении следующих стран: Россия (СССР), США, Испания, Германия, Франция, Австралия, Канада, Китай, Япония. На основании выборки были проанализированы 626 патента из указанных стран. Все полученные результаты были обработаны статистически и для наглядности переведены в графические изображения.

В ходе анализа показано, что наиболее популярными странами выдачи для заявителей/патентообладателей, разрабатывающих бактериальные биопрепараты, являются (рис. 1):

- РФ с учетом авторских свидетельств СССР (RU/SU) – 37,48 % от общего количества опубликованных документов, равного 627;
- КНР (CN) – 23,76 % от общего количества опубликованных документов, равного 627;
- США (US) – 15,63 % от общего количества опубликованных документов, равного 627.

* igaidasheva@sfu-kras.ru

† ayarigina@sfu-kras.ru

‡ © Гайдашева И.И., Ярыгина А.Л., 2021

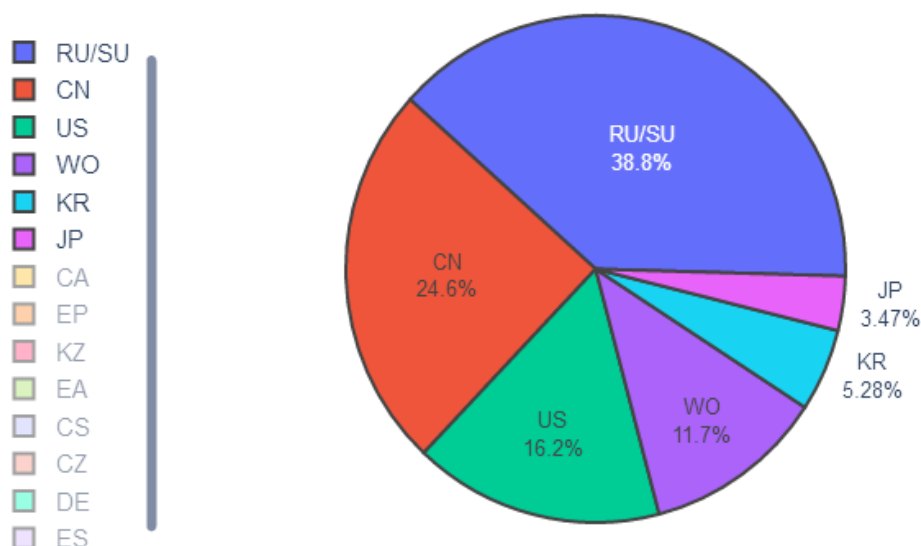


Рис. 1. Патентная активность по странам патентования

Также в качестве сравнительно популярных стран выдачи патента для заявителей/патентообладателей, разрабатывающих бактериальные биопрепараты, служат (с учетом патентных семейств):

- Южная Корея (KR) – 5,10 % от общего количества опубликованных документов, равного 627;
- Япония (JP) – 3,35 % от общего количества опубликованных документов, равного 627.

При этом необходимо отметить, что российские (советские) (RU/SU) и китайские (CN) заявители/патентообладатели, получившие соответствующий национальный охранной документ, крайне редко патентуют разработанный бактериальный биопрепарат за рубежом, тогда как американские (US), южнокорейские (KR) и японские (JP) заявители/патентообладатели стремятся получить правую охрану разработанного бактериального биопрепарата как у себя на родине, так и за рубежом.

Патентная и публикационная активность исследователей разных стран представлена на рисунке 2–4.

Анализ данных с учетом сведений рисунков 2-4 показал, что интерес к публикации статей, касающихся бактериальных биопрепаратов, в непатентных источниках информации не постоянен: интервал плавного роста количества таких публикаций (с 2000г. до 2008г.) сменяется резким пиком в 2009г, затем интервал сравнительно скачкообразного роста количества таких статей (с 2010г. до 2013) сменяется тремя пиками в 2014г, 2016г и 2018г. соответственно и к 2020 году резко снижается. Схожая ситуация, с небольшими смещениями пиков наблюдается и в отношении заявок на патенты. В целом по всем странам наблюдается снижение публикационной и патентной активности к 2020 году.

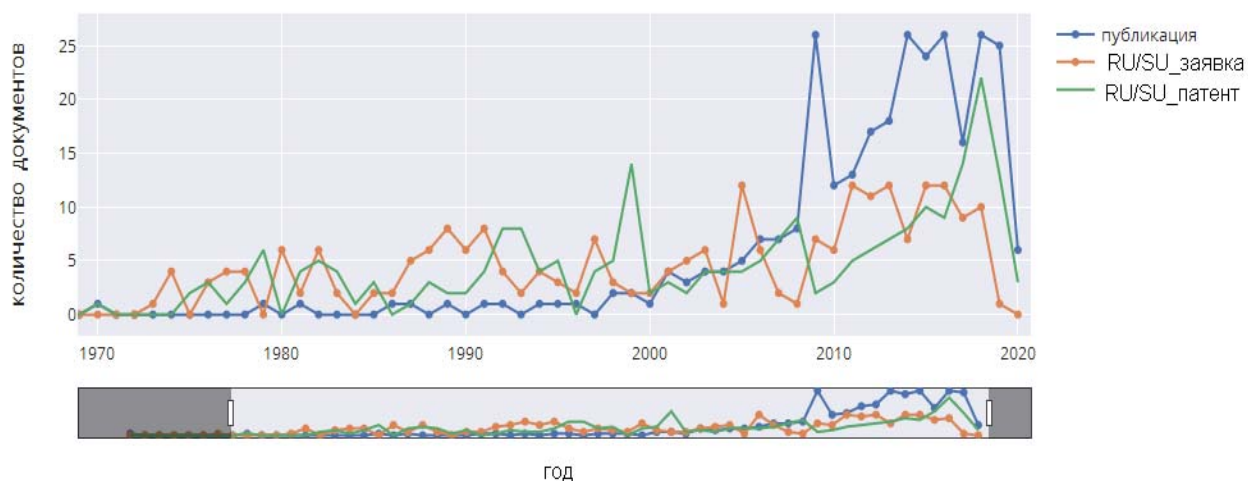


Рис. 2. Динамика патентной активности в СССР/РФ (SU/RU)

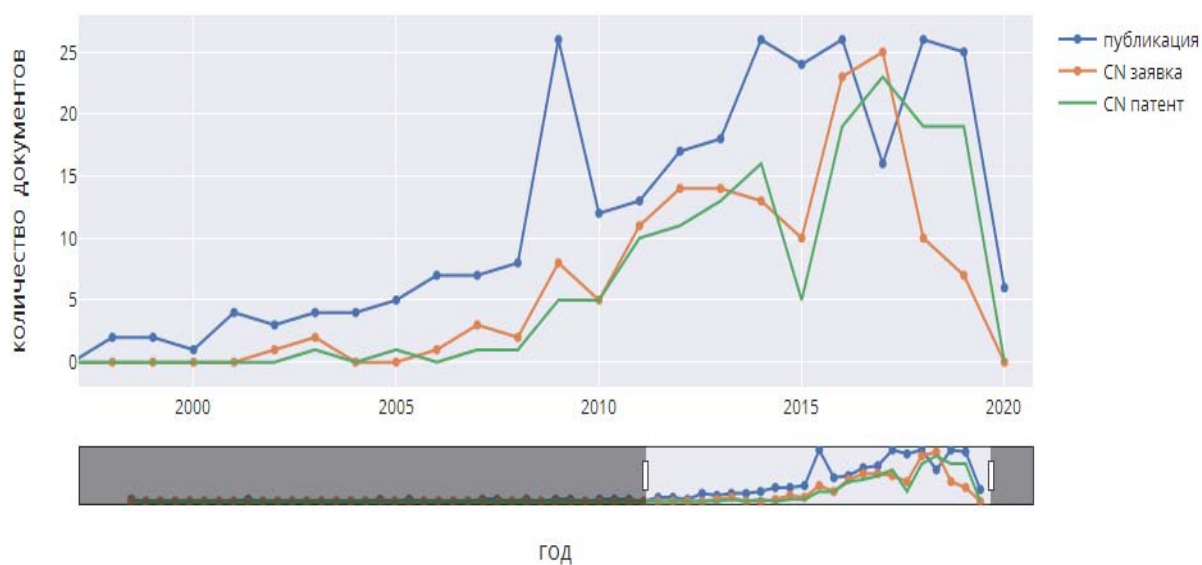


Рис. 3. Динамика патентной активности в КНР (CN)

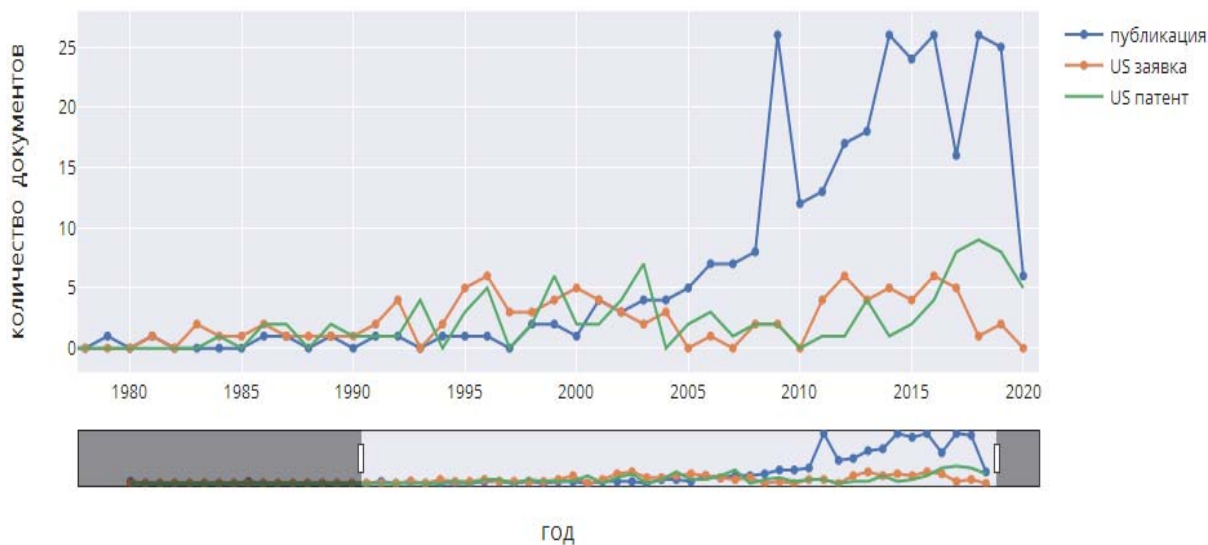


Рис. 4. Динамика патентной активности в США (US)

Можно предположить, что наблюдаемый спад публикационной, заявочной и патентной активностей связан с потерей интереса к получению правовой охраны на уже исследованный бактериальный биопрепарат, с «исчерпанием» какого-либо ранее популярного объекта например определенного рода или вида микроорганизмов. Так же снижение активности может быть по причине длительного поиска нового перспективного направления развития исследуемого объекта, причем любое раскрытие информации на данном этапе может привести к потере конкурентного преимущества и/или в виду длительного временного лага между собственно началом исследования свойств конкретного штамма бактерии до принятия решения запатентовать разработанное новшество в зависимости от результатов таких исследований и других факторов.

Список литературы

1. База данных ФИПС
2. База данных PATENTS.SU
3. База данных EAPATIS
4. База данных ESPACENET
5. База данных DEPATISnet
6. База данных INPI.FR
7. База данных USPTO;
8. База данных IC.GC.CA
9. База данных J-PLATPAT
10. База данных KIPRIS;
11. База данных GOOGLE PATENTS
12. GOOGLE АКАДЕМИЯ

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОРСКИХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ В КАЧЕСТВЕ БИОИНДИКАТОРОВ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

А.В. Гордеева^{1*}, А.Е. Козлов^{2†}

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН,
Ленинский пр-т, д.33, стр.2, 119071, г.Москва

²Институт радиобиологии НАН Беларуси,
ул. Федюнинского, д. 4, 246007, г. Гомель,

Показано, что эволюционно-примитивные морские беспозвоночные, такие как губки *Hymeniacidon perleве* [1] и *Sycon* sp. [2], а также актинии *Aiptasia pulchella* [3], в том числе растущие в тепловодных морских аквариумах как "сорные" животные [4], могут быть успешно использованы для мониторинга наличия токсических веществ в окружающей среде путём измерения их спонтанной и усиленной люминолом хемилюминесценции [4]. Исследована продукция ими активных форм кислорода (АФК) в норме и под влиянием различных токсикантов [4]. Планируется произвести поиск и очистку АФК-продуцирующих ферментов, НАДФН-оксидазы (NADPH-oxidase (Nox)) и двойной оксидазы (dual oxidase (DUOX)) [5], у губок *Sycon* sp. Планируется также изучить особенности их молекулярной структуры именно у этих животных и исследовать влияние слабых магнитных полей [6] на работу этих ферментов. Представляется также крайне важным исследование особенностей молекулярной структуры АФК-продуцирующих ферментов вымирающих коралловых полипов [7] на примере одиночного их представителя, "сорной" актинии *Aiptasia pulchella* [8], произрастающей в морских аквариумах в избытке.

Список литературы

1. R.U. Akpiri, R.S. Konya, N.J. Hodges. Development of cultures of the marine sponge *Hymeniacidon perleве* for genotoxicity assessment using the alkaline comet assay. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2017, 36(12):3314-3323.
2. A.V. Peskin, Y.A. Labas, A.N. Tikhonov. Superoxide radical production by sponges *Sycon* sp. *FEBS Lett.*, 1998, 434(1-2):201-4.
3. P.L. Howe, A.J. Reichelt-Brushett, M.W. Clark. *Aiptasia pulchella*: a tropical cnidarian representative for laboratory ecotoxicological research, *Environ. Toxicol. Chem.*, 2012, 31(11):2653-62.
4. А.В. Гордеева, Л.Г. Наглер, Ю.А. Лабас. Генерация активных форм кислорода морскими беспозвоночными: механизмы и возможная биологическая роль. *Журн. эвол. физиол. биохим.*, 2006, 42(3):201-207
5. Ю.А. Лабас, А. В. Гордеева, Ю. И. Дерябина, А. Н. Дерябин, Е. П. Исакова. Регуляторная роль активных форм кислорода: от бактерий до человека. *Усп. соврем. биол.*, 2010, 130(4): 323–335.

* cozlov.aleksander@yandex.ru

† © Гордеева А.В., Козлов А.Е., 2021

6. B. Feng, A. Dai, L. Chen, L. Qiu, Y. Fu, W. Sun. NADPH oxidase-produced superoxide mediated a 50-Hz magnetic field-induced epidermal growth factor receptor clustering. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2016, 92(10):596-602.
7. R.D. Gates, G.Baghdasarian, L. Muscatine. Temperature Stress Causes Host Cell Detachment in Symbiotic Cnidarians: Implications for Coral Bleaching, *Biol. Bull.*, 1992, 182(3):324-332.
8. S.J. Sawyer, L. Muscatine. Cellular mechanisms underlying temperature-induced bleaching in the tropical sea anemone *Aiptasia pulchella*. *J. Exp. Biol.*, 2001, 204(Pt 20):3443-56.

MICROBIAL BIOINDICATORS OF POLYMETALLIC CONTAMINATION: A METAGENOMIC APPROACH TO SOIL ASSESSMENT IN STEPPE ECOSYSTEMS

**A.V. Gorovtsov^{1*}, K.A. Demin¹, V.V. Zinchenko¹,
S.N. Sushkova¹, T.M. Minkina¹, S.S. Mandzhieva^{1†}**

*¹The Southern Federal University,
Rostov on Don, Russia.*

Steppe ecosystems provide important ecological services, playing essential roles in global biogeochemical cycling and regulation of atmospheric greenhouse gases. Today, the sustainable functioning of the environment is constantly disrupted due to the increasing technogenic load. The soil is one of the most important and vulnerable parts of the environment that has a limited capacity to restore from anthropogenic impact. Soil biotic component, represented mostly by its microbial communities, responds quickly on the disturbances caused by external factors such as heavy metal pollution. Thus, studies of microbial communities in soils of contaminated sites are needed to understand how sensitive and effective microorganisms can be when used for bioindication of soil health and steppe ecosystem restoration. In our study, a metagenomic profiling of soil bacterial communities in 28 soil samples taken from the sludge storage area (South of Russia), which had been subjected to significant technogenic pollution for half a century. Metagenomic analysis of 16S rRNA revealed a high level of biodiversity of soil microbial communities, despite the presence of high concentrations of heavy metals (up to 72,900 mg/kg) and polycyclic aromatic hydrocarbons (up to 6670 mg/kg). During the research, the distribution of most abundant bacterial and archaeal genera in the samples with varying pollution level was studied. Significant correlations between abundance of particular genera and various forms of specific heavy metals were found. The findings support the idea that certain bacteria can be used as bioindicators in the soils with high level of organic and inorganic contamination during steppe ecosystem restoration.

* gorovtsov@gmail.com

† © Gorovtsov A.V., Demin K.A., Zinchenko V.V., Sushkova S.N., Minkina T.M., Mandzhieva S.S., 2021

ТЕМПЕРАТУРНЫЕ КАРТЫ ДЛЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ

А.А. Гостева^{1,2}, А.К. Матузко^{1*}, О.Э. Якубайлик^{1,2†}

¹*Институт вычислительного моделирования СО РАН*

²*Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр
Сибирского отделения Российской академии наук*

Городская среда – это совокупность антропогенных, природно-антропогенных и природных объектов. Развитие города приводит к ухудшению экологической ситуации. Причиной возникновения экологических проблем городской среды являются: территориальный рост городов, увеличение числа агломераций, появление огромных урбанизированных районов. Источниками загрязнения городской среды являются автомобильный транспорт, промышленные предприятия, теплоэнергетические комплексы [1].

По той причине, что повышение температуры в городе является одним из признаков ухудшения экологической ситуации, существует необходимость наблюдения за ее изменениями. Важными показателями являются данные как о температуре воздуха, так и о температуре земной поверхности. Эти данные могут быть получены как контактными методами, так и дистанционными. Источником данных, рассматриваемых в работе о температуре земной поверхности, служат спутниковые снимки Landsat-8, а информация о температуре воздуха получена от системы мониторинга воздуха Федеральном исследовательском центре «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН).

Для расчета температуры земной поверхности используются данные Landsat 8. Самостоятельный расчет можно производить по данным Landsat 8 Collection 2 level-1, используя данные 10 канала (дальний инфракрасный диапазон 10,30 – 11,30 мкм) [2]. Продукты Landsat 8 Level-2 генерируются из входных данных Collection 2 Level-1, которые соответствуют ограничению солнечного зенитного угла <76 градусов и включают необходимые входные вспомогательные данные. Продукты Landsat Collection 2 последовательно обрабатываются в соответствии с высочайшими научными стандартами и уровнем обработки, необходимым для непосредственного использования при мониторинге и оценке изменений ландшафта, что позволяет достигать достаточно точных результатов при использовании температуры земной поверхности.

Температурные карты позволяет проводить комплексную оценку экологии города, в том числе находить тепловые аномалии, которые создают локальные повышения температуры [3].

Особенности тепловых аномалий земной поверхности и воздуха характеризуются урбанизированностью территории и географическими особенностями

* akmatuzko@icm.krasn.ru

† © Гостева А.А., Матузко А.К., Якубайлик О.Э., 2021

ми города Красноярска. Изучение тепловых аномалий территории по комплексным температурным картам повышает качество мониторинга городской среды и позволяет принимать качественные решения по дальнейшему принятию мер для поддержания экологии на территории.

Список литературы

1. Хомич В.А. Экология городской среды: Учеб. пособие для вузов. – Омск: Изд-во Си-БАДИ, 2002. – 267 с.
2. Herbert J. Kramer Landsat-8 / LDCM (Landsat Data Continuity Mission) [Электронный ресурс] / Satellite Missions Database – 2002. – Режим доступа: <https://directory.eoportal.org>
3. Самсонов Т.Е., Тригуб К.С., Картографирование локальных климатических зон Москвы по космическим снимкам / Геодезия и картография. – 2018. – Т. 79. – № 6. – С. 14-25.

AUTOMATIZATION OF IMPACT MONITORING DATA REPORTING ACCORDING TO THE NEC DIRECTIVE

S. Grebenyuk^{*†}

*German Environment Agency (UBA),
Dessau-Roßlau, Germany*

The National Emission Ceilings (NEC) Directive of the European Union (EU) on maximum emissions for certain air pollutants prescribes in Article 9 the implementation of an impact monitoring for the monitoring of eutrophication, acidification and ozone damage to vegetation in aquatic and terrestrial ecosystems for all member states. In this way, the effectiveness of the reduction of national emissions is to be verified. [1] In Germany the Federal Environment Agency (UBA) was authorized as the reporting authority.

Impact monitoring is based on various data streams. UBA reports (= export) every four years to the European Environment Agency (EEA) and the European Commission (EC). For impact monitoring reporting, data are used that are collected within the framework of already existing monitoring programs, e.g. under the Geneva Clean Air Convention in Germany. These data are transmitted to UBA by the institutions responsible for monitoring (= import) and compiled at UBA. These include two forest environmental monitoring programs coordinated by the Thünen Institute for Forest Ecosystems in Eberswalde, as well as UBA's internal provision of data derived from an acidification monitoring program for water bodies and an integrated monitoring program for terrestrial ecosystems. These data include metadata, e.g., coordinates or an ecosystem classification, descriptive parameters, e.g., vegetation or soil type, and a wide range of analytical and monitoring data from different media.

To avoid transmission errors and to accelerate and simplify this process, automation is necessary. The goal of this project is the programming of a data system, based on an *SQLite* data base and the programming language *R*, which should enable the data import, the internal data management and the data export.

In addition, the data system to be developed should enable linkage with models for calculating the critical ozone load for vegetation (POD, phytotoxic ozone dose). [2]

References

1. Directive, E. U. "Directive (EU) 2016/2284 of the European Parliament and of the Council of 14 December 2016 on the reduction of national emissions of certain atmospheric pollutants, amending Directive 2003/35/EC and repealing Directive 2001/81." *Official Journal of the European Union: Brussels, Belgium* (2016).
2. Grünhage, L., et al. "Beurteilungswerte für Ozon zum Schutz der Vegetation." *A A 1* (2011): 2.

^{*} sergi.grebenyuk@uba.de

[†] © Grebenyuk S., 2021

THE INFLUENCE OF OXIDATION ON THE MICROSTRUCTURE AND ECOTOXICITY OF MODIFIED MAGNETITE NANOPARTICLES

**A.A. Dzeranov¹, L.S. Bondarenko^{1*}, D.A. Pankratov²,
V.A. Terekhova², G.I. Dzharzhimalieva³, K.A. Kydralieva^{1†}**

¹*Moscow Aviation Institute (National Research University),
Moscow, Russia*

²*Lomonosov Moscow State University,
1-12 Leninskie Gory, Moscow, Russia*

³*Institute for Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences,
Chernogolovka, Moscow Region, Russia*

The synthesis and study of the properties of magnetite Fe_3O_4 nanoparticles (MNPs) is currently an intensively developing area due to the possibility of their use in various fields for magnetic separation of universal technical media, for hyperthermia, in magnetic resonance imaging, for targeted drug delivery, etc. [1]. However, MNPs require an additional protective shell on the surface, preventing aggregation, oxidation, and sedimentation. At the same time, when obtaining new data on the microstructure and bioactivity of nanoparticles, the issues of predicting the properties of the nanoparticles for their further application in various media remain unclear. Thus, the change in the phase composition of iron nanoparticles under changing environmental conditions (pH, O_2 , UV radiation, etc.) is not taken into account. Schwaminger et al. [3] simulated the oxidation process of magnetite NPs in harsh and mild oxidation conditions and showed that in 24 h not only harsh conditions, but also mild conditions led to complete phase transformation of magnetite (Fe_3O_4) to maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). In turn, a change in the phase state will lead to a change in biological responses, since surface characteristics stands out as one of the most important, if not the main, determinants of biological performance, as the NP surface is the most prominent and earliest point of exposure [4].

To prevent aggregation and oxidation during formulation and further application, two types of ligands were used as a protective shell: humic acids (HA), nature anionic polyelectrolyte, and silane as 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES) as a cationic ligand. The objects of this study were magnetite-based NPs modified with various compounds – humic acids ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$) and alkoxysilane – 3-aminopropyltriethoxysilane ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{APTES}$).

Harsh oxidation conditions were simulated in order to assess the stability of the nanoparticles' microstructure to oxidative stress. Harsh oxidation conditions were simulated by storage in to nitric acid (HNO_3) at 25 °C for 24 hours. To study the influence of methods of X-ray diffractometry and mössbauer spectroscopy were used. Toxicity of NPs before and after oxidation was estimated in relation to higher plants

* l.s.bondarenko92@gmail.com

† © Dzeranov A.A., Bondarenko L.S., Pankratov D.A., Terekhova V.A., Dzharzhimalieva G.I., Kydralieva K.A., 2021

Sinapis alba and infusoria *Paramecium caudatum*. As Fe-ions may be shed from MNPs and these ions are far more toxic than MNPs, their toxic effects were studied in parallel. To study the nature of the toxicity of nanoparticles after oxidation, the bioactivity of ions Fe^{2+} , Fe^{3+} and mixture was studied in relation to higher plants *S. alba* and infusoria *P. caudatum*. The inhibitory effect of tested compounds/dilutions compared to the control was calculated as a percentage (%). From dose-response curves, the EC50 values (mg/L or mg Fe/L, depending on the compound) were calculated using the probit method (IBM SPSS Statistica 17.0) and expressed as an average value $\pm$ standard deviation (SD) (inter-group statistical significance was fixed at $p \leq 0.05$).

The method of X-ray diffraction analysis makes it possible to identify the crystal structure of a substance, as well as to distinguish between the phases of magnetite and maghemite [2]. The diffractograms of the modified nanoparticles were fitted using the five most popular models: Gauss, Lorentz, Voigt, Pseudo-Voigt, and PearsonVII in OriginPro 9.1. It was shown that the percentage of stoichiometric magnetite decreased in the series:

- for magnetite nanoparticles modified with HA: 78.8 % for Fe_3O_4 , 77.1 % for $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$, 0 % for $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ (ox) (figure 1). The Fe_3O_4 content in the $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ harsh oxidation sample was almost halved, assumingly due to the oxidation of magnetite NPs during storage in HNO_3 . The latter shows that HA were not forming a strong protective shell to the core interacting mainly via Coulombic attraction and hydrogen bonds.

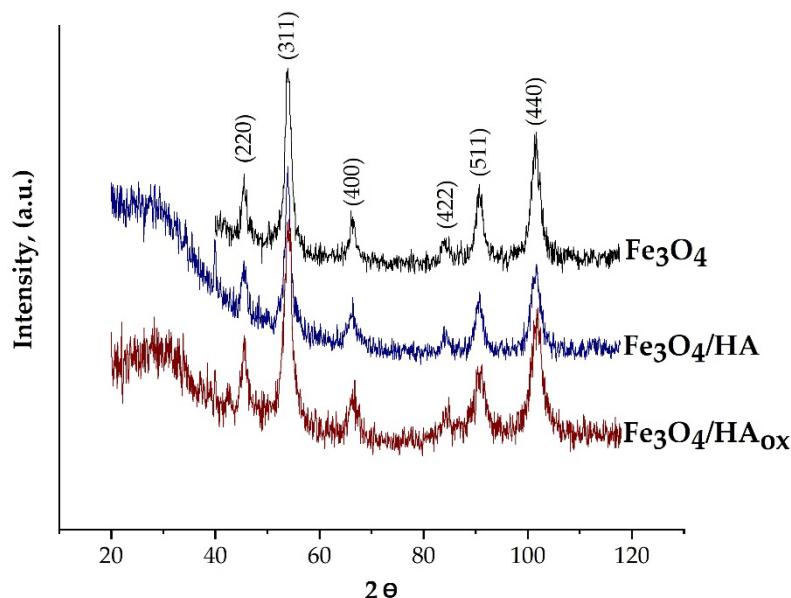


Fig. 1. XRD patterns of synthesized Fe_3O_4 nanoparticles. HA-humic acids. [6]

- for magnetite nanoparticles modified with APTES: 78.8 % for Fe_3O_4 , 75.8 % for $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{APTES}$ [5], 39.41 % for $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{APTES}$ (ox). Compared to humic acids, APTES forms strong covalent bonds with magnetite nanoparticles. However, incom-

plete polymerization, probably, leads to the oxidation of magnetite nanoparticles after storage in nitric acid.

According to Mössbauer spectroscopy data, the isomeric shifts of the $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{APTES}$ (ox) spectra obtained at room temperature show that all iron atoms were oxidized to the oxidation state (+3). The isomeric shift, quadrupole shift, and magnetic splitting of the spectra of the $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ (ox) samples also show the presence of maghemite. Thus, the data of Mössbauer spectroscopy correlate with the data of X-ray phase analysis and indicate an insufficient stabilizing ability of humic acids and APTES.

Bare MNPs and $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{APTES}$ proved not toxic to plants (96 h $\text{EC}_{50} > 3300$ mg/L) but the addition of HA and harsh oxidation increased their inhibitory effect (96 h $\text{EC}_{50} = 330$ mg/L). Nevertheless, all these formulations could be ranked as ‘not harmful’ to *S. alba* (i.e., 96 h $\text{EC}_{50} > 100$ mg/L).

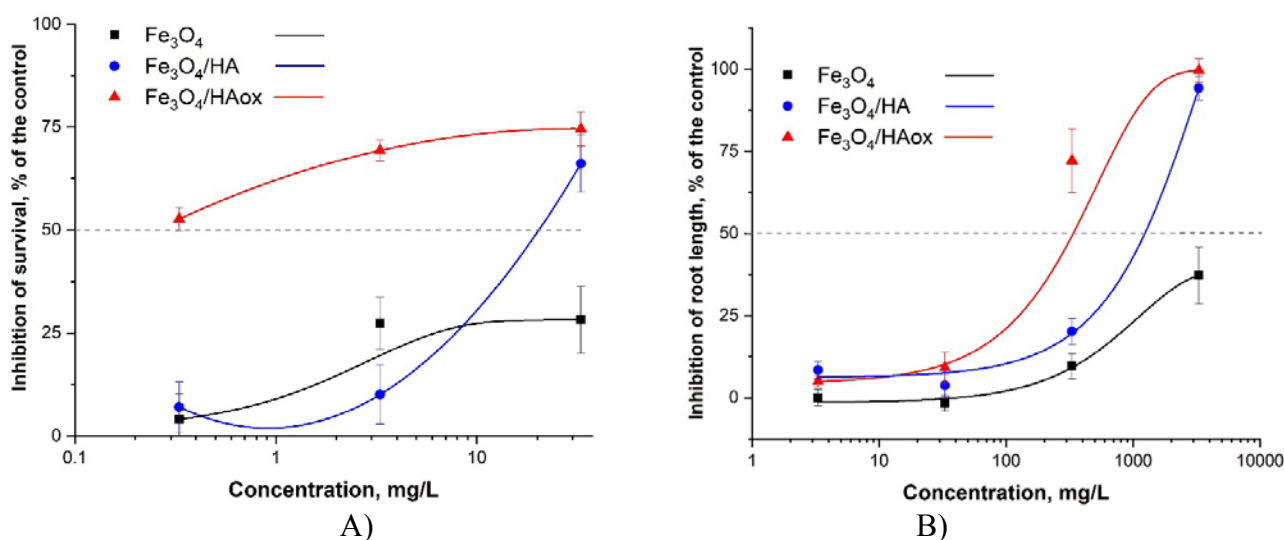


Figure 2. Dose–effect relationships of aqueous suspensions of Fe_3O_4 NPs (MNPs) and MNP-HA complexes before and after harsh oxidation in (A) ciliates *Paramecium caudatum* 24 h immobilization test and (B) higher plants *Sinapis alba* 96 h root growth inhibition test: a dose-effect study. All concentrations are nominal. HA–humic acids. Average values $\pm$ SD of triplicates [6]

Behaviors of Fe_3O_4 and iron ions (Fe^{2+} and Fe^{3+}) were investigated in the aspects of their toxicity to *S. alba* and *P. caudatum*. In general, MNPs and Fe-ions were remarkably more inhibitory to ciliates *P. caudatum* than to plants *S. alba*. The MNPs had no remarkable inhibitory effects to plants *S. alba* even after harsh oxidation (96 h $\text{EC}_{50} \sim 300$ mg/L). However, Fe-ions were toxic to *S. alba* (EC_{50} 25–60 mg/L) [6].

Thus, the effect of HNO_3 as a model of extremal conditions of MNPS application on magnetite nanoparticles modified with humic acids and APTES leads to the destruction of the protective shell, the oxidation of Fe_3O_4 to Fe_2O_3 , and an increase in toxicity towards *P. caudatum* as a consequence, probably, of the release of more toxic ions Fe^{2+} , Fe^{3+} .

This research was funded by the Russian Foundation for Basic Research (№ 19-33-90149, № 20-54-26012).

Reference

1. Amstad E. Surface functionalization of single superparamagnetic iron oxide nanoparticles for targeted magnetic resonance imaging / E. Amstad, S. Zurcher, A. Mashaghi // *Small*. – 2009. – № 11. – 1334-1342 p.
2. Gorski C.A., Scherer M.M. Determination of nanoparticulate magnetite stoichiometry by Mössbauer spectroscopy, acidic dissolution, and powder X-ray diffraction: A critical review *Am. Mineral. GeoScienceWorld*, 2010, No7, P. 1017–1026.
3. Schwaminger S.P. Oxidation of magnetite nanoparticles: impact on surface and crystal properties / S. P. Schwaminger, D. Bauer, P. Fraga-García, F. E. Wagner, S. Berensmeier // *CrystEngComm* – 2017. – T. 19 – № 2 – 246–255c.
4. Saei A. A., Yazdani M., Lohse S. E. et al. Nanoparticle Surface Functionality Dictates Cellular and Systemic Toxicity. *American Chemical Society*, 2017, No 3, P.183-198
5. Bondarenko, L.; Illés, E.; Tombácz, E.; Dzhardimalieva, G.; Golubeva, N.; Tushavina, O.; Adachi, Y.; Kydralieva, K. Fabrication, Microstructure and Colloidal Stability of Humic Acids Loaded Fe₃O₄/APTES Nanosorbents for Environmental Applications. *Nanomaterials*, 2021 -V. 11, No 6. – P. 1418. DOI: 10.3390/nano11061418
6. Bondarenko L., Kahru A., Terekhova V., Dzhardimalieva G., Uchanov P., Kydralieva K. Effects of Humic Acids on the Ecotoxicity of Fe₃O₄ Nanoparticles and Fe-Ions: Impact of Oxidation and Aging. *Nanomaterials*, 2020 – V. 10. No. 10. – P 1-18. DOI: 10.3390/nano10102011

МЕТОДЫ И ТЕХНОЛОГИИ ГЕОИНФОРМАЦИОННОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ РЕГИОНАЛЬНЫХ ЭКОСИСТЕМ НА ОСНОВЕ БАССЕЙНОВОГО ПОДХОДА

М.Г. Ерунова^{1*}, О.Э. Якубайлик^{2†‡}

¹ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия

²ИВМ СО РАН,
Красноярск, Россия

Бассейновый подход активно используется в экологических, природно-ресурсных, физико-географических, агроэкологических, ландшафтно-климатических, и др. исследованиях [1-4]. Бассейн представляет собой целостную геосистему с определенным набором природных характеристик. Оценка состояния уникальных природных характеристик для каждого бассейна и выявление взаимосвязей между ними – это комплексная задача, которая требует применения различных методов и технологий геоинформационного моделирования с использованием многообразных наземных и спутниковых данных. Это огромный набор атрибутов включает характеристики рельефа в бассейнах, морфометрические характеристики рельефа, климатические показатели, тип почв и почвообразующих пород, растительный покров, антропогенная нагрузка и т.д. Для хранения и обработки этих данных эффективно использовать методы ГИС и веб-технологии.

Задачей исследования стала разработка информационного обеспечения на основе бассейнового подхода для задач оценки состояния экосистем с использованием методов и технологий геоинформационного моделирования.

В качестве элементарной территориальной единицы выступают минимальные водосборные бассейны со средней площадью около 1 га. Для каждого бассейна средствами геоинформационного моделирования формируется набор атрибутов уникальных природных характеристик, которые получены на основе наземных и спутниковых исследований, а также климатических данных реанализа. Такой набор атрибутов позволяет проводить оценку состояния территории используя различные методы математического моделирования, статистического и кластерного анализа.

Исследования проводились на примере «пилотной» территории четырех водосборных бассейнов в Восточной Сибири. Это бассейны рек Красноярского края – Кан, Мана, Туба и Оя – общей площадью около 1 млн. га, расположенные в пределах 91°-97° в.д. и 52°-56° с.ш.

Бассейновое моделирование территории проводилось на основе гидрологически корректной цифровой модели рельефа MERIT DEM Hydro (простран-

* marina@icm.krasn.ru

† oleg@icm.krasn.ru

‡ © Ерунова М.Г., Якубайлик О.Э., 2021

ственное разрешение около 70 м). На сегодняшний день эта модель является одной из лучших для Красноярского края, так как она содержит детальные данные для территории севернее 60° с.ш., и в ней наименьшее количество ошибок точности по высоте [5].

Для исследуемой территории была создана четырехуровневая иерархическая система водосборных бассейнов с учетом гидрографической сети разных масштабов. Получено 1105 бассейнов 4-го уровня, в том числе для р. Кан – 479 бассейнов 4-го уровня водосборного деления, Мана – 94 бассейна, Туба – 483 и Оя – 49 [6].

Для каждого водосборного бассейна был вычислен набор атрибутов. В том числе – данные по температуре, вегетационным индексам, растительному покрову – на основе спутниковой информации Terra/MODIS [7-9].

По данным реанализа NASA GPM и NCEP GFS для всех элементарных водосборных бассейнов были сформированы данные по накопленным осадкам и ряду других характеристик за период 2001–2019 г.

Почвенный покров создавался по цифровым данным Единого государственного реестра почвенных ресурсов (ЕГРПР), это почвенная карта РСФСР (1988) масштаба 1:2 500 000 под редакцией В.М. Фридланда [10]. Для каждого бассейна была добавлена информация о преобладающем типе почв.

На основе перечисленной информации был создан ряд производных характеристик.

Был выполнен анализ сезонной динамики температуры поверхности исследуемой территории, получены статистические распределения изменения температуры поверхности в течение года для каждого водораздела. Посчитана сумма активных температур воздуха выше 10 °С.

Были получены статистические значения и среднегодовые характеристики трендов изменения вегетационных индексов NDVI, SAVI и LAI для каждого водораздела. Накопленная статистика позволяет выполнять количественную оценку развития сельскохозяйственных культур на рассматриваемой территории.

Сформированный набор природных характеристик-атрибутов позволил провести кластерный анализ по выявлению однородных участков по данным годового температурного хода. Было выявлено, что нелинейная кластеризация методом эластичных карт надежно выявляет кластеры, объединяющие небольшие водные бассейны в группы со схожими географическими, климатическими и ландшафтными свойствами.

Разработана детальная многоуровневая иерархическая система водосборного деления территории Красноярского края. Созданная геоинформационная модель является инструментом для обеспечения задач оценки состояния региональных экосистем на основе ландшафтно-бассейнового подхода. Разработаны необходимые методы и технологии по созданию, хранению и обработке данных о каждом водоразделе. Методы многомерного анализа данных позволяют выявлять закономерности распределения данных, определять взаимосвязи между ними.

Список литературы

1. Трифонова Т.А., Мищенко Н.В., Селиванова Н.В., Чеснокова С.М., Репкин Р.В. Бассейновый подход в экологических исследованиях. –Владимир: ООО «ВладимирПолиграф». 2009. –80с.
2. Бураков Д. А. Ландшафтно-гидрологическое районирование в моделях прогноза речного стока (на примере бассейна Верхней Оби) / Д. А. Бураков, Н. В. Горошко. Тр. 4-й Всероссийской научно-практич. Интернет-конф. «Географическая наука, туризм и образование: современные проблемы и перспективы развития» (01–27 апреля 2015 г.). – Новосибирск, 2015. – С. 14–17.
3. Akhtar, F., Awan, U.K., Tischbein, B., Liaqat, U.W., 2017. Aphenology based geo-informatics approach to map land use and land cover (2003–2013) by spatial segregation of large heterogenic river basins. *Applied Geography* 88, 48 – 61.
4. Guo, K., Zhang, X., Kuai, X., Wu, Z., Chen, Y., Liu, Y., 2020. A spatial bayesian-network approach as a decision-making tool for ecological-risk prevention in land ecosystems. *Ecological Modelling* 419, 108929.
5. Yamazaki, D., Ikeshima, D., Sosa, J., Bates, P. D., Allen, G. H., & Pavelsky, T. (2019). MERIT Hydro: A high-resolution global hydrography map based on latest topography datasets. *Water Resources Research*, 55, 5053– 5073.
6. Erunova, M., Yakubailik, O., 2020. Zoning of the territory on the basis of morphometric analysis of basin geosystems, in: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, IOP Publishing. p. 062039.
7. MODIS Land-Surface Temperature Algorithm Theoretical Basis Document (LST ATBD) Version 3.3 Электронный ресурс: https://modis.gsfc.nasa.gov/data/atbd/atbd_mod11.pdf (Дата обращения 07.07.2021).
8. MODIS BRDF/Albedo roduct: Algorithm Theoretical Basis Document Version5.0 Электронный ресурс: https://modis.gsfc.nasa.gov/data/atbd/atbd_mod09.pdf (Дата обращения 07.07.2021)
9. Барталев С.А., Егоров В.А., Жарко В.О., Лупян Е.А., Плотников Д.Е., Хвостиков С.А., Шабанов Н.В. Спутниковое картографирование растительного покрова России. – М.: ИКИ РАН, 2016. – 208 с.
10. Почвенная карта РСФСР. Масштаб 1 : 2.5 млн. / Под ред. В.М. Фридланда. М.: ГУГК, 1988.

ВЛИЯНИЕ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ УГЛЕВОДОРОДОВ

Г.О. Жданова¹, Н.С. Кудряшова⁵, М.М. Гельман^{1,2},
А.Э. Балаян¹, А.Д. Стом^{1*}, А.Б. Купчинский²,
М.Ю. Толстой³, Е. М. Колосова⁵, Д.И. Стом^{1,2,3†}

¹Иркутский государственный университет,
Иркутск, Россия

²Байкальский Музей Иркутского научного центра,
Листвянка, Россия

³Иркутский национальный исследовательский технический университет,
Иркутск, Россия

⁴Сургутский государственный университет,
Сургут, Россия

Поверхностно-активные вещества (ПАВ) широко используются во многих сферах деятельности человека. В частности, все шире применяют ПАВ в ремедиации нефтезагрязненных сред [1-4]. Применение ПАВ в процессах удаления нефтезагрязнений и других гидрофобных поллютантов определяет возможность присутствия ПАВ в очищаемых почвах, наряду с нефтепродуктами. Благодаря талым и дождевым водам оба этих компонента попадают и в водоемы. Однако биологические эффекты, которые могут быть вызваны совместным присутствием этих соединений, изучены крайне слабо. В связи с этим целью данной работы явилось исследование токсичности некоторых ПАВ (неионогенный твин-80, анионоактивный додецилсульфат натрия и катионоактивный цетилтриметиламмония бромид) для водных олигохет *Mesenchytraeus bungei*, почвенных червей *E. fetida andrei* при индивидуальном воздействии и в смесях с нефтью.

При работе с *E. fetida* тест-откликом служила поведенческая реакция выбора или избегания червями субстрата. Червей разводили в лаборатории в ящиках при температуре 20 – 25 °С и влажности 80 – 85 %. В опытах использовали половозрелых, имеющих поясковую зону червей длиной 8 – 10 см. Прямоугольную емкость (деревянную или пластиковую) разделяли на 2 отсека при помощи перегородки, высота которой была в 1,5-2 раза ниже, чем высота бортиков емкости. Эти отсеки заполняли испытуемыми образцами (в равных объемах): 1 – контроль (увлажненный песок); 2 – опыт (увлажненный песок + загрязнитель). В каждый из отсеков помещали по 10 особей *E. fetida andrei*. Через 4 ч с момента начала эксперимента подсчитывали количество особей червей в каждом из отсеков. Токсичность испытуемого образца по отношению к поведенческой реакции червей вычисляли по формуле:

* stomd@mail.ru

† © Жданова Г.О., Кудряшова Н.С., Гельман М.М., Балаян А.Э., Стом А.Д., Купчинский А.Б., Толстой М.Ю., Колосова Е. М., Стом Д.И., 2021

$$T = \frac{K - O}{K} \times 100 \%$$

где Т – токсичность (%); К – исходное количество червей, помещенных в один отсек (10 особей) в начале эксперимента; О – количество червей, обнаруженных в опытном отсеке на момент снятия результатов эксперимента. Значения токсичности, рассчитанные указанным способом, отражают как ингибирующий (положительное значение показателя Т), так и стимулирующий (отрицательное значение показателя Т) эффекты испытуемых образцов на червей *E. fetida andrei* Bouche, 1972.

Оценку токсичности поллютантов для водных олигохет *Mesenchytraeus bungei* Michaelsen, 1901 проводили по их выживаемости в растворах и эмульсиях токсикантов в соответствии с [5].

Исследуемыми ПАВ в работе являлись твин 80 (Tween-80, полисорбат 80, $C_{64}H_{126}O_{124}$), цетилтриметиламмония бромид (СТАВ, $C_{19}H_{42}BrN$) и натрия лаурилсульфат (натрия додецилсульфат ДСН, SLS, $C_{12}H_{25}SO_4Na$) [6]. В качестве углеводородов брали нефть Марковского месторождения Иркутской области, дизельное топливо (зимний сорт).

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Microsoft Office. Эксперименты проводили в 5 независимых экспериментах, по 3 повторности в каждом опыте. Выводы сделаны при вероятности безошибочного прогноза $P \geq 0,95$.

Влияние ПАВ на биологические эффекты УВ по отношению к *Mesenchytraeus bungei* Michaelsen, 1901

В условиях наших экспериментов подобраны концентрации эмульсий нефти и растворов твина-80, не вызывающие видимого негативного влияния на байкальские олигохеты *M. bungei* в течение 4 сут. Вместе с тем показано проявление токсического эффекта в смесях нефти и неионогенного ПАВ в концентрациях, при которых действие этих индивидуальных веществ было безвредным по отношению к олигохетам. При этом негативный эффект усиливался при повышении в смесях концентрации как детергента, так и нефти. Среди возможных объяснений наиболее вероятно, что усиление токсичности связано с повышением биодоступности углеводородов нефти под действием ПАВ, благодаря увеличению растворимости (солюбилизации) углеводородов в присутствии твина-80 [Stom et al., 2008]. Но причиной наблюдаемых эффектов могло быть и ослабление барьерных свойств биомембран под действием твина-80, и, как следствие, облегчение поступления нефти.

Значительных отличий в эффектах индивидуального действия ДСН (0,001; 0,003; 0,006; 0,0125; 0,025; 0,05 мМ), ЦТАБ (0,0001; 0,001; 0,0025; 0,005; 0,01 и 0,1 мМ) и комбинированного действия их смесей с углеводородами (нефть, диз. топливо в концентрациях 10, 25 и 50 мл/л) не наблюдали.

Влияние ПАВ на биологические эффекты УВ по отношению к *E. fetida andrei* Bouche, 1972

Проведенные эксперименты показали усиление токсического эффекта смеси твин-80 и дизельное топливо, по сравнению с индивидуальным действием этих соединений.

Так, токсичность почвенной пробы, загрязненной твином-80 в концентрации 10 мл/кг, составляла в 4-часовом эксперименте порядка 20 ± 9 %. Дизельное топливо в концентрации 30 мл/кг подавляло поведенческую реакцию на 52 ± 5 %. Одновременное внесение этих соединений в указанных концентрациях в почвенные образцы приводило к повышению их токсичности до 68 ± 4 % на 4 ч эксперимента.

Схожая ситуация была зафиксирована при повышении концентрации твина-80 в опыте до 20 мл/кг и уменьшении дозы дизельного топлива до 10 мл/кг. Твин-80 подавлял поведенческую реакцию *E. fetida andrei* в 4-часовом эксперименте на 33 ± 9 %. Дизельное топливо при содержании 10 мл/кг не оказывало токсического действия на червей. Почвенные образцы, загрязненные смесью твина-80 (20 мл/кг) и дизельного топлива (10 мл/кг), проявляли токсичность, равную 57 ± 6 %.

Токсичность почвенных образцов, загрязненных смесью твина-80 и нефти, была ниже, чем при внесении этих веществ по отдельности, а токсичность смесей СТАВ с нефтью была на уровне этого показателя в присутствии ПАВ и УВ по-отдельности.

Таким образом, показано усиление токсического действия для водных олигохет углеводородов (нефти и дизельного топлива) в присутствии твина. ДСН и СТАВ схожими эффектами не обладали – токсичность их смесей с углеводородами была на уровне индивидуальных эффектов.

По отношению к почвенным олигохетам показано усиление токсичности дизельного топлива и ослабление токсичности нефти в присутствии твина-80. Токсичность смесей СТАВ с нефтью была на уровне этого показателя в присутствии ПАВ и УВ по-отдельности.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 19-29-05213 мк «Механизмы комплексного взаимодействия почв с нефтью, нефтепродуктами и поверхностно-активными веществами в процессах нефтезагрязнения и биоремедиации».

Список литературы

1. Trellu C., Mousset E., Pechaud Y., Huguenot D., van Hullebusch E. D., Esposito G., Oturan M. A. Removal of hydrophobic organic pollutants from soil washing/flushing solutions: A critical review. J. Hazard. Mater. 2016. 306. P. 149–174.
2. Gao Y. Z., Ling W. T., Zhu L. Z., Zhao B. W., Zheng Q. S. Surfactant-enhanced phytoremediation of soils contaminated with hydrophobic organic contaminants: Potential and assessment. Pedosphere. 2007. 17(4). P. 409–418.

3. Lu H., Wang W., Li F., Zhu L. Mixed-surfactant-enhanced phytoremediation of PAHs in soil: Bioavailability of PAHs and responses of microbial community structure. *Science of the Total Environment* 2019. 653. P. 658–666.
4. Mao X., Jiang R., Xiao W., Yu J. Use of surfactants for the remediation of contaminated soils: A review. *J. Hazard. Mater.* 2015. 285. С. 419–435.
5. Zyuzina K. D., Gelman M. M., Zhdanova G. O., Kupchinsky A. B., Stom D. I. Toxic effects of Tween-80 and its mixtures with oil on oligochaetes. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 2021. 723 042067 doi:10.1088/1755-1315/723/4/042067
6. Жданова Г. О., Зюзина К. Д., Сергиенко С. Э., Саксонов М. Н., Балаян А. Э., Цыренов В. Ж., Стом Д. И. О влиянии ПАВ на байкальскую олигохету *Mesenchytraeus bungei* Michaelson, 1901. *Известия Иркутского государственного университета. Серия Биология. Экология.* 2021. Т. 35. С. 86–96. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2021.35.86>

СОВМЕЩНОЕ ДЕЙСТВЛЕ ИОНОВ МЕТАЛЛОВ С ПОЛИФЕНОЛАМИ НА ВОДНЫЕ РАСТЕНИЯ

Г.О. Жданова¹, С.Э. Сергиенко^{1,2}, В.О. Суховнина³,
М.Н. Саксонов¹, Б.Н. Баженов¹, М.Ю. Толстой²,
Ю.С. Григорьев⁴, Т. Enkhdul⁵, Д.И. Стом^{1,2,3*†}

¹Иркутский государственный университет,
Иркутск, Россия

²Иркутский национальный исследовательский технический университет,
Иркутск, Россия

³Байкальский Музей Иркутского научного центра,
Листвянка, Россия

⁴Сибирский федеральный университет,
Красноярск, Россия

⁵ National University of Mongolia,
Ulaanbaatar, Mongolia

Фенольные соединения и тяжелые металлы являются одними из приоритетнейших загрязнителей. Имеется много работ, посвященных эффектам этих соединений на организмы. Однако токсическое действие на водные растения фенольных соединений и металлов при их одновременном присутствии изучено недостаточно хорошо. В связи с этим, целью данной работы явилось исследование влияния смесей некоторых фенолов и тяжелых металлов на *Elodea canadensis*.

Растения отбирали в р. Ангара в районе о. Юность. В лабораторных условиях элодею культивировали в аквариумах с отстоянной водопроводной водой при температуре 18 °С. Аэрацию воды в аквариумах осуществляли с помощью микрокомпрессора.

Тест-откликом *E. canadensis* при биотестировании являлся выход электролитов из побегов. Его фиксировали по изменению электропроводности воды, в которую был помещен тест-объект. Для этого в 50 мл испытуемого раствора вносили по 1 г элодеи (сырой вес) и выдерживали в течение 30 мин. Затем элодею вынимали из исследуемого раствора, в проточном режиме промывали дистиллированной водой и помещали в 50 мл дистиллированной воды. В течение 1 ч измеряли электропроводность полученных образцов при помощи кондуктометра Эксперт-002-2-6-п (лабораторный датчик погружного типа). Повышение этого показателя свидетельствовало о выходе ионов из побегов растения.

В работе анализировали влияние на выход электролитов из побегов элодеи меди (II), ртути (II) и двухатомных фенолов – резорцина, гидрохинона. Медь брали в виде CuSO₄, ртуть – HgCl₂, все реагенты были марки хч. Концентрации меди в опытах составляли (в пересчете на ион Cu): 0,0001, 0,001 и 0,01

* stomd@mail.ru

† © Жданова Г.О., Сергиенко С.Э., Суховнина В.О., Саксонов М.Н., Баженов Б.Н., Толстой М.Ю., Григорьев Ю.С., Enkhdul Т., Стом Д.И., 2021

н; ртути – (в пересчете на ион Hg): 2×10^{-4} и 2×10^{-5} н. Резорцин и гидрохинон использовали марки хч. Концентрация резорцина в опытах составляла 1×10^{-1} и 5×10^{-2} М, гидрохинона – 1×10^{-2} и 5×10^{-2} М.

Исследование проводили в пяти независимых экспериментах по три повторности в каждом опыте. Выводы сделаны при вероятности безошибочного прогноза $P \geq 0,95$. Статистическую обработку данных проводили с помощью Excel (пакет программ MS Office 2016).

Эксперименты показали ослабление негативного влияния соли ртути в присутствии резорцина, гидрохинона и пирокатехина. Так, выход электролитов из элодеи, предварительно обработанной ртутью в концентрации 2×10^{-4} н был значительно выше, чем после обработки растения смесью Hg 2×10^{-4} н + резорцин $5 \cdot 10^{-2}$ М. Электропроводность в первом случае повышалась до $48,7 \pm 4,5$ мкСм, а во втором – до $16,8 \pm 0,63$ мкСм (рис. 1а). Схожую картину наблюдали при исследовании эффектов смесей ртути и гидрохинона (рис. 1б).

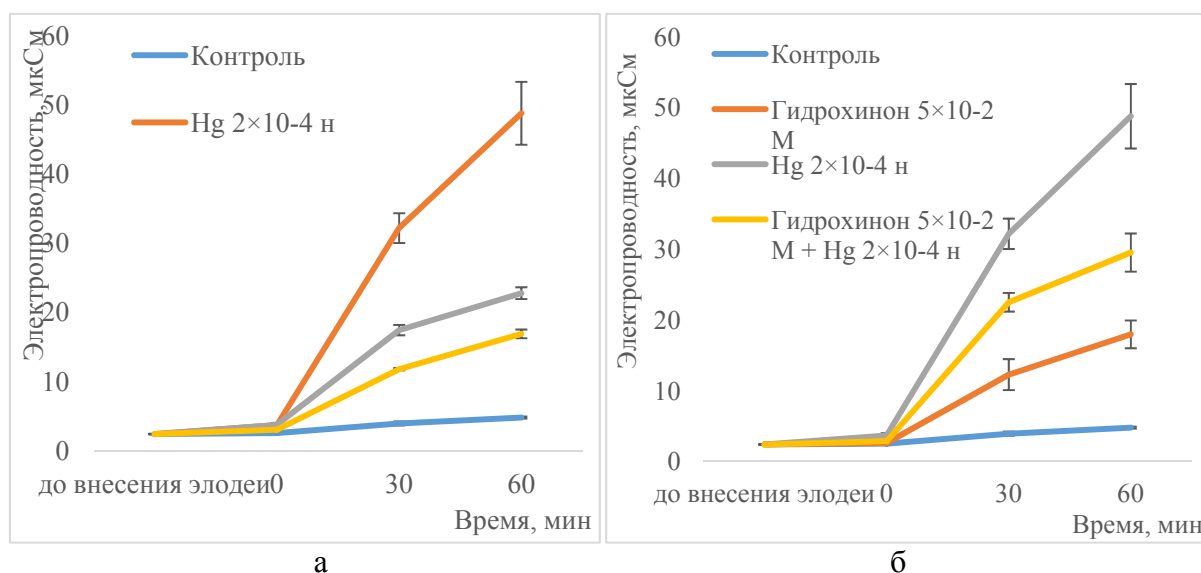


Рис. 1. Выход электролитов из клеток *E. canadensis* после воздействия на нее Hg (2×10^{-4} н) и смесей ртути с резорцином (а) и гидрохиноном (б)

Следует отметить, что при добавлении в смесь резорцин + ртуть более низких концентраций ртути, которые оказывали менее значительный токсический эффект на выход электролитов из побегов элодеи, отмечали снижение токсичности резорцина (рис. 2).

Схожие эффекты были зафиксированы и в экспериментах с медью и испытуемыми полифенолами. Так, пара резорцин (5×10^{-2} М) + медь (0,001 н) вызывала менее значительный выход электролитов из побегов элодеи, чем при индивидуальном действии 0,001 н меди. Электропроводность раствора, содержащего элодею, предварительно выдержанную в растворе меди, за 60 мин повышалась до $47,0 \pm 2,5$ мкСм, в то время как после обработки растения смесью металла и фенола в указанных концентрациях показатель возрастал только до

17,3±0,2 мкСм (рис. 3а). Аналогичная тенденция отмечена и при изучении токсического действия смесей меди с гидрохиноном (рис. 3б).

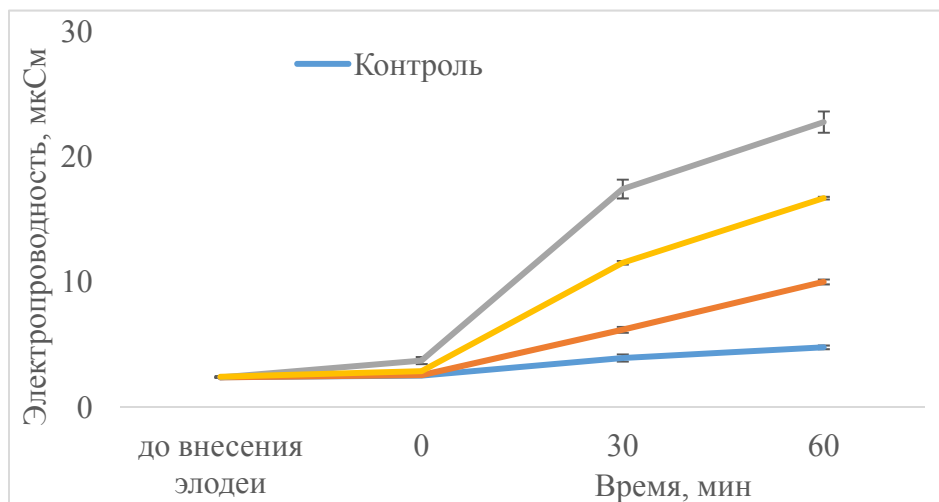


Рис. 2. Выход электролитов из побегов *E. canadensis* после воздействия на нее Hg (2×10^{-5} н) и смесей ртути с резорцином (5×10^{-2} М)

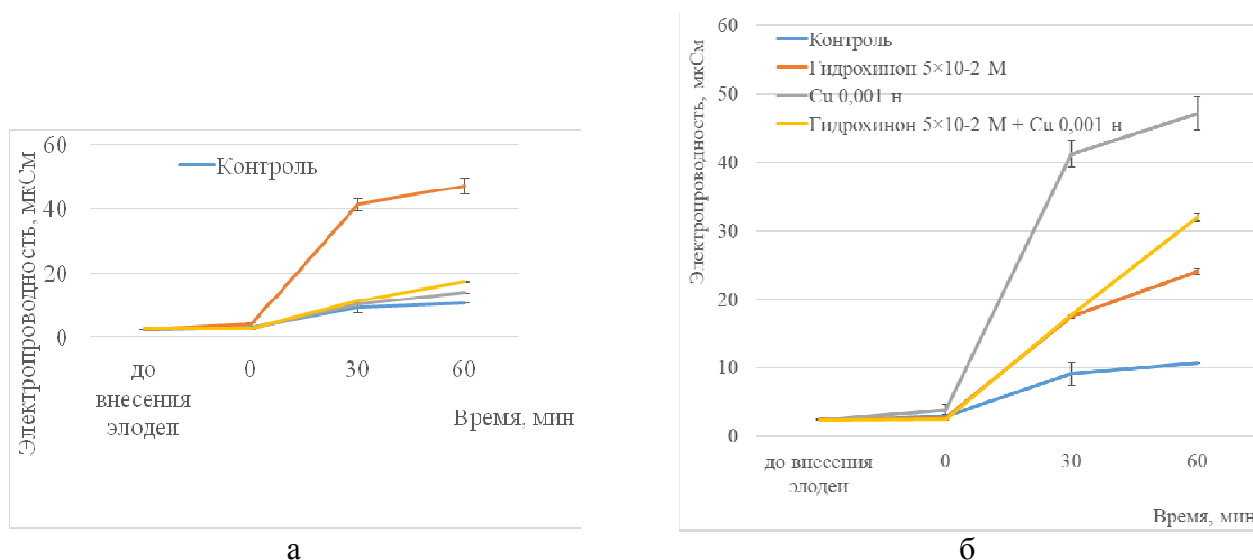


Рис. 3. Выход электролитов из побегов *E. canadensis* после воздействия на нее Cu (0,001 н) и смесей меди с резорцином (а) и гидрохиноном (б)

Таким образом, в работе показано существенное снижение токсического действия солей тяжелых металлов – меди и ртути – в присутствии двухатомных фенолов – гидрохинона и резорцина.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и МОКНСМ в рамках научного проекта № 20-54-44012 Монг_а. В исследованиях использованы материалы Центра коллективного пользования «Коллекция» Байкальского Музея ИНЦ СО РАН (<http://ckp-rf.ru/ckp/495988/>).

ОЦЕНКА АДСОРБЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА КЛЕТОК СПОРООБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ ПО ОТНОШЕНИЮ К МЕДИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЯХ pH

В.В. Зинченко^{1*}, К.А. Дёмин¹, П.П. Якупов¹,
И.С. Савин¹, А.В. Горовцов¹, Т.М. Минкина^{1†}

¹ФГАОУ ВПО «Южный федеральный университет»
Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация. В связи с высоким уровнем техногенного загрязнения всё большую актуальность приобретает разработка методов снижения его последствий, среди которых – биосорбция поллютантов, в частности, тяжёлых металлов. В настоящем исследовании, на примере Cu была проведена оценка сорбционной способности клеток *Bacillus megaterium*, выделенных из почв с высоким полиметаллическим загрязнением. Сорбционная активность клеток микроорганизмов оценивалась при широком диапазоне pH (от 3 до 8). Результаты исследования показали, что наиболее активной сорбционной способностью (>83 % сорбированного металла) тестовый штамм обладал в слабощелочных условиях (pH = 8).

Введение. Современный уровень антропогенной нагрузки по причине загрязнения такими тяжёлыми металлами (ТМ) как Cu, Cr, Ni и Zn беспрецедентно высок [1]. Особенностью ТМ как поллютантов является высокая степень персистенции в окружающей среде. Тем не менее, некоторые микроорганизмы способны иммобилизовать соединения ТМ в биологически малодоступные формы и тем самым снижать антропогенную нагрузку на экосистемы [2, 3]. Одним из способов иммобилизации является адсорбция – процесс, обусловленный связыванием ионов металлов клеточной стенкой за счёт нековалентных взаимодействий. Особенно адсорбция характерна для грамположительных бактерий по причине большой площади поверхности многослойного пептидогликана, включающего в себя множество сайтов адсорбции [4]. Кроме того, одним из важнейших факторов, определяющих адсорбции, является кислотность среды. Уровень pH прямо влияет на растворимость ионов и ионизационный статус функциональных групп в составе клеточной стенки [5, 6]. Дополнительными факторами являются концентрация металла в растворе, а также таксономическая принадлежность сорбирующих микроорганизмов [7]. Несмотря на потенциал использования бактерий в иммобилизации ТМ, адсорбционные свойства их клеток в условиях техногенной нагрузки изучены слабо.

Целью данного исследования было оценить адсорбционную способность клеток селективно отобранных металлоустойчивых штаммов спорообразующих бактерий по отношению к Cu в широком диапазоне pH (от 3 до 8).

Материалы и методы. Для проведения исследования были использованы металлоустойчивые штаммы микроорганизмов, выделенные из образцов хемо-

* zinj007@gmail.com

† © Зинченко В.В., Дёмин К.А., Якупов П.П., Савин И.С., Горовцов А.В., Минкина Т.М., 2021

зёмов (Spolic Technosol) высохшего озера Атаманское, характеризующихся высокой степенью полиметаллического загрязнения. Отобранный штамм был идентифицирован с использованием полифазного подхода, секвенирования гена 16S рРНК и масс-спектрометрии MALDI-TOF на приборе Bruker Daltonics Biotyper [8, 9].

Для оценки сорбционных свойств исследуемого штамма при разных показателях pH среды был подготовлен ряд цитратно-фосфатных буферов с диапазоном pH от 3 до 8 с шагом в 1 и содержанием Cu 10 ммоль/л в форме CuSO₄. Данный диапазон был выбран, опираясь на значения кислотности среды, встречающийся в техногенно загрязнённых почвах.

Для постановки опыта проводилось накопление суточной культуры на мясо-пептонном агаре, после чего готовилась суспензия клеток в стерильной воде. Суспензия вносилась в эппендорфы и клетки осаждалась при помощи центрифуги (10000 g, 5 мин), далее удалялся супернатант и проводился замер массы осадка, после чего вносился буфер с соответствующим pH в соотношении 1:10, и смесь барботировалась. Эппендорфы инкубировались при температуре 30°C в течение 16 часов. Затем снова производилось центрифугирование, супернатант отбирался, разбавлялся в соотношении 1:100 с дистиллированной водой и анализировался при помощи атомно-абсорбционного спектрометра "Квант 2мт" [10]. Количество связанной Cu рассчитывалось как разница между содержанием металла в контрольном образце и опытном образце с внесением биомассы бактерий.

Результаты и обсуждение. По результатам исследований установлено, что количество поглощенного металла возрастало в ряду от 3 до 8 pH, за исключением pH 4, при котором зафиксированы самые низкие показатели в этом опыте (Табл. 1).

Таблица 1

Влияние pH на адсорбцию Cu штаммом *B. megaterium*

pH	Количество адсорбированного металла, ммоль/г
3	0,023±0,0004
4	0,021±0,001
5	0,029±0,002
6	0,056±0,002
7	0,065±0,0004
8	0,081±0,0003

В диапазоне pH 3–5 адсорбция металла не превышает 28,3 %. Между значениями pH 5 и 6 наблюдается увеличение адсорбции металла в 1,9 раз. Дальнейшее подщелачивание среды влечет за собой прирост количества поглощенного металла. Оптимальные условия наблюдаются при pH 8: количество сорбированного металла составляет 83,9 % от вносимого количества, что может быть

обусловлено адаптацией выделенных штаммов к слабощелочным условиям, характерным для почв региона, где расположено о. Атаманское.

Согласно литературным источникам [10, 11] оптимальным уровнем кислотности среды для сорбции Cu микроорганизмами *Bacillus sp.* является 2–4 и 5,0, с максимальным значением массы сорбированной Cu равным 0,256 и 0,354 ммоль/г биомассы, соответственно. С другой стороны, в эксперименте с высокими концентрациями свинца адсорбционная способность *Pseudomonas atlantica* не зависела от колебаний pH [12], в то же время при уменьшении концентрации наблюдалась зависимость от кислотности среды в сторону увеличения количества поглощаемого металла. При аналогичном исследовании *Saccharomyces cerevisiae* поглощение Cu возрастало с увеличением pH среды, но при достижении определенного значения сорбционная способность ослабевала [13].

Важно отметить невысокие, по сравнению с представленными в литературе, показатели поглощения Cu на единицу биомассы. Причина такого наблюдения может быть комплексной. Так, возможно, что для тестового штамма *B. megaterium* характерно преобладание над адсорбцией других способов биосорбции, в условиях связано с относительно низкой концентрации металла и слабощелочной реакции среды.

Выводы. Сорбционная ёмкость клеток исследованного штамма *B. megaterium* в отношении CuO растёт с ростом показателя pH среды, достигая максимального значения (0,081 ммоль/грамм) при pH = 8. Полученные значения отличаются от представленных в изученной литературе данных, что говорит о необходимости дальнейшего изучения взаимодействия факторов, влияющих на адсорбционные свойства клеток.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, проект № 20-55-05014.

Список литературы

1. Касимов Н. С., Перельман А. И. Геохимия ландшафта //М.: Изд-во МГУ. – 1999.
2. Ledin M. Accumulation of metals by microorganisms – processes and importance for soil systems // Earth-Sci. Rev. 2000. V. 51. No 1. P. 1-31.
3. Perelomov L., Cozzolino V., Pigna M., Violante A. Adsorption of Cu and Pb on goethite in the presence of low-molecular mass aliphatic acids // Geomicrobiol. J. 2011. V. 28. Ne 7. P. 582-589.
4. White C., Wilkinson S.C., Gadd G.M. The role of microorganisms in biosorption of toxic metals and radionuclides // Int. Biodeterior. Biodegrad. 1995. V. 35. № 1-3. P. 17-40.
5. Aksu Z. Equilibrium and kinetic modelling of cadmium (II) biosorption by *C. vulgaris* in a batch system: effect of temperature //Separation and Purification Technology. – 2001. – Т. 21. – № . 3. – С. 285-294.

6. Iqbal M., Edyvean R. G. J. Biosorption of lead, copper and zinc ions on loofa sponge immobilized biomass of *Phanerochaete chrysosporium* //Minerals Engineering. – 2004. – Т. 17. – № . 2. – С. 217-223.
8. Переломов Л. В., Переломова И. В., Пинский Д. Л. Молекулярные механизмы взаимодействия между микроэлементами и микроорганизмами в биокосных системах (биосорбция и биоаккумуляция) //Агрохимия. – 2013. – № . 3. – С. 80-94.
9. Gorovtsov, et al. "The role of biochar-microbe interaction in alleviating heavy metal toxicity in *Hordeum vulgare* L. grown in highly polluted soils." *Applied Geochemistry* 104 (2019): 93-101.
10. Korshunov S. O. et al. Comparison of biochemical and molecular genetic approaches for identification of environmental strains //Microbiology. – 2014. – Т. 83. – № . 4. – С. 376-380.
11. Choi A., Wang S., Lee M. Biosorption of cadmium, copper, and lead ions from aqueous solutions by *Ralstonia* sp. and *Bacillus* sp. isolated from diesel and heavy metal contaminated soil //Geosciences Journal. – 2009. – Т. 13. – № . 4. – С. 331-341.
12. Tunali S., Çabuk A., Akar T. Removal of lead and copper ions from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil //Chemical Engineering Journal. – 2006. – Т. 115. – № . 3. – С. 203-211.
13. Lion L. W., Rochlin K. L. Adsorption of Pb (II) by a marine bacterium: the effect of cell concentration and pH //Estuarine, Coastal and Shelf Science. – 1989. – Т. 29. – № . 1. – С. 11-22.
14. Brady D., Duncan J. R. Cation loss during accumulation of heavy metal cations by *Saccharomyces cerevisiae* //Biotechnology letters. – 1994. – Т. 16. – № . 5. – С. 543-548.

ИНДИКАТОРНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ВОДНОЙ БИОТЫ ДЛЯ МОНИТОРИНГА РАДИАЦИОННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ РЕКИ ЕНИСЕЙ

Т.А. Зотина^{1,2*}, Д.В. Дементьев¹,
Ю.В. Александрова¹, М.С. Мельгунов^{3†}

¹Институт биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия

²Институт фундаментальной биологии и биотехнологии,
Сибирский федеральный университет,
Красноярск, Россия

³Институт геологии и минералогии им. В.С. Соболева СО РАН,
Новосибирск, Россия

Река Енисей загрязнена техногенными радионуклидами из-за работы Горно-химического комбината (ГХК), который с 1958 года и до недавнего времени производил оружейный плутоний. Последний реактор ГХК был остановлен в 2010 г, что привело к прекращению сброса в р. Енисей радионуклидов с наведенной активностью. Однако начатое вскоре производство МОКС-топлива привело к началу разрешенного сброса плутония в Енисей. Водная биота широко используется в радиоэкологии для мониторинга радиоактивного загрязнения водоемов. Содержание радионуклидов в биоте свидетельствует об их биологической доступности. В данной работе были изучены многолетние тренды техногенных радионуклидов в гидробионтах р. Енисей с целью оценки индикаторного потенциала различных представителей гидробионтов для мониторинга радиационного загрязнения р. Енисей. В работе исследованы погруженные макрофиты рдест блестящий и водный мох; представители зообентоса: амфиподы и личинки ручейников; рыбы (обыкновенная щука, сибирский хариус, байкальский елец), обитающие в реке Енисей вблизи места радиоактивного выброса 2007-2020 гг. Удельные активности радионуклидов в пробах биоты измеряли методами гамма- и альфа-спектрометрии.

Анализ многолетних трендов показал, что концентрации техногенных радионуклидов (^{24}Na , ^{46}Sc , ^{51}Cr , ^{54}Mn , ^{58}Co , ^{59}Fe , ^{60}Co , ^{65}Zn , ^{103}Ru , $^{141,144}\text{Ce}$, ^{152}Eu , ^{154}Eu , ^{239}Np), сбросы которых в Енисей либо прекратились, либо уменьшились после остановки последнего реактора на ГХК, также снизились в пробах биоты. Содержание радиоцезия (^{137}Cs) в биоте Енисея существенно не снизилось, поскольку сбросы этого радионуклида в Енисей продолжались на том же уровне. Содержание плутония (^{238}Pu и $^{239+240}\text{Pu}$) в образцах макрофитов, зообентоса и донных отложений значительно возросло после увеличения объема сброса этих изотопов в Енисей с 2018 г. По содержанию плутония представителей биоты Енисея можно ранжировать следующим образом: водный мох > личинки ручейников с домиками > рдест блестящий $\geq$ амфиподы. В работе оценены скоро-

* t_zotina@ibp.ru

† © Зотина Т.А., Дементьев Д.В., Александрова Ю.В., Мельгунов М.С., 2021

сти выведения техногенных радионуклидов из представителей водной биоты Енисея, а также исследована корреляция содержания техногенных радионуклидов в биоте с ежегодными сбросами радионуклидов в р. Енисей.

Работа поддержана грантами Российского фонда фундаментальных исследований и Красноярского краевого Фонда поддержки научной и научно-технической деятельности № 18-44-240003 и 20-44-240004.

INVESTIGATION OF RADIOPROTECTIVE PROPERTIES OF BIOINERT GOLD NANOPARTICLES

**M.R. Yehia^{1*}, T.E. Smolyarova²,
E.S. Kovel³, N.S Kudryasheva^{1,3†}**

¹*Siberian Federal University,
Krasnoyarsk, Russia*

²*Institute of Physics SB RAS, FRC KSC SB RAS,
Krasnoyarsk, Russia*

³*Institute of Biophysics SB RAS, FRC KSC SB RAS,
Krasnoyarsk, Russia*

Gold nanoparticles (AuNPs) are of particular interest for clinical applications and are utilized biomedically for diagnostic and therapeutic purposes [1-3]. Additionally, industrial applications offer alternative routes for AuNP introduction into the environment that include but are not limited to: consumer technology waste, pesticides, soil remediation, fertilizers, and gold-mining processes [4-7]. Such ubiquitous applications of nanoparticles combined with relatively insufficient amounts of toxicological studies warrant a more nuanced and comprehensive understanding of AuNP interactions with biological entities to improve their efficacy and minimize inadvertent environmental harm [8-9].

AuNPs can acquire unique biological, chemical, and physical properties based on the attenuation of their physical parameters such as the material used, size, shape, surface charge, and dosage of absorbed particles [10]. Although generically reported to be relatively bioinert and nontoxic, AuNPs have had conflicting reports of toxicity based on the nanoparticle synthesis protocols and cell lines used. These results are used to erroneously designate AuNPs as either toxic or nontoxic only [11-12]. Some studies have suggested stimulatory low-dose adaptive responses (hormesis) of nanoparticles [13-14]. Hence, based on AuNPs' abilities to evoke non-linear responses in complex biological systems, it is paramount to introduce a more nuanced understanding of the spectrum of AuNP effects on biological entities and their ambient host environments.

Our study aims to elucidate the interactions of AuNPs with marine microorganisms. The 20 nm polyvinylpyrrolidone-coated spherical particles were chosen as an example of AuNPs. Our choice was based on a prevailing consensus of their relative nontoxicity in current literature. Luminous marine bacteria, *Photobacterium phosphoreum*, was used as a unicellular bioassay; bioluminescence intensity was applied as a physiological indicator of cellular processes. Our choice of activating agent, tritiated water (HTO), was due to its environmental prevalence as a byproduct of nuclear processes and its promotion of bioluminescence activation [15-17].

Our results indicate slight non-dose-dependent bioluminescence inhibition (i.e. nanoparticle toxicity) at nanomolar concentrations in the initial 6-hour interval of ex-

* mostafarakhaa@gmail.com

† © Yehia M.R., Smolyarova T.E., Kovel E.S., Kudryasheva N.S, 2021

posure in samples of exponential phase (18 h) bacteria. However, non-concentration-dependent nanoparticle bioluminescent activation (50-100 %) was observed when stationary phase (>20 h) bacteria were exposed to similar environmental conditions, which may indicate the involvement of bacterial membrane integrity with regards to its ionizability and permeability. The nanoparticle activation phenomenon exhibited two common hormetic dose responses, namely the inverted U and J-shaped curves with varying magnitudes, lengths, and onset times of activation in identical bacterial samples suggesting a multifaceted and intricate biological response [18].

HTO (2, 50, 200 MBq·L⁻¹) was found to moderately activate the bacterial bioluminescence (up to 50 %) although no linear dependency on HTO concentration was demonstrated. The bacterial response to HTO also falls under the ‘hormesis’ model that suggests no monotonic dose-dependent response. A mitigation of HTO activation by AuNPs (9.66 x 10⁻⁴ g·L⁻¹, or 1.36 x 10¹⁰ NP·L⁻¹) over 24 h and 48 h intervals was also demonstrated. Notably, the activating concentrations of AuNPs exhibited non-linear bioluminescence inhibition in the presence of HTO, which may suggest radiosensitization interactions with the PVP ligand due to the β -decay of tritium. Statistical analyses further suggest that our results do not amount to a mere sum of the activating effects of HTO and the inhibiting effects of AuNPs, implying the likelihood of intricate mechanisms of interactions in mixtures of bacterial cells with HTO and AuNPs [19].

Based on our previous experiments on the redox properties of other substances (ex. humic substances) in the presence of similar HTO concentrations, an intermediary role of reactive oxygen species (ROS) is proposed as an explanation of AuNP behavior in the radioactive solutions of HTO [20].

To examine chronic exposure effects of these substances beyond the limits of bioluminescence we utilized scanning electron microscopy to observe bacterial cell morphology. Images revealed a qualitatively marked difference in the amount of extracellular polymeric substances (and cell-to-cell adhesion) production in bacterial samples exposed to high levels of AuNPs as compared to control, indicating appreciable levels of cellular stress [21].

References

1. Singh, P., Pandit, S., Mokkapati, V., Garg, A., Ravikumar, V., & Mijakovic, I. Gold Nanoparticles in Diagnostics and Therapeutics for Human Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. Vol. 19 N. 7. P. 1979.
2. Dykman, L. A., & Khlebtsov, N. G. Gold nanoparticles in biology and medicine: recent advances and prospects. *Acta Naturae*. 2011. Vol. 3. N.2. P. 34–55.
3. Bai, X., Wang, Y., Song, Z., Feng, Y., Chen, Y., Zhang, D., & Feng, L. The Basic Properties of Gold Nanoparticles and their Applications in Tumor Diagnosis and Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21 N. 7. P. 2480.
4. Colvin, Vicki L. “The potential environmental impact of engineered nanomaterials.” *Nature Biotechnology*. 2003. Vol. 21. N.10. P. 1166-1170.

5. Kang, H., Hwang, Y. G., Lee, T. G., Jin, C. R., Cho, C. H., Jeong, H. Y., & Kim, D. O. Use of Gold Nanoparticle Fertilizer Enhances the Ginsenoside Contents and Anti-Inflammatory Effects of Red Ginseng. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2016. Vol. 26. N. 10. P. 1668–1674.
6. Fashola, M. O., Ngole-Jeme, V. M., & Babalola, O. O. Heavy Metal Pollution from Gold Mines: Environmental Effects and Bacterial Strategies for Resistance. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2016. Vol. 13. N11. P.1047.
7. Sukhanova, A., Bozrova, S., Sokolov, P., Berestovoy, M., Karaulov, A., & Nabiev, I. Dependence of Nanoparticle Toxicity on Their Physical and Chemical Properties. *Nanoscale Research Letters*. 2018. Vol. 13. N.1. P. 44.
8. Alkilany, Alaaldin M., and Catherine J Murphy. Toxicity and cellular uptake of gold nanoparticles: what we have learned so far? *Journal of Nanoparticle Research : An Interdisciplinary Forum for Nanoscale Science and Technology*. 2010. Vol. 12. N. 7 P. 2313–2333.
9. Senut, M. C., Zhang, Y., Liu, F., Sen, A., Ruden, D. M., & Mao, G. Size-Dependent Toxicity of Gold Nanoparticles on Human Embryonic Stem Cells and Their Neural Derivatives. *Small*. 2016. Vol. 12. N.5. P. 631–646.
10. Yeh, Y. C., Creran, B., & Rotello, V. M. Gold Nanoparticles: Preparation, Properties, and Applications in Bionanotechnology. *Nanoscale*. 2012. Vol. 4. N. 6. P. 1871–1880.
11. Adewale, O. B., Davids, H., Cairncross, L., & Roux, S. Toxicological Behavior of Gold Nanoparticles on Various Models: Influence of Physicochemical Properties and Other Factors. *International Journal of Toxicology*. 2019. Vol. 38. N.5. P. 357–384.
12. Gerber, A., Bundschuh, M., Klingelhofer, D., & Groneberg, D. A. Gold Nanoparticles: Recent Aspects for Human Toxicology. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. 2013. Vol. 8. N.1. P. 32.
13. Iavicoli, I., Leso, V., Fontana, L., & Calabrese, E. J.. Nanoparticle Exposure and Hormetic Dose-Responses: An Update. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. Col. 19. N. 8. P. 805.
14. Bell, I. R., Ives, J. A., & Jonas, W. B. Nonlinear Effects of Nanoparticles: Biological Variability from Hormetic Doses, Small Particle Sizes, and Dynamic Adaptive Interactions. Dose-Response. *International Hormesis Society*. 2018. Vol. 12. N.2. P. 202–232.
15. Dingwall, S., Mills, C. E., Phan, N., Taylor, K., & Boreham, D. R.. Human Health and the Biological Effects of Tritium in Drinking Water: Prudent Policy Through Science – Addressing the ODWAC New Recommendation. Dose-Response. *International Hormesis Society*. 2018. Vol. 9. N.1. P. 6–31.
16. Kudryasheva, N. S., & Rozhko, T. V. Effect of Low-Dose Ionizing Radiation on Luminous Marine Bacteria: Radiation Hormesis and Toxicity. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2015. Vol. 142. P. 68–77.
17. Rozhko, T. V., Kolesnik, O. V., Badun, G. A., Stom, D. I., & Kudryasheva, N. S. Humic Substances Mitigate the Impact of Tritium on Luminous Marine Bacte-

ria. Involvement of Reactive Oxygen Species. International Journal of Molecular Sciences. 2020. Vol. 21. N.18. P. 8464.

18. Calabrese, Edward J. The Maturing of Hormesis As A Credible Dose-Response Model. Nonlinearity in Biology, Toxicology, Medicine. 2003. Vol.. 1. N. 3. P. 319-343.

19. Rozhko, T. V., Nemtseva, E. V., Gardt, M. V., Raikov, A. V., Lisitsa, A. E., Badun, G. A., & Kudryasheva, N. S. Enzymatic Responses to Low-Intensity Radiation of Tritium. International Journal of Molecular Sciences. 2020. Vol. 21. N. 22. P. 8464.

20. Rozhko, T. V., Nogovitsyna, E. I., Badun, G. A., Lukyanchuk, A. N., & Kudryasheva, N. S. Reactive Oxygen Species and Low-Dose Effects of Tritium on Bacterial Cells. Journal of Environmental Radioactivity. 2019. Vol. 208-209. P. 106035.

21. Costa, O., Raaijmakers, J. M., & Kuramae, E. E. Microbial Extracellular Polymeric Substances: Ecological Function and Impact on Soil Aggregation. Frontiers in Microbiology. 2018. Vol. 9 P. 1636.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО БИОТЕСТА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАГРЯЗНЕННОСТИ ГОРОДА

Л.Л. Кавицкая^{1*}, Л. В. Степанова¹,
Е.М. Колосова¹, Н.В. Римацкая¹, В. А. Кратасюк^{1,2†}

¹ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет»,
Красноярск, Россия

²ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр
«Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»
обособленное подразделение Институт биофизики СО РАН,
Красноярск, Россия

В настоящее время в крупных городах проблема экологического загрязнения стоит особо остро. Почвенный покров является индикатором экологического и санитарного состояния города. Почва города и песочница с песком, расположенная на придомовых территориях, концентрируют в себе соединения, которые поступают от транспорта, промышленных предприятий и жилищно-коммунальных хозяйств [1].

Для оценки загрязнения почв зачастую используют биологические методы, основанные на фиксировании параметров жизнедеятельности (скорость роста, интенсивность дыхания, смертность) бактерий, простейших, водорослей и других организмов [2]. Альтернативой к живым объектам может служить высокочувствительный, надежный и точный для анализа ферментативный биотест. Биолюминесцентная бактериальная биферментная система: NADH:FMN-оксидоредуктазы и люциферазы, позволяет выявить загрязнение по изменению интенсивности свечения [3]. Биолюминесцентный ферментативный метод широко используют для определения токсичности водных сред и может быть применима для оценки загрязнения почвенной среды.

Цель работы: выявление возможности применения биолюминесцентной ферментативной системы для определения экологической загрязненности города.

Исследованы пробы почв (n=14) и песка (n=15) разных районов г. Красноярска. Местами отбора почв и песка служили промышленные районы города (Ленинский; Советский; Кировский) и районы вдали от промышленных зоны города (Октябрьский; Центральный; Железнодорожный). Водную вытяжку из почв и песка готовили посредством разведения в пятикратный объем дистиллированной воды навеску почвы массой 5,0 г. Полученный экстракт взбалтывали в течение 5 мин на шейкере (Biosan PSU-20i, Латвия), фильтровали через бумажный фильтр (белая лента) и центрифугировали в течение 10 мин при 3500 об/мин на центрифуге Centrifuge 5810R (Eppendorf 5810 R, Германия).

Биолюминесцентное тестирование проводили на бактериальной биферментной системе NADH:FMN-оксидоредуктазы+люцифераза (ИБФ СО РАН, Красно-

* kavluba@mail.ru

† © Кавицкая Л.Л., Степанова Л.В., Колосова Е.М., Римацкая Н.В., Кратасюк В.А., 2021

ярска) [4]. В качестве интегрального показателя загрязнения водных вытяжек использовали величину остаточного свечения (T , %), вычисляемое как отношение средних максимальных интенсивностей свечения экспериментального измерения (почва или песок) к контрольному измерению, умноженного на 100 %. При $T > 80$ % образцы почв и песка считали условно чистыми, $50 \% < T < 80$ % – загрязненными, $T < 50$ % – сильно загрязненными.

Кислотно-щелочной показатель в водных вытяжках измеряли с помощью рН-метра HI 2211 (HANNA Instruments, Германия).

Статистическую обработку данных проводили в программе пакета прикладных программ Excel (Microsoft, США) с подсчетом среднего и стандартного отклонения.

По результатам биолюминесцентного тестирования водных вытяжек из почв выявлено наибольшее ингибирование свечения для трех образцов, которые были определены как сильно загрязненные, и не влияли на свечение три образца, которые определены как условно чистые. Остальные вытяжки почв ингибировали свечение в диапазоне 50 % – 80 % и определены как загрязненные.

Биолюминесцентное тестирование водных вытяжек из песка показали, что только один образец не влиял на свечение и определен как условно чистый, и два образца ингибировали свечение с наибольшей величиной, что позволило их определить как сильно загрязненными. Остальные вытяжки песка слабо ингибировали свечение и были определены как загрязненные.

Сравнительный анализ результатов биолюминесцентного тестирования водных вытяжек из почв и песка по районам г. Красноярска показал, что образцы песка и почва одинаково указывали степень загрязненности местности, кроме местности Кировского района, где показания образцов песка достоверно выше образцов почвы (рис. 1). Выявлено, что самыми загрязненными районами города являлись Кировский и Ленинский в окрестностях Красноярской ТЭЦ, остальные районы города определены условно чистыми, особенно микрорайон Ветлужанка в Октябрьском районе и вблизи Святопокровского храма в Центральном районе.

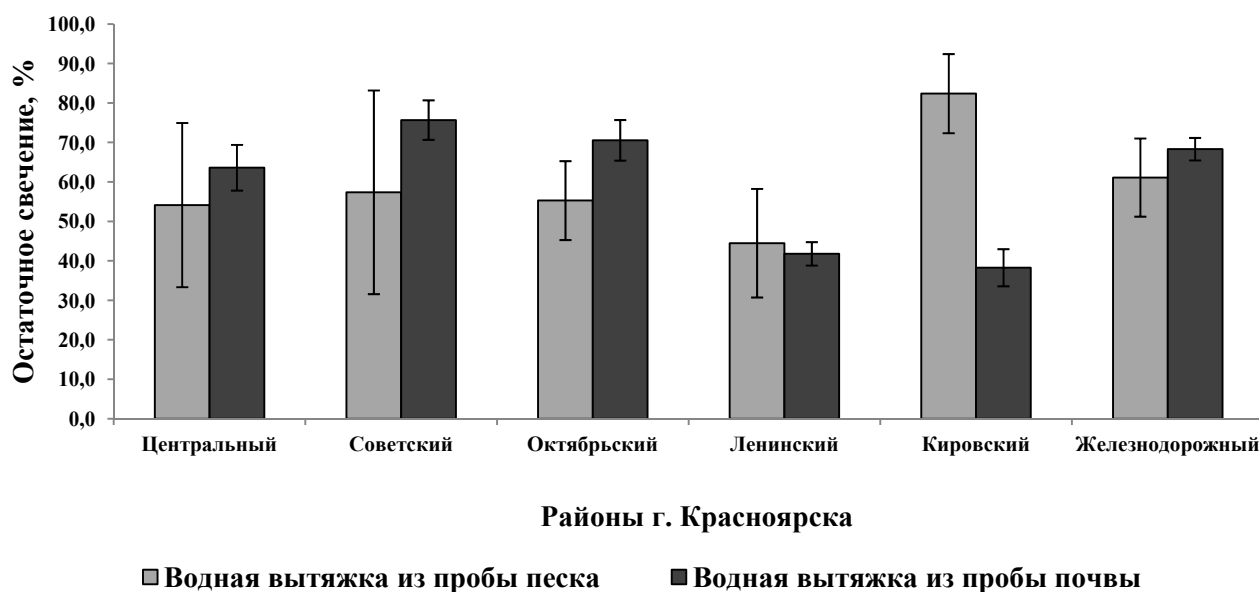


Рис. 1. Сравнительный анализ результатов биолуминесцентного биотеста при тестировании водных вытяжек из почвы и песка

Результаты потенциометрии показали, что водные вытяжки почв и песка имели разные кислотно-щелочные показатели (рН). Среднее значение рН водных вытяжек из песка составил 7,0, для почв – 7,8, что выше показателя оптимальной активности биолуминесцентной ферментативной тест-системы (рН=6,8–7,0). Смешивание образцов почв с калий-натрий фосфатный буфером в реакционной смеси понижал рН до 7,0, поэтому влияние кислотно-щелочного свойства водной вытяжки из почв было незначительным.

Таким образом, кислотно-щелочной свойства водных вытяжек из почв и песка не влияли на чувствительность ферментативной системы. Изменение чувствительности биолуминесцентного теста возможно обусловлено внешними загрязнителями, которые могли содержаться в образцах песка или почвы. В дальнейших исследованиях предполагается проанализировать содержание загрязнителей-поллютантов в образцах почв или песка и выявить их влияние на чувствительность биолуминесцентного биотеста.

Выводы

1. Биолуминесцентное тестирование водных вытяжек из почв и песка одинаково позволило выявить экологически чистые или загрязненные районы города.
2. На чувствительность биолуминесцентного биотеста не влияло изменение рН почвы и песка.

Список литературы

1. Середа Л. О., Куролап С. А., Яблонских Л. А. Эколого-геохимическая оценка техногенного загрязнения почвенного покрова промышленных городов. Воронеж: Издательство «Научная книга». 2018. С.196.

2. Терехова В. А. Биотестирование почв: подходы и проблемы. Почвоведение. 2011. № 2. С. 190–198

3 Кириллова М. А., Есимбекова Е.Н., Ранджан Р., Торгашина И. Г., Кратасюк В.А. Биолюминесцентная система светящихся бактерий для анализа микробного загрязнения. Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Биология. 2018. № 2. С. 174-180.

4 Байгина Е. М., Римацкая Н. В., Степанова Л. В., Кратасюк В. А. Анализ возможности применения биолюминесцентных ферментативных биотестов для оценки загрязнения почв (на примере почв г. Красноярска). Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология. 2017. Т. 21. С. 21-30.

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТОВ КОММЕРЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ПЕСТИЦИДОВ НА ТЕСТОВЫЕ СИСТЕМЫ *IN VITRO* И *IN VIVO*

В.П. Калябина^{1,2*}, К.В. Копылова¹, В.А. Куценко¹,
И.Г. Торгашина¹, К.А. Лукьяненко^{1,2}, Е.Н. Есимбекова^{1,2†}

¹Сибирский федеральный университет,

Красноярск, Россия

²ФИЦ КНЦ СО РАН,

Красноярск, Россия

Пестициды используются в сельском хозяйстве для повышения урожайности сельскохозяйственных культур и борьбы с вредителями. Многообразие целевых объектов применения пестицидов и различные физико-химические свойства действующих веществ (д.в.) привели к созданию множества препаративных форм пестицидов, охватывающих широкий спектр механизмов действия. Современные препараты пестицидов обладают низкими персистентностью и биоаккумуляцией в тканях организмов, а также более направленным действием, однако существует множество исследований, указывающих на то, что их опасность для нецелевых видов может быть недооценена [1].

Методы биотестирования, широко применяемые в рамках экотоксикологического мониторинга загрязнения окружающей среды, основаны на ответной реакции живых организмов на негативное воздействие. Так, существуют методики, в которых по изменению интенсивности свечения биолюминесцентных бактерий делают выводы о степени загрязненности среды. Однако есть ряд недостатков использования микроорганизмов в качестве биотестов, таких как потребность в строгих условиях культивирования, необходимость разработки и применения специфических чувствительных мутантных штаммов, воспроизводимость результатов. Известно, что ферменты в качестве биологических распознающих элементов обладают значительным потенциалом для оценки загрязнения объектов окружающей среды, поскольку отличаются избирательной специфичностью и высокой чувствительностью к ряду токсических веществ, а также биологически релевантны – то есть по их отклику можно судить о потенциальном вреде для живых организмов [2]. Использование для экологического мониторинга ферментов имеет множество преимуществ, среди которых уменьшение влияния внешних факторов на проведение эксперимента, более высокая чувствительность, экспрессность, простота и повторяемость результатов [3].

Целью данной работы являлась сравнительная оценка влияния пестицидных препаратов на тестовые системы *in vitro* и *in vivo*. В качестве тест-объектов были использованы: моноферментная система, катализируемая алкогольдегидрогеназой (АДГ), моноферментная система на основе щелочной фосфатазы

* valeriyakalyabina@mail.ru

† © Калябина В.П., Копылова К.В., Куценко В.А., Торгашина И.Г., Лукьяненко К.А., Есимбекова Е.Н., 2021

(ЩФ), биферментная система светящихся бактерий НАДН: ФМН-оксидоредуктаза и люцифераза (Р+Л) и триферментная система алкогольдегидрогеназа + NADH:FMN-оксидоредуктаза + люцифераза (АДГ+Р +Л), а также культура клеток биолюминесцентных бактерий *Photobacterium phosphoreum* 1889 [4]. Регистрацию изменения активности ферментов в присутствии и отсутствие анализируемых веществ проводили оптическими методами.

Для количественной оценки ингибирующего действия токсикантов на активность ферментов и интенсивность биолюминесценции светящихся бактерий использовали параметр IC_{50} , представляющий собой концентрацию токсиканта, вызывающую снижение активности ферментных систем на 50 %.

В работе было проанализировано влияние на активность ферментов 5-ти коммерческих препаратов пестицидов, принадлежащих к разным химическим классам (фосфоорганические (ФОС) и неоникотиноидные соединения), а также различающихся целевым назначением (гербициды и инсектициды). Все используемые ферментативные тест-системы оказались чувствительны к исследованным препаратам пестицидов. Однако наблюдались значительные различия в степени воздействия препаратов пестицидов на ферментативные тест-системы (таблица 1). Так, например, IC_{50} для коммерческих препаратов «Ликвидатор» и «Торнадо» (д.в. глифосат, ФОС, гербициды) составили: 600 и 220 мг/л – для моноферментной системы на основе щелочной фосфатазы; 0,8 и 0,4 мг/л – для биферментной системы Р+Л; 0,1 мг/л – для триферментной АДГ+Р+Л системы.

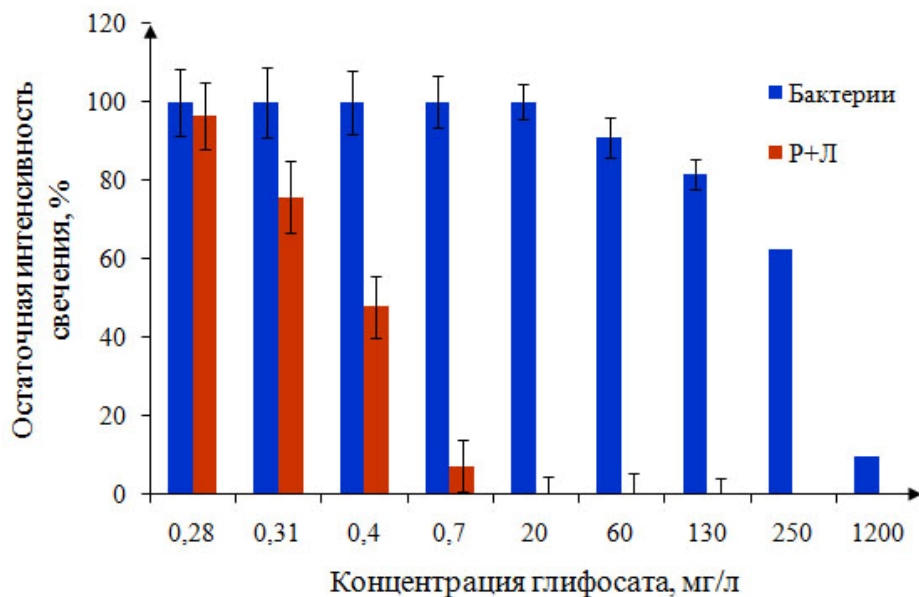


Рис. 1. Зависимость остаточной интенсивности свечения культуры клеток светящихся бактерий *P. phosphoreum* и растворимой биферментной системы Р+Л от концентрации глифосата в коммерческом пестицидном препарате «Торнадо»

Установлено, что ингибирующее воздействие пестицидных препаратов на тест-систему Р+Л является более выраженным по сравнению с действием на светящиеся бактерии (рисунок 1). Так, например, ингибирование свечения бак-

терий на 50 % наблюдалось при внесении в реакционную смесь 400 мг/л глифосата в составе коммерческого препарата «Ликвидатор» и 2000 мг/л имидаклоприда в составе препарата «Биотлин», при этом для тест-системы Р+Л параметры IC_{50} для данных препаратов составили 0,8 и 0,00003 мг/л.

В работе были использованы ферментативные тест-системы с различной длиной цепи сопряжения ферментов в реакции. Показано, что ко всем исследованным коммерческим препаратам наиболее чувствительной является триферментная система ADH+R+L.

Таблица

Значения параметров IC_{50} (мг/л) и EC_{50} (мг/л), определенных по действию пестицидов на функционирование моно-, би- и триферментных систем, и на культуру клеток светящихся бактерий *P. phosphoreum*, в сравнении с ПДК препаратов пестицидов [5]

Препарат пестицида	ПДК в продуктах питания	ЩФ	АДГ	Р+Л	АДГ+Р+Л	Тест-система <i>in vivo</i>
«Ликвидатор» (д.в. глифосат)	Арбузы 0,3 Бананы 0,05 Ягоды 0,1	600	0,8	0,8	0,1	400
«Торнадо» (д.в. глифосат)		220	1	0,4	0,1	400
«Биотлин» (д.в. имидаклоприд)	Ягоды 3,0 Цитрусовые 1,0 Морковь 0,5	—*	0,01	0,00003	0,00003	2000
«Корадо» (д.в. имидаклоприд)		—*	0,02	0,0007	0,0002	500
«Конфидор» (д.в. имидаклоприд)		—*	0,02	0,005	0,003	110

—* — Значения параметра не установлены ввиду ограничений методики

Таким образом, тест-системы *in vitro* существенно более чувствительны к исследованным препаратам пестицидов по сравнению с тестом *in vivo*, основанном на использовании светящихся бактерий, чувствительность ферментативных тест-систем увеличивается с изменением длины цепи сопряжения реакций. Свойство ферментов изменять активность при воздействии пестицидов позволяет говорить о перспективности применения ферментативных тест-систем в экотоксикологическом мониторинге.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, Правительства Красноярского края и Красноярского краевого фонда науки в рамках научного проекта № 20-44-242001.

Список литературы

1. Kalyabina V.P., Esimbekova E.N., Kopylova K. V., Kratasyuk V.A. Pesticides: formulants, distribution pathways and effects on human health – a review. Toxicology Reports, 2021. Vol. 8. P. 1179–1192.

2. Есимбекова Е.Н., Торгашина И.Г., Калябина В.П., Кратасюк В.А. Ферментативное биотестирование: научные основы и применение. Сибирский экологический журнал, 2021. Т. 3. С. 364-382.
3. Есимбекова Е.Н., Кратасюк В.А., Немцева Е.В., Кудряшёва Н.С., Медведева С.Е., Кириллова М.А. Биолюминесцентные биотесты : современное состояние и перспективы. – Красноярск: СФУ, 2018. 359 с.
4. Родичева Э.К., Выдрякова Г.А., Медведева С.Е. Каталог культур светящихся бактерий. – Новосибирск: Наука, 1997. 125 с.
5. СанПиН 1.2.3685-21 Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания, от 28 января 2021 года № 2 [Электронный ресурс], 2021. URL <https://docs.cntd.ru/document/573500115>.

VIBRATIONAL SPECTROSCOPY TECHNIQUES IN ECOLOGICAL MONITORING OF BACTERIA UNDER ENVIRONMENTAL STRESSES

A.A. Kamnev^{*†}

*Institute of Biochemistry and Physiology of Plants
and Microorganisms, Russian Academy of Sciences,
Saratov, Russia*

In developing modern research methodologies in the field of ecological toxicology and assessing the effects of environmental stress factors on various living systems, a special role is played by molecular spectroscopic techniques ranging from optics to nuclear chemistry (see, e.g. recent reviews [1–4] and relevant representative experimental reports [5–8]). These instrumental techniques allow environmentally induced molecular-level metabolic transformations in biological macromolecules, supramolecular systems, cells and tissues to be reliably detected, which can often be made *in situ* or even *in vivo* (e.g., for live microorganisms). Microbial cells are applicable not only as sensitive ‘probes’ for assessing environmental impacts [1, 9]; many microorganisms are of interest by themselves in biomedical, biotechnological, agricultural or other fields, so that their behaviour under stresses is both of basic and practical importance [5, 7, 9].

In the field of molecular spectroscopy, vibrational spectroscopy techniques (mainly Fourier transform infrared (FTIR, in different methodological variants) and Raman spectroscopies) have been increasingly used in life sciences. These two counterparts, which commonly utilise the mid-IR region of frequencies (4000–400 cm^{−1}) comprising all the main molecular vibrational modes, are based on different physical principles. While in FTIR spectra most polar functional groups (e.g., O–H, C–O, C=O, etc.) exhibit intensive bands and those for less or non-polar groups are weaker, in Raman spectra it is *vice versa*. Thus, the two techniques provide complementary information and can often be beneficially used together. An additional advantage is that both techniques are non-destructive. Although their selectivity is not high (as the same functional groups in different (macro)molecules give similar vibration bands), this is compensated by their high informativity. While most functional groups give several vibration bands (e.g., corresponding to stretching and bending vibrations, symmetric and antisymmetric modes) at different frequencies, the vibration energies are sensitive to intra- and intermolecular interactions, resulting in characteristic shifting or splitting of the related bands. Such interactions (primarily various types of H-bonding) are known to play vitally important roles in living systems, and monitoring of their changes can often give a clue to detecting the impacts of environmental factors. In this talk, the diverse potentials of vibrational spectroscopy techniques in microbial ecology will be illustrated (mainly on examples obtained by our research team or in collaborative investigations).

^{*} aakamnev@ibppm.ru; a.a.kamnev@mail.ru

[†] © Kamnev A.A., 2021

In our earlier study [9], the diffuse reflectance variant of FTIR spectroscopy (DRIFT) showed insignificant changes in spectral bands of *Phosphobacterium phosphoreum* biomass sampled at the stationary growth phase (20 h) and subjected to low-level α -radiation ($2 \text{ kBq}\cdot\text{L}^{-1}$) of americium-241 ($6.5\times 10^{-11} \text{ M}$), under which its bioluminescence (BL) was noticeably altered. However, for *Ph. phosphoreum* sampled at the exponential growth phase (10 h), when cells might be more sensitive to environmental factors, DRIFT spectra of bacterial biomass subjected to much energetically weaker β -radiation of tritium (^3H ; $11 \text{ MBq}\cdot\text{L}^{-1}$, which yet inhibited its BL) showed a significant upshift of the maximum of the amide I band (sensitive to the secondary structure of cellular proteins), as compared with the control. Such changes implied an increase in the proportion of β -structured cellular proteins, similar to that observed in other bacteria under stressed conditions [10]. Humic substances (HS) were found to alleviate the inhibitory effects of both α - (^{241}Am) and β -radiation (^3H) on BL, while in the latter case ($^3\text{H} + \text{HS}$), DRIFT spectra of *Ph. phosphoreum* were also similar to the control, independently confirming the alleviation of the stress induced by β -radiation.

FTIR spectroscopy is an informative tool to monitor intracellular accumulation of common bacterial carbon-and-energy storage compounds (biopolyesters of the polyhydroxyalkanoate (PHA) series) induced by nutritional or other stresses [5, 8, 10] and important for bacterial resistance [11]. Of the several characteristic polyester bands, the stretching C=O band (within $\sim 1720\text{--}1750 \text{ cm}^{-1}$) is relatively strong, does not noticeably overlap with other strong bands and can be used in monitoring cellular PHA accumulation quantitatively *in situ* (without its isolation from biomass) [5, 8, 10]. This band is sensitive to the degree of crystallinity of intracellular PHA granules regulated by cells upon PHA accumulation [5], which can also be assessed from FTIR spectra.

Many bacteria are known to be capable of detoxifying highly soluble selenium oxyanions (selenite, SeO_3^{2-} , and in fewer cases also selenate, SeO_4^{2-}), particularly by reducing them to Se^0 nanoparticles (NPs) [4, 6, 12]. FTIR spectroscopy has been shown to be very useful in assessing the accompanying metabolic changes in bacterial biomass as well as in analysing the composition of the bioorganic capping layer of the resulting biogenic Se NPs [6, 13]. In addition, Raman spectroscopy, besides its informativity toward the macromolecular composition of bacterial cells (complementary to that of FTIR spectroscopy), is sensitive to the allotropic modifications of biogenic Se^0 NPs. Moreover, considering the characteristic vibrations of the Se–Se and Se–S bonds featured by strong bands in Raman spectra, Raman spectroscopy allows the involvement of sulfur compounds in the reduction of inorganic selenium oxyanions to be assessed, which has been debated in the recent literature (see, e.g. [13, 14]).

The aforementioned examples demonstrate the applicability and high sensitivity of vibrational spectroscopy techniques in monitoring molecular metabolic transformations in bacterial cells induced by stress factors, pollutants or adverse conditions, which is of importance for ecotoxicological and environmental analyses involving bacteria.

Acknowledgements. These studies were supported within the recent years by the Russian Foundation for Basic Research (grants 16-08-01302-a, 17-08-01696-a, 19-13-50160).

References

1. Kudryasheva N.S., Kovel E.S. Monitoring of low-intensity exposures via luminescent bioassays of different complexity: cells, enzyme reactions, and fluorescent proteins. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. Vol. 20, № 18. P. 4451.
2. Kamnev A.A., Tugarova A.V. Sample treatment in Mössbauer spectroscopy for protein-related analyses: nondestructive possibilities to look inside metal-containing biosystems. *Talanta*. 2017. Vol. 174. P. 819–837.
3. Kamnev A.A., Tugarova A.V. Bioanalytical applications of Mössbauer spectroscopy. *Russian Chemical Reviews*. 2021. Vol. 90 (in press; <https://doi.org/10.1070/RCR5006>).
4. Ojeda J.J., Merroun M.L., Tugarova A.V., Lampis S., Kamnev A.A., Gardiner P.H.E. Developments in the study and applications of microbial transformations of selenium species. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2020. Vol. 40, № 8. P. 1250–1264.
5. Tugarova A.V., Dyatlova Yu.A., Kenzhegulov O.A., Kamnev A.A. Poly-3-hydroxybutyrate synthesis by different *Azospirillum brasilense* strains under varying nitrogen deficiency: A comparative *in-situ* FTIR spectroscopic analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2021. Vol. 252. P. 119458.
6. Kamnev A.A., Dyatlova Yu.A., Kenzhegulov O.A., Vladimirova A.A., Mamchenkova P.V., Tugarova A.V. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic analyses of microbiological samples and biogenic selenium nanoparticles of microbial origin: Sample preparation effects. *Molecules*. 2021. Vol. 26. P. 1146.
7. Kamnev A.A., Tugarova A.V., Shchelochkov A.G., Kovács K., Kuzmann E. Diffuse reflectance infrared Fourier transform (DRIFT) and Mössbauer spectroscopic study of *Azospirillum brasilense* Sp7: evidence for intracellular iron(II) oxidation in bacterial biomass upon lyophilisation. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2020. Vol. 229. P. 117970.
8. Kamnev A.A., Tugarova A.V., Dyatlova Yu.A., Tarantilis P.A., Grigoryeva O.P., Fainleib A.M., De Luca S. Methodological effects in Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy: Implications for structural analyses of biomacromolecular samples. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2018. Vol. 193. P. 558–564.
9. Kamnev A.A., Tugarova A.V., Selivanova M.A., Tarantilis P.A., Polissiou M.G., Kudryasheva N.S. Effects of americium-241 and humic substances on *Photobacterium phosphoreum*: Bioluminescence and diffuse reflectance FTIR spectroscopic studies. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2013. Vol. 100. P. 171–175.

10. Kamnev A.A., Sadovnikova J.N., Tarantilis P.A., Polissiou M.G., Antonyuk L.P. Responses of *Azospirillum brasilense* to nitrogen deficiency and to wheat lectin: a diffuse reflectance infrared Fourier transform (DRIFT) spectroscopic study. *Microbial Ecology*. 2008. Vol. 56, № 4. P. 615–624.
11. Obruca S., Sedlacek P., Slaninova E., Fritz I., Daffert C., Meixner K., Sedrlova Z., Koller M. Novel unexpected functions of PHA granules. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020. Vol. 104, № 11. P. 4795–4810.
12. Tugarova A.V., Kamnev A.A. Proteins in microbial synthesis of selenium nanoparticles. *Talanta*. 2017. Vol. 174. P. 539–547.
13. Tugarova A.V., Mamchenkova P.V., Dyatlova Yu.A., Kamnev A.A. FTIR and Raman spectroscopic studies of selenium nanoparticles synthesised by the bacterium *Azospirillum thiophilum*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2018. Vol. 192. P. 458–463.
14. Tugarova A.V., Mamchenkova P.V., Khanadeev V.A., Kamnev A.A. Selenite reduction by the rhizobacterium *Azospirillum brasilense*, synthesis of extracellular selenium nanoparticles and their characterisation. *New Biotechnology*. 2020. Vol. 58. P. 17–24.

ОЗОНОВЫЙ СЛОЙ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЯДЕРНОГО ВЗРЫВА

В.Б. Кашкин, Р.В. Одинцов, Т.В. Рублева^{*†}

*Сибирский федеральный университет,
Красноярск, Россия*

Состояние озонового слоя Земли постоянно привлекает внимание научной общественности. Озон O_3 образует сферический слой в стратосфере с максимумом на высоте 21-23 км в средних широтах. Озон является малой атмосферной примесью, его общая масса равна $0,64 \cdot 10^{-6}$ массы всей атмосферы. Если собрать весь озон в слой при нормальных условиях (давлении 1013,25 гПа и температуре 273,16 К), то толщина этого слоя, т.е. общее содержание озона (ОСО) составит всего около 3 мм или 300 единиц Добсона (е.Д.). Озон поглощает около 3 %, из всего потока солнечной энергии, поступающей на Землю. Стратосферный озон является основным естественным поглотителем солнечной ультрафиолетовой радиации, без озонового слоя органическая жизнь на Земле в современном виде стала бы невозможной [1].

Существуют различные точки зрения по поводу влияния ядерных взрывов на озоновый слой. Утверждается, что крупномасштабная ядерная война и даже региональная война между двумя ядерными государствами разрушит озоновый слой на многие годы [2, 3]. С другой стороны, в 60-е и 70-е годы XX в. было проведено большое количество ядерных испытаний в атмосфере. В это время уже велись наблюдения ОСО сетью наземных станций и, частично, искусственными спутниками Земли. Тем не менее, мониторинг озоносферы, выполненный в этот период, не выявил статистически значимых изменений концентрации озона [4]. Необходимо отметить, что выводы о состоянии озона после крупномасштабной и региональной войны получены путем моделирования. При этом какие-либо данные об изменениях озонового слоя непосредственно после ядерных взрывов не использовались. Видимо, они отсутствуют.

22 сентября 1979 г. в 00:52:43 UTC американский спутник контроля ядерных испытаний *Vela* 6911 обнаружил характерную двойную вспышку света продолжительностью около 2 с, примерно соответствующую ядерному взрыву в атмосфере мощностью около 2-3 килотонн [5]. В это время космический аппарат *Vela* находился над пустынным районом Мирового океана, где есть только два участка суши – небольшой архипелаг Принц-Эдуард и крошечный остров Буве, разделенные тысячами километров. Наличие мощнейшей двойной короткой (1-2 с при заряде мощностью 1-10 килотонн) вспышки света характерно только для ядерных взрывов, это обусловлено особенностями формирования огненного шара в этот момент. Такую вспышку невозможно спутать с падением метеорита, разрядом молнии или другим естественным явлением [6]. За время своей службы спутники *Vela* зафиксировали 41 двойную вспышку све-

^{*} tvrubleva@mail.ru

[†] © Кашкин В.Б., Одинцов Р.В., Рублева Т.В., 2021

та, каждая из которых впоследствии признавалась результатом ядерного испытания какой-то из стран. Однако в этот раз никто не взял ответственность на себя за проведенное секретное испытание [5].

Отдаленный взрыв был зафиксирован 22 сентября 1979 г. на расстоянии в несколько тысяч километров системой подводных гидрофонов ВМС США (SOSUS). Причем время взрыва было оценено как 00:52 UTC. На островах Виктория и Тасмания на западе Австралии в октябре и ноябре 1979 г. было обнаружено аномальное содержание йода-131 в щитовидной железе у овец. После взрыва полярное сияние было замечено над японской базой Сёва в Антарктике [4]. Все это подтверждает факт возможного скрытого испытания ядерного оружия в географическом районе с неизвестными координатами.

Заметим, что при ядерном взрыве возбуждается мощная взрывная волна, кроме излучения в видимом участке спектра возникают интенсивные ионизирующие: ультрафиолетовое, рентгеновское и гамма-излучение. Под их воздействием могут возникать новые объемы озона. В тоже время ядерный взрыв также способен создавать условия для разрушения озона. При взрыве за счет сильного нагрева газа и частично за счет всплеска излучения, появляются азотные окислы, которые считаются наиболее опасными разрушителями озона [2].

В 1978 г. был запущен искусственный спутник Земли *Nimbus-7* (США). Этот аппарат до 1992 г. с помощью сканирующего спектрорадиометра *TOMS* ежедневно снимал глобальную цифровую карту общего содержания озона (ОСО) [7]. Потенциально *Nimbus-7* мог обнаружить «след» ядерного взрыва в атмосфере на озоновом слое Земли и, тем самым, предоставить возможность оценить влияние взрыва на озон и определить координаты географического места, где это произошло.

Из орбитальных данных космического аппарата *Nimbus-7* следует, что в 23:47 UTC 21 сентября 1979 г. он проходил виток орбиты № 4600. В 00:00 UTC 22 сентября закончился виток № 4600 и начался виток № 4601. К особенностям прибора *TOMS* относится перекрытие полей зрения на смежных витках орбиты в средних и высоких широтах. В частности, на витке орбиты № 4600, за 66 мин до взрыва, в поле зрения спутника попадает тот же участок, который фиксируется в начале витка № 4601 через 17 мин после взрыва. На рис. 1 слева показаны значения общего содержания озона на витке № 4600, а справа – на витке № 4601.

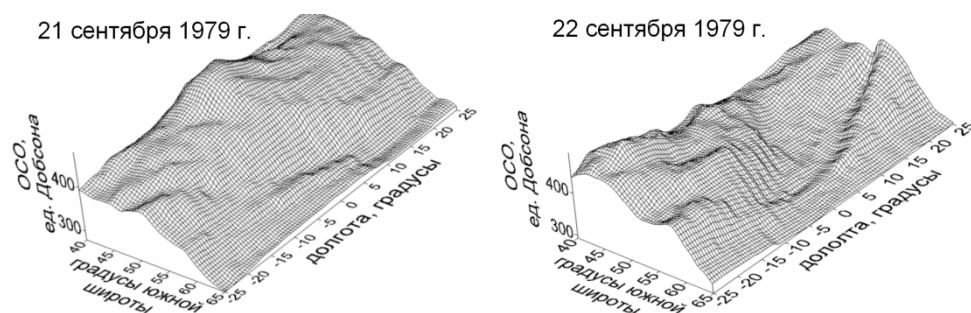


Рис. 1. Карта общего содержания озона 21 и 22 сентября 1979 г.

Если бы взрыв не произошел, то изображения были бы практически идентичны, т.к. за 104 мин между витками озоновый слой не смог бы существенно измениться [1]. Судя по характеру трансформации поля общего содержания озона, можно утверждать, что 22 сентября в озоновом слое атмосферы появился «след» как результат воздействия ударной волны ядерного взрыва. Заметим также, что в прямоугольнике от -60° до -30.5° по широте и от -30° до 50° по долготе 22 сентября среднее ОСО увеличилось на 5 %, по отношению к 21 сентября, а дисперсия ОСО возросла в 2 раза. Коэффициент взаимной корреляции полей ОСО в этих координатах $R = 0.045$, т.е. практически «ноль». С вероятностью 97 %, можно считать, что случайные поля ОСО 21 и 22 сентября в упомянутых координатах следует отнести к различным генеральным совокупностям.

На рис. 1, справа, можно видеть, что в слое озона возник «провал», окруженный своеобразными «волнами». Дно «провала» очерчивает область, где, как можно предположить, был проведен ядерный взрыв. Это район в границах $4^\circ - 7^\circ$ в.д. и $48^\circ - 50^\circ$ ю.ш., который находится к северо-востоку от о. Буве. Минимум ОСО в «провале» соответствует 5° в.д. и 49° ю.ш. По-видимому, эти цифры можно считать приближенной оценкой конкретных координат взрыва.

В последующие дни «след» ядерного взрыва на озоновом слое сместился к востоку, а его форма претерпела существенные изменения. Если 23 сентября он еще походил на «след» как рис. 1, то в последующие 4-7 дней вследствие зонального и меридионального переноса, а также из-за перемешивания масс озона, «след» исчез. При этом среднее значение ОСО практически оставалось прежним.

По спутниковым данным исследовано состояние озонового слоя через 17 минут после ядерного испытания 22 сентября 1979 г. Показано, что на озоновом слое из-за воздействия ударной волны появляется «след» взрыва, по которому можно приближенно определить географическое место испытаний. Не выявлено заметного изменения общего содержания озона в стратосфере после взрыва. Не обнаружено влияния на стратосферный озон ионизирующего излучения и влияния оксидов азота, возникающих при взрыве.

Список литературы

1. Кашкин В.Б., Рублева Т.В., Хлебопрос Р.Г. Стратосферный озон: вид с космической орбиты. – Красноярск: Сибирский федеральный университет. 2015. 218 с.
2. Израэль Ю.А. Крупномасштабные геофизические и экологические последствия возможной ядерной войны. В кн. Крупномасштабные климатические и биологические последствия ядерной войны. М.: Наука, 1986. С. 46–65.
3. Toon O.B., Robock A., Turco R.P et al. Consequences of regional-scale nuclear conflicts. *Science*. 2007. Vol. 315. P. 1224–225. doi:10.1126/science.1137747
4. Bauer E., Gilmore F.R. Effect of atmospheric nuclear explosions on total ozone. *Reviews of Geophysics*. 1975. Vol. 13, № 4. P. 451–458.
5. Sublette C. Report on the 1979 Vela Incident. Электронный ресурс. Режим доступа. URL: <https://nuclearweaponarchive.org/Safrica/Vela.html>

6. Guy E., Barasch G.E. Light Flash Produced by an Atmospheric Nuclear Explosion. LOS ALAMOS SCIENTIFIC LABORATORY. 1979. 5 pp.

7. McPeters R.D., Krueger A.J., Bharia P.K. et al. Nimbus-7 Total Ozone Mapping Spectrometer (TOMS) Data Products User's Guide. NASA Reference Publication. 1993. № 1323. 94 pp.

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ДАННЫХ МИССИЙ GRACE И GRACE-FO ДЛЯ РЕШЕНИЯ ЗАДАЧ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА

**В.Б. Кашкин¹, Т.В. Рублева^{1*},
К.В. Симонов², А.Н. Мацулев^{2†}**

*¹Сибирский федеральный университет,
Красноярск, Россия*

*²Институт вычислительного моделирования СО РАН,
Красноярск, Россия*

Исследование посвящено анализу особенностей изменения параметра Equivalent Water Height (EWH) над контуром геоидом на основе спутниковых измерений космической системы GRACE, применительно к решению задач экологического мониторинга [1]. В исследовании использовался полный архив спутниковых данных GRACE и GRACE-FO. Оценки производилась для Земли в целом, включая районы Суши и Мирового океана.

Статистический анализ и интерпретация аномального состояния геосреды выполнялись с использованием, построенных по авторской методике, цифровых карт пространственного распределения параметра EWH на основе гистограммного подхода и корреляционного анализа. Также проведен сравнительный анализ изученных данных миссии GRACE и данных новой миссии GRACE-FO, выведенной на орбиту летом 2018 г.

Орбитальные характеристики КС GRACE – полярная орбита, расстояние между парой спутников (порядка 200 км), период обращения около полутора часов. Гравитационные аномалии Земли измеряются в сантиметрах эквивалентной высоты водяного столба [2]. Величина гравитационной аномалии определена через параметр расчетной модели – высоту эквивалентного водяного столба. Измеренные параметры сравниваются со значениями гравитационного потенциала модели EIGEN-6C, привязанной к поверхности геоида. Применительно к Океану это дополнительный тонкий слой воды в несколько сантиметров (примерно, от -10 до +10 см). Отметим, что это модельный параметр, который отображает особенности реальных геофизических и климатических процессов.

В обзорной работе [3] приводятся исследования геофизических и климатических процессов, вносящих существенный вклад в гравитационные аномалии, которые регистрируются аппаратурой спутников GRACE. Глобальные движения земной атмосферы вносят существенный вклад в наблюдаемые гравитационные аномалии. Геодинамические процессы также отражаются в локальных гравитационных аномалиях.

* tvrubleva@mail.ru

† © Кашкин В.Б., Рублева Т.В., Симонов К.В., Мацулев А.Н., 2021

В работе предлагаются характеристики, по которым можно разделить геофизические и климатические процессы на локальные и глобальные по степени влияния на гравитационное поле. Для решения этой задачи построены частотные распределения аномалий в виде гистограмм «ежемесячных» данных, а также полное частотное распределение гравитационных аномалий за период с 2003 по 2016 годы [4].

Таким образом, анализ и интерпретация данных, проведенный в статье, ограничивается относительными изменениями параметра EWN в географическом пространстве (регионы Суши и Океана) во времени с интервалами примерно в один месяц. Отдельные «месячные» гистограммы отличаются большим разнообразием, что видно из рис. 1. Анализ и интерпретация отдельных гистограмм показал, что среднее частотное распределение гравитационных аномалий имеет экспоненциальный характер.

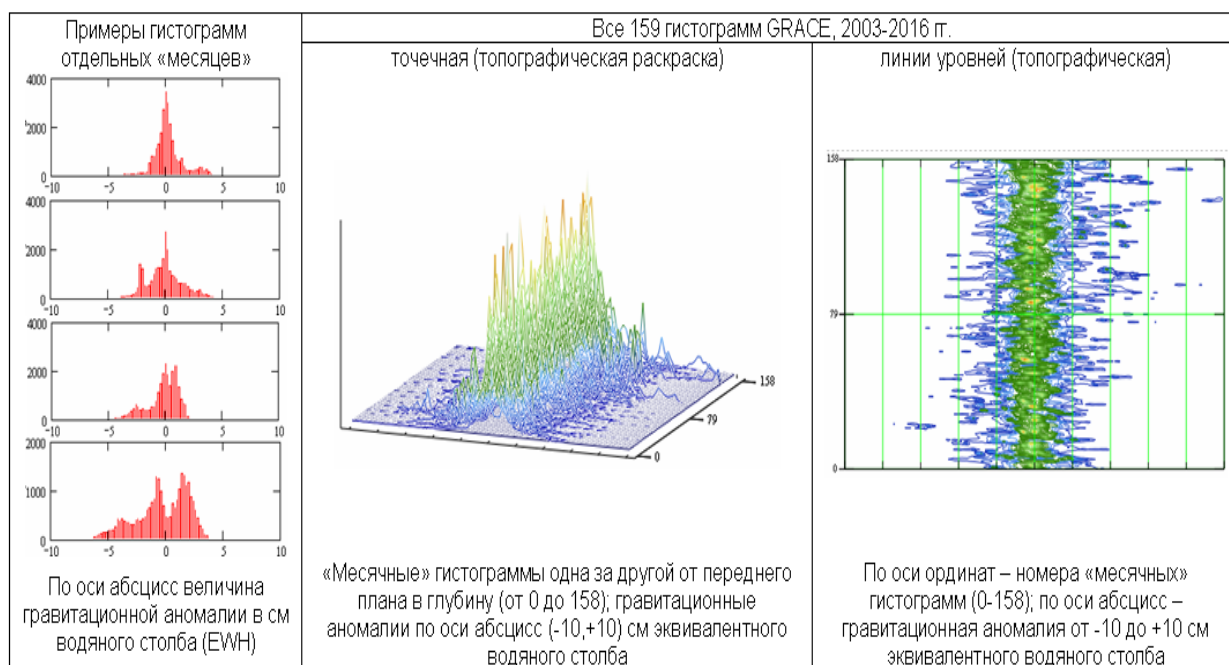


Рис. 1. Приведены гистограммы на основе отдельных файлов данных системы GRACE (Океан) и их совокупность за период 2003-2016 гг.

Для анализа и интерпретации изменения интенсивности массопереноса для Суши в течение года приведены годовые и полугодовые гармоники в виде отдельных графиков для каждого сезона (рис. 2). Показано, что для Суши минимумы достигаются в начале и в середине года. Это соответствует зиме в Северном и Южном полушариях, а максимумы смещены на 3 месяца. Что касается Океана, то минимумы приходятся на апрель и ноябрь, а максимумы наблюдаются в начале февраля и середине июля.

Как отмечено выше, эквивалентная высота водяного столба (EWN) является характеристикой вычислительной модели, т.е. не является физической величиной в полном смысле. Однако, опираясь на построенные гистограммы, можно определить такой параметр как информационная энтропия.

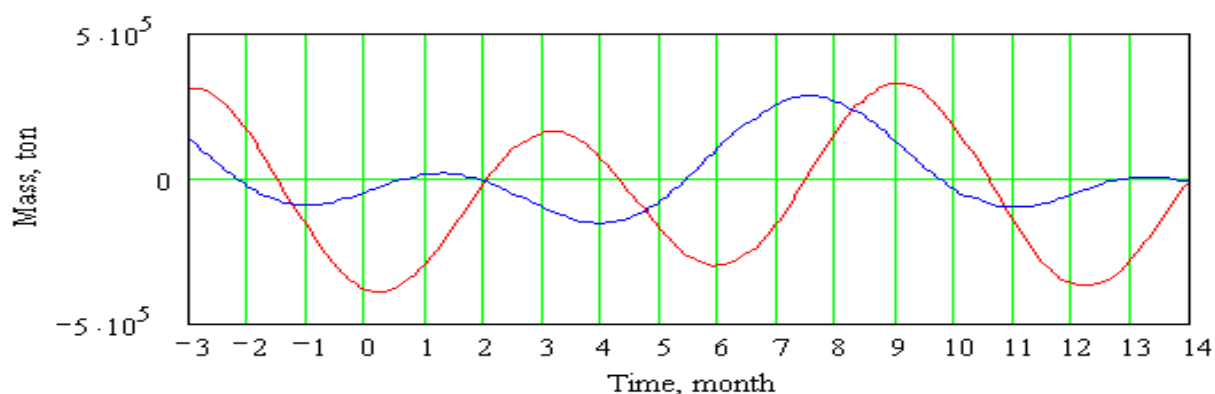


Рис. 2. Полугодовые гармоники изменения интенсивности массопереноса для Суши в течение года (по сезонам)

Для этого отождествим частотные распределения за весь период наблюдения с распределением вероятностей величины гравитационных аномалий. Этот прием позволяет предложить способ вычисления средней информационной энтропии отдельных месячных данных в глобальном масштабе и на локальном уровне при решении задач экологического мониторинга для отдельных территорий.

Статистическая обработка и анализ глобальной изменчивости гравитационного поля Земли за 2003-2016 годы по данным системы GRACE показывает, что эта изменчивость имеет случайный характер с дифференциальным распределением вероятности близким к форме Коши (Лоренца). Это означает, что в спутниковых данных GRACE отсутствует значимая систематическая ошибка.

Полагаем также, что геодинамические источники локальной изменчивости гравитационного поля над океанами на масштабе 10-летия имеют термодинамический, основанный на случайности, характер. При исследовании доминирующих природных процессов не наблюдается устойчивого тренда.

На основе статистического анализа изменений параметра EWN для Суши и Мирового океана показано, что временные закономерности, полученные по наблюдениям миссии GRACE, сохраняются в данных новой миссии GRACE-FO для основных обнаруженных аномалий. Следовательно, данные GRACE и GRACE-FO хорошо согласуются друг с другом и пригодны для обобщающих исследований природных процессов.

Отметим в итоге, что в данных о массопереносе для Земли в целом, а также для Суши и над Океаном выявлены долгосрочные и краткосрочные тренды, т.е. колебательные составляющие. Выявленные тенденции могут быть связаны с глобальными изменениями климата на Земле.

Список литературы

1. Flechtner F., Sneeuw N., Schuh W-D. (Eds.). Observation of the System Earth from Space – CHAMP, GRACE, GOCE and Future Missions. GEOTECHNOLOGIEN. Science Report. 2014. № 20.

2. Wahr J., Molenaar M., Bryan F. Time variability of the Earth's gravity field: Hydrological and oceanic effects and their possible detection using GRACE. *Journal of Geophysical Research: Solid Earth*. 1998. Vol. 103, № B 12. P. 30205–30229.
3. Wouters B., Bonin J.A., Chambers D.P., Riva R.E.M., Sasgen I. and Wahr J. GRACE, time-varying gravity, Earth system dynamics and climate change. *Review Article Rep. Prog. Phys.* 2014. Vol. 77. 41 pp.
4. NASA. Available at: [ftp: //podaac ftp.jpl.nasa.gov/allData/tellus/L3/ocean_ mass/RL05/ascii/](ftp://podaac.ftp.jpl.nasa.gov/allData/tellus/L3/ocean_mass/RL05/ascii/) (accessed 2.6.2021).

ТЕМПЕРАТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОВЕРХНОСТНОГО НАТЯЖЕНИЯ АКТИВИРОВАННОЙ ВОДЫ

Л.В. Кашкина, Т.В. Рублева^{*†}

*Сибирский федеральный университет
Красноярск, Россия*

В настоящее время большой научный интерес представляют газогидраты – структуры в виде многогранников, построенных из молекул воды. Внутри структур содержатся гостевые молекулы, хорошо вписывающиеся в многогранник и образующие с каркасом воды Ван-дер-Ваальсовские связи. Структуры устойчивы при низких температурах и высоких давлениях. Образовывать газогидраты способны практически все низкомолекулярные гидрофобные газы и легколетучие жидкости. К гостевым молекулам относятся, в частности, парниковые газы. Это метан CH_4 и углекислый газ CO_2 . Гидрат метана напоминает лед или спрессованный снег. Если его поджечь, то он способен гореть, подобно газовой горелке.

Газогидраты встречаются в донных осадках морей, океанов, в вечной мерзлоте в высоких широтах. Наиболее эффективный перенос метана из донных отложений в водную толщу и атмосферу осуществляется всплывающими пузырьками. Появление газовых пузырьков в воде может быть следствием как природного характера (подводные грязевые вулканы, разломы осадочных пород), так и техногенного (аварии на подводных трубопроводах, буровых установках) [1].

Исследование строения, областей термодинамической устойчивости, кинетики образования и разложения газогидратов важны с разных точек зрения [1, 2]:

- газосые гидраты, в частности, гидраты метана, рассматриваются как новый энергоресурс;
- влияние газосых гидратов на климат Земли, окружающую среду и другие процессы, идущие в геосфере. Метан (CH_4) является **в 35 раз более эффективным парниковым газом, чем двуокись углерода**;
- влияние на эксплуатацию газопроводов, транспортирующих влажный природный газ, техногенных газогидратных отложений на внутренних стенках трубопроводов;
- разработка технологий получения газогидратов в промышленных установках для транспортировки природного газа потребителю и создание специальных газогидратных хранилищ газа.

Поскольку газогидраты являются структурами, состоящими из воды и молекул газа, то поведение воды в зависимости от изменения температуры, давления и других факторов существенно отличается от такового у подавляю-

^{*} sfugeo@mail.ru

[†] © Кашкина Л.В., Рублева Т.В., 2021

щего большинства других жидкостей. Необычные свойства воды характеризуются экстремальным поведением, т.е. появлением максимумов или минимумов на кривых зависимостей от температуры (рис. 1).

В работах [3,4] отмечается, что вода имеет три сильно выраженных температурных экстремума. Минимум изотермической сжимаемости K_T приходится на температуру около 46°C (рис. 1,a). Ее удельная теплоемкость C_p минимальна при температуре $\sim 35^\circ\text{C}$ (рис. 1,b), а плотность α_p максимальна при температуре приблизительно 4°C (рис. 1,c).

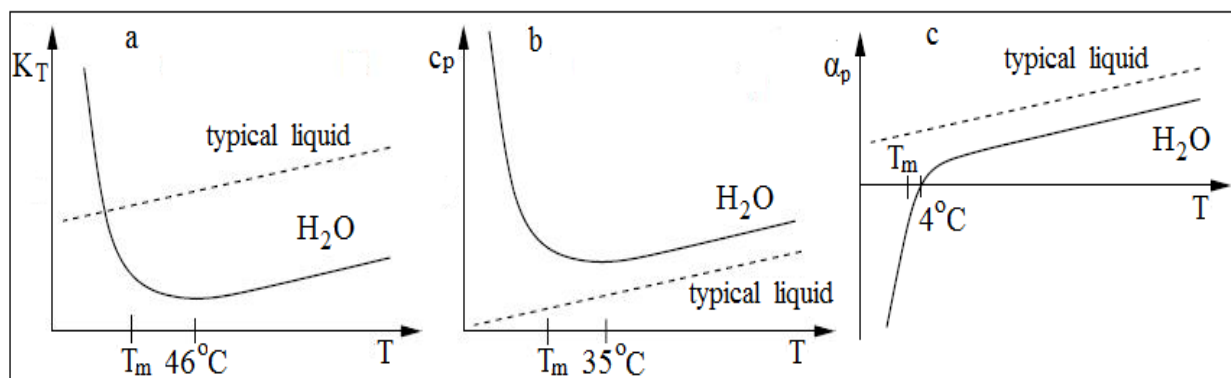


Рис. 1. Зависимости параметров K_T (a), C_p (b) и α_p (c) от температуры, характеризующие аномалии воды

Аномальные свойства воды влияют на синтез и фазовые превращения гидратов природного газа и образование гидратных пробок при разработке и эксплуатации нефтяных месторождений, расположенных в зоне многолетних мерзлых горных пород.

Для искусственного получения гидратов в промышленных установках применяют динамические способы. Технологический комплекс состоит из реактора с миксерами различных типов, систем подачи газовой, водной фаз и их совместного термостатирования. Для моделирования фазового поведения воды и газа применяются барокамеры различного размера, конструкции и назначения.

В работе [5] изучалось воздействие электромагнитных полей на газогидраты. В [6] описана технология по получению гидрата метана методом ударно-волнового воздействия на насыщенную пузырьками метана воду. Т.е вода в данной технологии подвергается высокоэнергетическому воздействию. Свойства воды при получении газогидратов влияют на технологию получения газогидратов. Особенности в структурном строении воды, а также ее метастабильность позволяют ей откликаться на внешнее полевое воздействие различной природы.

С помощью физических воздействий (нагревание и охлаждение, сильное перемешивание, воздействие магнитных и электрических полей др.) можно целенаправленно осуществлять перестройку структуры воды на молекулярном уровне воды. Таким образом, получают очищенную, дистиллированную, дега-

зированной, аэрированную, активированную, с повышенной растворяющей способностью воду. Воздействие на нее внешних факторов физической природы приводит к последствиям одинаковой направленности: повышению pH, снижению ОВП, увеличению удельной электропроводности, снижению вязкости и поверхностного натяжения [7,8].

В данной работе исследовалось изменение поверхностного натяжения дистиллированной воды в гидродинамическом генераторе роторного типа с использованием режимов кавитации (гидродинамическая кавитация). Это также высокоэнергетическое воздействие. Была получена кавитационно-активированная вода. Эксперименты проводились на двух гидродинамических устройствах. Это роторно-турбулизирующие аппараты – гидродинамические генераторы HG1, HG2, в которых при высоких угловых скоростях вращения ротора наблюдается срыв потока жидкости с его лопастей, что приводит к возникновению кавитационных эффектов.

Генератор HG1 – перемешивающее устройство, в котором внутри гладкостенного стального стакана (рабочая камера, реактор) расположена мешалка – кавитатор в виде крыльчатки с плоским клиновидным профилем. Конструкция второго генератора HG2 подобна первому. Мощность двигателя HG2 в 4 раза больше, чем в HG1. Работа генераторов в кавитационном режиме: генератор HG1 – крыльчатка с углом раскрытия клина 60° , угловая скорость ротора 10000 об/мин, генератор HG2 – крыльчатка с углом раскрытия клина 30° , угловая скорость ротора 2280 об/мин, числа кавитации $\chi = 0,05$ и $0,01$, соответственно. Используемая дистиллированная вода в течение 5 суток с момента получения находилась в неплотно прикрытой стеклянной емкости.

Коэффициент поверхностного натяжения σ (мН/м) определялся методом отрыва кольца, точность $\sim 3\%$. Важно подчеркнуть, что эксперимент проводился сразу после получения активированной воды. Каждая точка – среднее из пяти измерений в течение 5–7 мин. Содержание растворённого кислорода в исследуемых образцах воды до и после кавитационной обработки измерялась на анализаторе МАРК-201. Измерения pH, электропроводности S , окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) и температуры T проводились на приборе Water Test (Hanna Instruments), который позволяет измерять эти параметры в диапазонах: pH = $(0 \div 14)$; $S = (0 \div 2000) \cdot \mu\text{S}$; ОВП = $(1000 \div 1000) \text{ mV}$; $T = (0 \div 60) ^\circ\text{C}$.

Видно, что при определенных режимах гидродинамических течений и времени кавитационной обработки можно добиться значительного уменьшения σ воды (22 % и 8 %) (рис. 1).

На температурной зависимости изменения поверхностного натяжения, полученного в генераторе HG2 (рис. 2,с) существует участок 304–311 К с немонотонной температурной зависимостью. Наблюдается минимум σ . На кривой $\sigma(T)$ для HG1 подобная немонотонность проявляется гораздо слабее. Появление минимума на кривой (рис. 2,с) коррелирует с особенностями на температурной кривой изотермической сжимаемости K_T (рис. 1,а). Аномалия сжимаемости проявляется в следующем. В обычных жидкостях сжимаемость всегда умень-

шается при понижении температуры. В воде при охлаждении ниже 46° С сжимаемость растет, причем этот рост продолжается и в метастабильной области, что свидетельствует о перестройке структуры воды в этом температурном интервале.

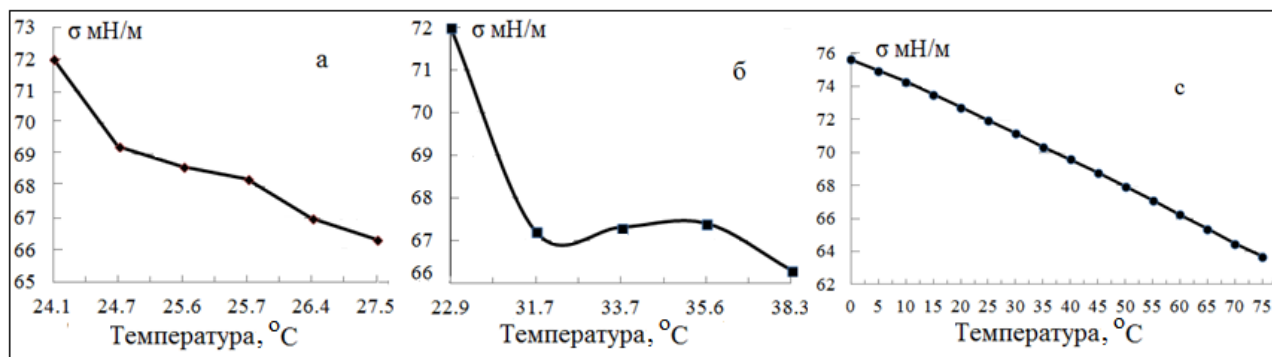


Рис. 2. Зависимость коэффициента поверхностного натяжения σ от температуры: а – генератор HG1, б – генератор HG2; с – табличные данные [9]

Экспериментальный результат, полученный в работе, и объясненный с точки зрения аномальных свойства воды, может быть полезен при создании технологий промышленного получения газогидратов.

Список литературы

1. Макогон Ю. Ф. Газогидраты. История изучения и перспективы освоения. Геология и полезные ископаемые Мирового океана. 2010. № . 2. С.5-21.
2. Шахова Н. Е. Метан в морях Восточной Арктики. М.: Ин-т океанологии им. ПП Ширшова РАН. 2010. дис.
3. Nilsson A., Pettersson L.G.M. The structural origin of anomalous properties of liquid Water. Nature communications. 2015. № 12. 11 pp. doi: 10.1038/ncomms9998
4. Kumar P., Han S., Stanley H.E. Anomalies of water and hydrogen bond dynamics in hydrophobic nanoconfinement. Journal of Physics: Condensed Matter. 2009. V. 21, № 504108. 9pp.
5. Низаева И. Г., Макогон Ю. Ф. Воздействие электромагнитных полей на нетрадиционные виды углеводородного сырья. Геология и полезные ископаемые Мирового океана. 2013. № 3 (33). С.42-53.
6. Накоряков В. Е., Мезенцев И.В., Мелешкин А.В., Елистратов Д.С., Мезенцева Н.Н., & Садыков И. Обзор получения газогидратов ударно-волновым воздействием. Современная наука: исследования, идеи, результаты, технологии. 2015. № . 1. С. 119-123.
7. Кулагин В.А., Сапожникова Е.С., Стебелева О.П., Кашкина Л.В., Чжи-Ин Ч., Цянь Л., & Фэн-Чэнь Л. Особенности влияния эффектов кавитации на физико-химические свойства воды и стоков. Журнал Сибирского федерального университета. Техника и технологии 2014. Т. 7, № . 5. С. 605-614.

8. Яхно Т.А., Яхно В.Г. Исследование роли микродисперсной фазы воды при переходе ее в состояние активации. Актуальные вопросы биологической физики и химии. 2020. Т. 5, № 1. С 43-51.

9. Александров А.А., Григорьев Б.А. Таблицы теплофизических свойств воды и водяного пара. М: МЭИ. 1999. 168 с.

ТОКСИЧНОСТЬ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ФУЛЛЕРЕНОЛА $C_{60,70}$ С НИЗКИМ ЧИСЛОМ КИСЛОРОДНЫХ ЗАМЕСТИТЕЛЕЙ

А.Г. Кичеева¹, Е.С. Ковель^{2,3}, Н.С. Кудряшева^{1,2*†}

¹ИБФ СО РАН,

Красноярск, Россия,

²Сибирский федеральный университет,

Красноярск, Россия,

³ИФ СО РАН,

Красноярск, Россия

Наноразмерные структуры чрезвычайно перспективны для современных технологий. Некоторые наноматериалы являются биологически активными и характеризуются специфическими свойствами. Однако применение наноматериалов также создает потенциальные риски для окружающей среды и живых организмов. Поскольку углерод является основным компонентом живых организмов, открытие фуллерена (C_{60}), наиболее распространенного фуллерена, вызвало большой интерес в области биомедицинских применений. Этот интерес был в основном обусловлен уникальными свойствами этого углеродного аллотропа, включающие его трехмерную структуру, растворимость и химическую реакционную способность [1]. В течение последнего десятилетия широко изучаются биологические эффекты водорастворимой формы C_{60} , которая обозначается как гидратированный фуллерен $C_{60}(HyFn)$. $HyFn$ представляет собой гидрофильный супрамолекулярный комплекс, состоящий из макромолекулы фуллерена C_{60} , заключенной в гидратную оболочку. Накоплено большое количество информации о благотворном влиянии $C_{60}HyFn$, его нейропротекторном, противоопухолевом, противовоспалительном, антиатерогенном действии, в основном определяемом антиоксидантной способностью $C_{60}HyFn$, которая неожиданно обнаруживается при чрезвычайно низких концентрациях [2]. Другим широко изученным производным C_{60} является фуллеренол $C_{60}(OH)_n$, где несколько гидроксильных групп химически связаны с поверхностью фуллерена C_{60} , обеспечивая повышенную растворимость в воде [3]. Фуллеренолы являются амфифильными структурами: «гидроксильные группы обеспечивают их растворимость в воде, а фрагменты скелета фуллерена – сродством к гидрофобным ферментативным фрагментам и липидным структурам клеточных мембран». Амфифильные свойства и антирадикальная активность обеспечивают широкий спектр биологических эффектов фуллеренолов: от нейтрализации свободных радикалов до защиты клеток и транспорта лекарств. Фуллеренолы могут быть использованы в радиобиологии, химиотерапии и неврологии, обеспечивая важную альтернативу обычным фармацевтическим препаратам [4]. Фуллеренолы

* khyzylsyg@mail.ru

† © Кичеева А.Г., Ковель Е.С., Кудряшева Н.С., 2021

являются мощными антиоксидантами прямого действия (ловушками свободных радикалов) как *in vitro*, так и *in vivo* [5].

Целью работы явилось сравнение токсических и антиоксидантных свойств фуллеренола с малым количеством кислородсодержащих заместителей и ранее изученных фуллеренолов с использованием биolumинесцентного ферментативного анализа, основанного на системе сопряженных ферментативных реакций бактериальной люциферазы и NAD(P)H:FMN-оксидоредуктазы. Подавление (ингибирование) интенсивности биolumинесценции анализируемой системы количественно характеризует токсичность исследуемого образца. Был получен и охарактеризован препарат водорастворимого производного фуллерена $C_{60,70}$. С помощью ИК- и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии было показано, что это соединение представляет собой фуллеренол с малым количеством кислородсодержащих заместителей; его структура соответствует формуле: $C_{60,70}O_x(OH)_y$, где $x+y=10-12$, y – четное число. Результаты показывают, что $C_{60,70}O_x(OH)_y$, где $x+y=10-12$ характеризуется более высокой токсичностью по сравнению с фуллеренолами $C_{60,70}O_y(OH)_x$, ($y=2-4$, $x=22-24$) и $C_{60,70}O_y(OH)_x$, ($x+y=40-42$). Также было найдено, что $C_{60,70}O_y(OH)_x$, ($y=2-4$, $x=22-24$) имел токсический эффект ниже, по сравнению с $C_{60,70}O_x(OH)_y$, ($x+y=10-12$) и $C_{60,70}O_y(OH)_x$, ($x+y=40-42$). На основании описанных экспериментов мы выбрали диапазон концентраций $C_{60,70}O_x(OH)_y$, ($x+y=10-12$) равный $<0,0016$ г/л, обеспечивающий отсутствие его ингибирующего эффекта, для наших дальнейших экспериментов – изучения его антиоксидантной активности. Антиоксидантную активность $C_{60,70}O_x(OH)_y$, ($x+y=10-12$) изучали в растворах модельных неорганических и органических окислителей: $K_3[Fe(CN)_6]$ и 1,4-бензохинона. Рассчитывали антиоксидантные коэффициенты D^{OxT} , определяли концентрационные интервалы антиоксидантной активности. Значения D^{OxT} $C_{60,70}O_x(OH)_y$, ($x+y=10-12$) оказались промежуточными между значениями ранее изученных фуллеренолов.

Таким образом, сравнение выявило умеренную антиоксидантную активность и более высокую токсичность $C_{60,70}O_x(OH)_y$, ($x+y=10-12$) по сравнению с ранее изученными фуллеренолами. Был сделан вывод о том, что токсичность и антиоксидантная активность фуллеренолов не находятся в простой зависимости от количества кислородсодержащих заместителей. Вероятно, важное значение имеет и степень растворимости фуллеренола в воде.

Все три фуллеренола не проявляли антиоксидантной активности в растворах неорганического окислителя – феррицианида калия, их значения D^{OxT} достоверно не превышали 1 во всем исследуемом диапазоне концентраций (р-значение $>0,05$). Эти результаты указывают на важность гидрофобных взаимодействий в антиоксидантной активности фуллеренолов. Таким образом, до широкого применения фуллеренолов в биомедицине, должно быть проведено более детальное исследование их биологической активности.

Список литературы

1. Moussa, F. Fullerene and derivatives for biomedical applications / F. Moussa // Nanobiomaterials – 2018. – P. 113-136.
2. Andrievsky, G., Bruskov, V., Tykhomyrov, A., Gudkov, S. Peculiarities of the antioxidant and radioprotective effects of hydrated C 60 fullerene nanostuctures in vitro and in vivo / G. Andrievsky et. al // Free Radical Biology & Medicine – Vol.47 – 2009. – P. 786-793.
3. Nakamura, H., Nozaki, E., Koizumi, Y., Watano, S. Effect of number of hydroxyl groups of fulleranol C60(OH)_n on its interaction with cell membrane / H. Nakamura et. al // Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers Vol.90 – 2018. –P. 18-24
4. Yang, L. et al. Assessment on Toxicity of Nanomaterials / L. Yang et al. // Nanomaterials for the Removal of Pollutants and Resource Reutilization –2019. – P. 273 – 292.
5. Eropkin, M. Yu. Synthesis and biological activity of fullerenols with various contents of hydroxyl groups / M. Yu. Eropkin, E. Yu. Melenevskaya, K V. Nasonova, T. S. Bryazzhikova, E. M. Eropkina, D. M. Danilenko, O. I. Kiselev // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2013 – Vol. 47, № 2. – P. 87–91.

КОМПЛЕКСНЫЙ ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ БИОТЕСТ В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ РЕКРЕАЦИОННЫХ ЗОН

А.А. Князева^{*}, Е.М. Колосова[†]

ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет»,
Красноярск, Россия

Темпы роста урбанизации вызывают загрязнения компонентов городских территорий, что актуализируют проблемы, связанные с их экологическим состоянием, решения которых невозможно без применения методов экологической оценки [1 – 3]. В этом ряду актуальна задача применения ряда [4 – 7] методов для выявления степени загрязнения компонентов среды в местах отдыха на территории городов.

Целью исследований является применение комплексного ферментативного биотеста и метода оценки стабильности развития по флуктуирующей асимметрии в экологическом мониторинге рекреационных зон.

Исследовали образцы почвенного покрова и листовые пластинки берёзы повислой (*Betula pendula*) в четырёх зонах отдыха города Красноярска (таблица 1.).

Таблица 1

Координаты точек отбора проб (с.ш., в.д., по данным Google Earth) в Красноярске

Точка отбора	с.ш.	в.д.	Описание
Гремячая грива (1)	55° 59' 30,0''	92° 43' 37,7''	Гремячая грива
Бобровый лог (2)	55° 57' 43,9''	92° 47' 51,6''	Бобровый лог
Троя парк (3)	55° 61' 14,9''	92° 47' 59,7''	Троя парк
Сквер Серебряный (4)	56° 01' 18,5''	92° 46' 56,6''	Сквер серебряный

Анализ почвенных образцов с применением комплексного ферментативного биотеста [6,7] показал уровень сильного загрязнения во всех исследуемых районах, что может быть вызвано накоплением тяжёлых металлов [8,9]. Наименьшее остаточное свечение зарегистрировано в образцах почвы Гремячей гривы ($7,72 \pm 0,08$ %). Более высокие значения отмечены в образцах почвенного покрова в районах: Бобровый лог – $44,59 \pm 10,40$ %, Троя парк – $14,98 \pm 0,24$ %, Сквер Серебряный – $18,56 \pm 4,91$ % (Таблица 2.).

^{*} anna.knyazeva.1999@bk.ru

[†] © Князева А.А., Колосова Е.М., 2021

Оценка состояния окружающей среды рекреационных зон

Рекреационная зона	Методы оценки состояния окружающей среды	
	Комплексный ферментативный биотест	Флуктуирующая асимметрия
Гремячая грива (1)	сильно загрязнено	Чисто
Бобровый лог (2)	сильно загрязнено	Относительно чисто ("норма")
Троя парк (3)	сильно загрязнено	Очень грязно ("вредно")
Сквер Серебряный (4)	сильно загрязнено	Очень грязно ("вредно")

Использование метода флуктуирующей асимметрии с применением ИФА (индекса флуктуирующей асимметрии) дифференцировало районы на 3 группы: чисто – Гремячая грива, относительно чисто («норм») – Бобровый лог, очень грязно («вредно») – Троя парк и Сквер Серебряный (таблица 2).

В целях объективной оценки состояния окружающей среды целесообразно использовать комплекс методов с применением различных уровней реакции биологических объектов.

Список литературы

1. Барабанова О. А., Безкоровая И. Н. [и др.]. Экология: учебное пособие. Красноярск. 2011. 325 с.
2. Мучкина Е.Я., Бадмаева С.Э., Коротченко И.С., Горлушкина К.С. Анализ распределения подвижных форм тяжелых металлов в почвенном покрове промышленно урбанизированной территории г. Красноярска. Экология и промышленность России. 2020. т. 24. № 4. С. 66 – 71.
3. Коротченко И.С., Первышина Г.Г., Мучкина Е.Я. Воздействие процесса сжигания углей Ирша – Бородинского разреза на депонирование тяжелых металлов в почве (на примере Минусинской ТЭЦ). УГОЛЬ. 2020. № 6. С. 67 – 69.
4. Захаров В. М., Чубинишвили А. Т., Дмитриев С. Г., Баранов А. С. Здоровье среды: практика оценки. Москва: Центр экологической политики России. 2000. 318 с.
5. Коротченко И. С., Мучкина Е. Я. Флуктуирующая асимметрия листьев древесных растений в оценке состояния окружающей среды Красноярска: монография. К.: Сиб. федер. ун-т. 2017. 144 с.
6. Esimbekova E., Kratasyuk V., Shimomura O. Application of Enzyme Bioluminescence in Ecology. Biochem. Eng. Biotechnol. 2014. V. 144. P. 67–109.
7. Байгина Е.М. Анализ возможности применения биолуминесцентных ферментативных биотестов для оценки загрязнения почв (на примере почв г. Красноярска) [Электронный ресурс]. 2017. т. 21. Режим доступа: http://izvestia_bio.isu.ru/ru/index.html

8. Коротченко И.С., Мучкина Е.Я. Тяжелые металлы в почвенном покрове и древесных растениях урбанизированной территории города Красноярска. Экология урбанизированных территорий. 2017. № 2. С. 6 – 11.

9. Коротченко И.С., Мучкина Е.Я. Тяжелые металлы в техногенных поверхностных образованиях Красноярской агломерации. Современные проблемы науки и образования. 2016. № 4. С. 224.

МЕТОД ОЦЕНКИ УСТОЙЧИВОСТИ ЛЕСНЫХ НАСАЖДЕНИЙ К ПОВРЕЖДЕНИЮ НАСЕКОМЫМИ ПО ДАННЫМ ДИСТАНЦИОННОГО ЗОНДИРОВАНИЯ

А.В. Ковалев¹, В.Г. Суховольский^{1,2*†}

¹ФИЦ КНЦ СО РАН,

Красноярск, Россия

² Институт леса им. В.Н.Сукачева СО РАН

Красноярск, Россия

Контроль и мониторинг состояния насаждений в лесах бореальной зоны крайне затруднителен в связи с размерами и труднодоступностью лесных территорий. Одним из основных факторов ослабления древостоев являются вспышки массового размножения насекомых. К сожалению, оценки по визуальным признакам (состоянию кроны, повреждениям стволов) появляются на поздних этапах повреждений, когда возможности управления состоянием этих насаждений становятся практически невозможными. Единственной реальной возможностью оценки состояния насаждений на больших площадях (таких, как таежные территории) является использование данных дистанционного зондирования Земли (ДЗЗ). В настоящий момент такие исследования используются в основном для определения нанесенного насекомыми ущерба.

В настоящей работе делается попытка перейти от количественных измерений биомассы растений по показателям абсолютных значений NDVI к оценке реакции фотосинтезирующего аппарата на изменения состояния окружающей среды. Входные и выходные параметры для такой модели могут быть получены одновременно по данным ДЗЗ и быть синхронизированы по времени и месту наблюдения.

В качестве индикатора состояния насаждений, предложено использовать показатель восприимчивости вегетативного индекса растительности в течение сезона (NDVI) к изменению радиационной температуры территории (LST), получаемые по спутниковым данным системы Terra/Aqua. Поскольку рост и состояние кроны деревьев существенно зависит от изменений температуры окружающей среды, то анализ связей между NDVI и LST позволит оценить адаптивный ресурс деревьев в насаждении. В этом случае связь изменений можно рассматривать как передаточная спектральная функция отклика в интегральном уравнении, где NDVI и LST представляют собой вход и выход системы.

Анализ проводился для двух опытных объектов. В первом случае исследовались пихтовые насаждения таежной зоны Красноярского края – территории, которые с 2015 г. повреждались гусеницами сибирского шелкопряда *Dendrolimus sibiricus* Tschetv. и соседние неповрежденные участки. Во втором случае, объектом исследования были горные пихтовые древостои в Ермаков-

* sunhi.prime@gmail.com

† © Ковалев А.В., Суховольский В.Г., 2021

ском районе на юге Красноярского края,. поврежденные в 2013 году черным пихтовым усачем *Monochamus urussovi* Fischer.

Показано, что показатель восприимчивости насаждения к изменениям окружающей среды на изучаемых пробных площадях значимо изменился за 2-3 года до реализации вспышки массового размножения вредителя и может в дальнейшем учитываться при оценке риска возникновения вспышек. Это отличает предложенный показатель от оценки состояния растительного покрова по NDVI, которая регистрирует существенную дефолиацию древостоев и не могут использоваться при прогнозе. Такой индикатор может улучшить прогнозы будущих повреждений и позволит заблаговременно разработать эффективные профилактические меры по снижению потерь в насаждениях.

Работа поддержана грантом РФФИ и ККФН № 19-44-240003, РНФ № 21-46-07005

ТОКСИЧНЫЕ, ПРООКСИДАНТНЫЕ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ. БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ МОНИТОРИНГ *IN VITRO*

Е.С. Ковель^{1,2,3*}, Л.С. Бондаренко⁴,
К.А. Кыдралиева⁴, Г.И. Джардималиева^{4,5}, Э. Илия⁶,
Э. Томбач⁶, А.С. Сачкова⁷, Н.Г. Внукова²,
ГН. Чурилов², А.Г. Кичеева³, Н.С. Кудряшева^{1,8†}

¹Институт биофизики СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия

²Институт физики СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия

³ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия

⁴Московский авиационный институт,
Москва, Россия

⁵Институт проблем химической физики РАН,
Черноголовка, Московская область, Россия;

⁶Университет Сегеда,
Сегед, Венгрия

⁷Национальный исследовательский Томский политехнический университет,
Томск, Россия

⁸Сибирский Федеральный университет,
Красноярск, Россия

В настоящее время синтез и применение наночастиц опережают исследования их свойств. Известно, что фуллеренолы (углеродные наночастицы) являются перспективной основой для разработки лекарственных препаратов, наночастицы магнетита (Fe_3O_4) широко используются в качестве адсорбентов для извлечения экотоксикантов из сточных и природных вод. В данной работе использовали физико-химический подход (в качестве модели применяли простой биотест на основе системы сопряженных ферментативных реакций, где тестовый параметр – интенсивность люминесценции), основанный на соотношениях “структура-функция”, который позволяет прогнозировать токсичные, прооксидантные и антиоксидантные свойства наночастиц. Эти соотношения могут быть полезны в дальнейших прикладных исследованиях.

Изучена биологическая активность ряда фуллеренолов (Ф) с различным числом кислородных заместителей [1], а также немодифицированных и модифицированных наночастиц магнетита (НМ) [2]. Нами было выявлено, что все Ф оказывали токсичное действие при высоких концентрациях, суспензии немодифицированного Fe_3O_4 оказывали ингибирующее действие при низких концентрациях, тогда как НМ с модифицированной поверхностью не влияли на

* kkovvel@yandex.ru

† © Ковель Е.С., Бондаренко Л.С., Кыдралиева К.А., Джардималиева Г.И., Илия Э., Томбач Э., Сачкова А.С., Внукова Н.Г., Чурилов ГН., Кичеева А.Г., Кудряшева Н.С., 2021

ферментативную активность. В условиях окислительного стресса (т.е. в растворах модельного окислителя – 1,4-бензохинона) Ф проявляли антиоксидантную активность в более низких и сверхнизких концентрациях, в то время как НМ не проявляли антиоксидантной активности, более того, НМ, модифицированные гуминовыми кислотами, проявляли дополнительную ингибирующую активность (т.е. прооксидантный эффект). Более низкая токсичность и более высокая антиоксидантная активность наблюдалась в растворах Ф с меньшим количеством кислородных заместителей.

Таким образом, биолюминесцентная ферментативная система является удобным инструментом для (1) отбора углеродных наночастиц надлежащей биологической активности и (2) оценки биодоступности ионов железа в природных водных дисперсиях магнетита, ферригидрита и др.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, Правительства Красноярского края и Красноярского краевого фонда науки в рамках научного проекта № 20-44-243001; РФФИ № 18-29-19003мк.

Список литературы

1. Kovel, E.S.; Sachkova, A.S.; Vnukova, N.G.; Churilov, G.N.; Knyazeva, E.M.; Kudryasheva, N.S. Antioxidant activity and toxicity of fullerenols via bioluminescence signaling: Role of Oxygen substituents. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20, 2324. DOI: 10.3390 / ijms20092324.
2. Bondarenko L.S., Kovel E.S., Kydraliev K.A., Dzhardimalieva G.I., Illé E., Tombácz E., Kicheeva A.G., Kudryasheva N.S. Effects of modified magnetite nanoparticles on bacterial cells and enzyme reactions. *Nanomaterials*. 2020. Vol. 10, № 8, 1499. DOI: 10.3390/nano10081499.

РАДИОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ В РАСТВОРАХ БЕТА-ИЗЛУЧАЮЩЕГО РАДИОНУКЛИДА ТРИТИЯ

О.В. Колесник^{1*}, Т.В. Рожко²,
Г.А. Бадун³, Н.С. Кудряшева^{1,4†}

¹*Институт биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия,*

²*Красноярский государственный медицинский университет
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого,
Красноярск, Россия,*

³*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, Россия,*

⁴*Сибирский федеральный университет,
Красноярск, Россия*

В связи с расширением районов с радиоактивными загрязнениями представляет особый интерес изучение низкодозовых биологических эффектов. Продукты радиоактивного распада могут воздействовать на сопряженные химические и биологические процессы в природных экосистемах, что сопровождается изменением баланса экосистемы в целом.

Тритий является одним из распространённых продуктов радиационного распада радиоактивных изотопов, использующихся в атомной промышленности, и считается одним из менее опасных радионуклидов. Несмотря на то, что энергия трития мала, попадая в ткани, он создает ионизацию среды. Распад трития приводит к нарушению генетических, эпигенетических и биохимических процессов в клетках.

Водные микроорганизмы – удобные инструменты для изучения биологических откликов в сложных растворах. Микробиота водных растворов может быть чувствительна к присутствию гуминовых веществ (ГВ). ГВ – продукты естественной трансформации органики в почве, водных отложениях, основной компонент плодородного слоя почв, полимерные полифункциональные соединений нерегулярного состава. Изучение воздействий низкоинтенсивного радиационного излучения в присутствии ГВ формирует основу для прогнозирования реакции живых организмов на больших территориях, загрязненных радионуклидами после аварий, сбросов атомных станций или подземной разработки природных ресурсов.

Морские люминесцентные бактерии являются оптимальным одноклеточным биотестовым объектом для изучения низкодозового воздействия на водные микроорганизмы. Физиологическая активность бактерий оценивается по интенсивности их биолюминесценции. Люминесцентные бактериальные биотесты

* OV.Kolesnik@yandex.ru

† © Колесник О.В., Рожко Т.В., Бадун Г.А., Кудряшева Н.С., 2021

дают количественную меру токсичности и часто превосходят другие биотесты по бысродействию, точности, чувствительности и простоте.

Известно, что метаболическая активность бактерий связана с продукцией ими активных форм кислорода (АФК). Различные воздействия на бактериальную культуру, включая низкодозовую радиацию, способны изменять производство АФК.

Образцы бактериальной суспензии готовили из лиофилизированных препаратов бактерий по стандартной методике; для имитации морской среды и балансировки осмотических процессов использовали 3 % раствор NaCl.

В качестве источника трития использовали тритиевую воду (НТО). НТО добавляли к растворам 3 % NaCl и смешивали с бактериальными суспензиями до конечных удельных радиоактивностей: 2, 50 и 200 МБк/л.

В качестве источника ГВ использовали препарат Гумат-80, («Гумат», Иркутск, Россия), полученный методом безэкстракционной обработки угля. Выбранная концентрация ГВ составляла 10^{-3} г/л.

Измерения интенсивности биолюминесценции и хемилюминесценции проводили с помощью планшетного люминометра Luminoskan Ascent (Thermal Fisher Corp.).

Биолюминесцентный отклик морских бактерий на воздействия трития соответствовал модели «гормезиса»: он включал стадии ингибирования и активации биолюминесценции, а также отсутствие эффекта. Показано, что присутствие ГВ в растворе снижает ингибирующие и активирующие эффекты трития. Выявлены корреляции между интенсивностью биолюминесцентного свечения и содержанием АФК в бактериальной суспензии в присутствии трития.

Результаты демонстрируют важную роль ГВ в природных процессах в регионах с низким уровнем радиоактивного загрязнения: ГВ могут смягчать радиационные эффекты, влияющие на микроорганизмы, выполняя радиопротекторную функцию.

ФЛУКТУИРУЮЩАЯ АСИММЕТРИЯ ЛИСТЬЕВ НУТА КАК ТЕСТ-РЕАКЦИЯ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ИОНОВ ЦИНКА И СВИНЦА

И.С. Коротченко^{*†}

*Красноярский государственный аграрный университет,
Красноярск, Россия*

Состояние окружающей среды как среды обитания определяется комплексом факторов (природно-компонентный состав, климат, ландшафтные особенности, поступление примесей) и может быть охарактеризовано химическими, физическими и биологическими параметрами. В настоящее время применяется измерение флуктуирующей асимметрии (ФА) как морфогенетическую меру нарушения стабильности развития, и как результат неспособности организма развиваться по точно определенным параметрам [1, 2].

Флуктуирующая асимметрия листа широко применяется исследователями для оценки качества среды [3, 4, 5], но в тоже время изучению влияния отдельных экотоксикантов на стабильность развития листа, например, тяжёлых металлов, посвящено меньшее количество исследований [6, 7].

Цель работы – оценка влияния цинка и свинца на стабильность развития листа нута в экспериментальных условиях.

Оценку влияния тяжелых металлов проводили на базе научной лаборатории кафедры экологии и природопользования ФГБОУ ВО Красноярского ГАУ. В исследовании использовали метод фитофильтрации, лабораторный эксперимент по выращиванию растений проводили методом гидропоники. Тяжелые металлы вносили в виде солей в пересчете на чистый металл – $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ в концентрациях 10 ПДК (10 и 0,1 мг/л соответственно), взятых согласно ГН 2.1.5.1315-03. В сосуды объемом 350 мл добавляли раствор минерального удобрения для гидропоники Etisso, 1 раз в неделю производили подкормку растений. Растения нута сорта Краснокутский 36 выращивали в течение 4 – х недель. В каждом из трех вариантов опыта выращивали по 100 растений (20 сосудов на вариант – по 5 растений в каждом сосуде).

Для анализа использовали свежие листья, изображения сканировали с разрешением 300-400 dpi. В каждом варианте анализировали по 100 листовых пластинок нута, срезали крупные, с чётким рисунком жилок пластинки.

На листовых пластинках нута изучали по пять признаков с левой и правой половинок листа [8]. Величину ФА каждого признака листовой пластинки вычисляли как модуль разности значений признака слева и справа, отнесённый к сумме этих значений. Далее величину ФА листовой пластинки нута оценивали с помощью интегрального показателя – относительного различия между сторонами листа, осредненного по совокупности признаков, ФА всех листовых пла-

^{*} kisaspi@mail.ru

[†] © Коротченко И.С., 2021

стинок с одного варианта эксперимента как среднее арифметическое значений асимметрии всех измеренных листьев с данного варианта.

В результате исследования выявили, что в наибольшей степени проявление асимметричного развития листовых пластинок наблюдалось в варианте с внесением цинка в дозе 10 ПДК.

Во всех вариантах эксперимента у листьев нута в наибольшей степени отклонения наблюдаются по двум признакам: ширина половинок листовой пластинки ($\Phi A=0,083-0,098$) и длина второй от основания жилки второго порядка ($\Phi A=0,064-0,075$). По другим признакам: расстояние между первой и второй жилками у основания, расстояние между концами первой и второй жилками, угол между главной жилкой и второй от основания листа жилкой, развитие асимметрии было на уровне $0,034-0,041$ (рис. 1).

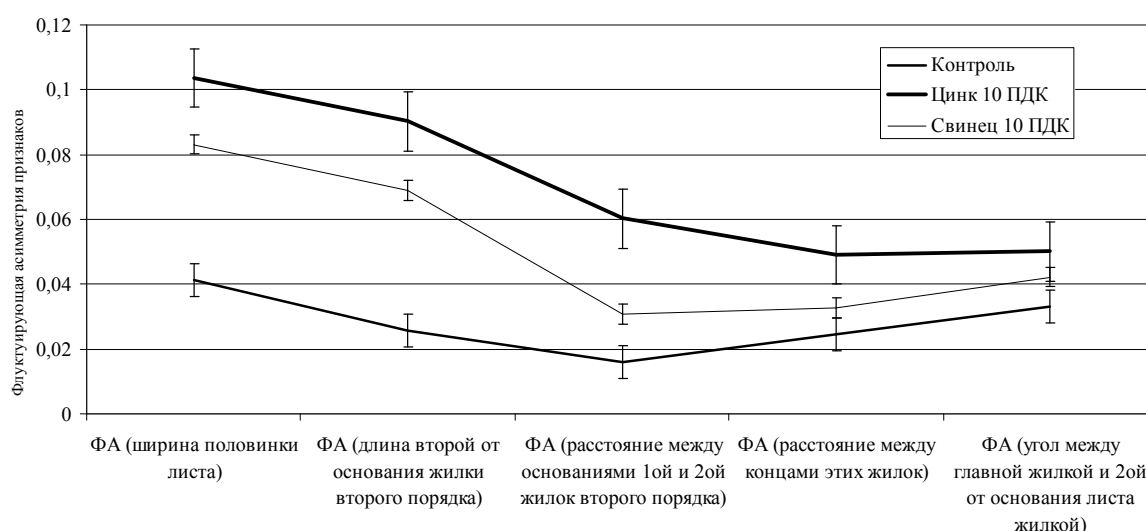


Рис. 1. Флуктуирующая асимметрия признаков листовой пластинки нута в условиях загрязнения среды тяжелыми металлами

Значение интегрального показателя ФА позволяет судить о наибольшем нарушении стабильности развития листа нута в условиях загрязнения ионами цинка, чем свинца (рис. 2).

Данное явление согласуется с ранее нами установленным, о том, что ионы свинца оказывают меньшее ингибирующее воздействие на всхожесть семян, морфометрические параметры и содержание фотосинтетических пигментов растений нута, чем ионы цинка [9].

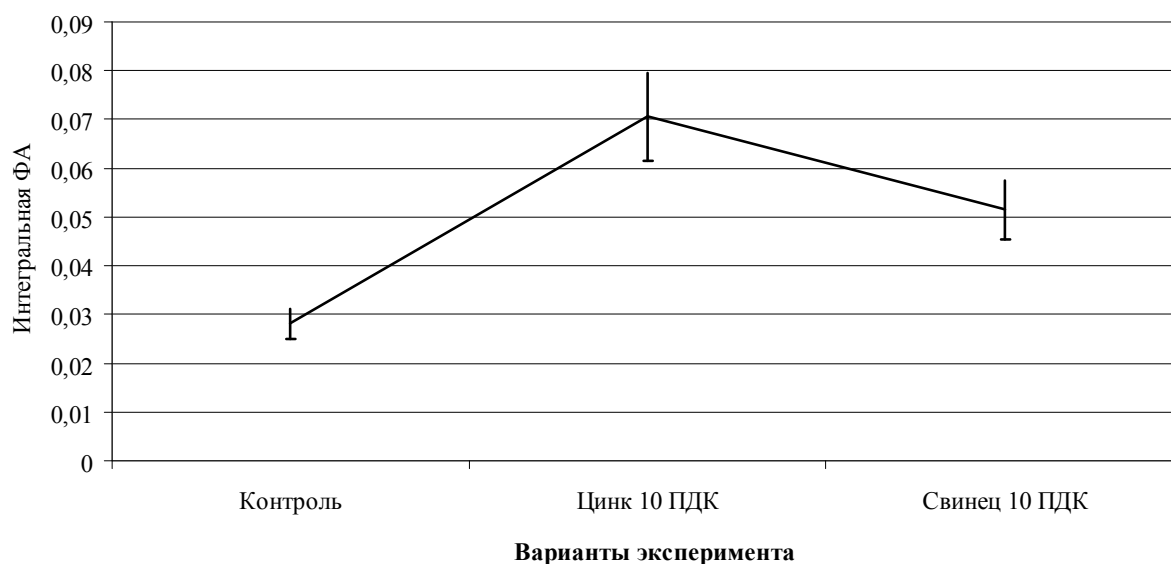


Рис. 2. Интегральный показатель асимметрии признаков листовой пластинки нута в условиях загрязнения среды цинком и свинцом

Также результаты проведенного корреляционного анализа показали, что между параметрами: ширина половинок листовой пластинки и длина второй от основания жилки второго порядка существует очень слабая корреляция ($R = 0,12$; $p < 0,05$). Значит, вероятность согласованного изменения данных показателей незначительна, изменения произошли случайно (вследствие флуктуаций).

Таким образом, показатели флуктуирующей асимметрии параметров: ширина половинок листовой пластинки и длина второй от основания жилки второго порядка листовой пластинки нута могут быть применены в качестве тест-реакций растений на воздействие ионов цинка и свинца.

Список литературы

1. Коротченко И.С. Биоиндикация загрязнения районов г. Красноярска по величине флуктуирующей асимметрии листовой пластинки вяза приземистого. Вестник КрасГАУ. 2015. № 11 (110). С. 67–72.
2. Коротченко И.С., Алексеева А.Н. Флуктуирующая асимметрия хвои *Pinus sylvestris* L. как биоиндикационный показатель загрязнения природных сред города Красноярска. Вестник Оренбургского государственного педагогического университета. 2021. № 2 (38). С. 27–38.
3. Наумова А.А., Стрельцов А.Б. Исследование загрязнения окружающей среды методом фитоиндикации. Проблемы трансформации естественных ландшафтов в результате антропогенной деятельности и пути их решения: сб. науч. тр. по материалам Междунар. науч. экол. конф. Краснодар: КубГАУ, 2021. С. 642–645.
4. Коротченко И.С., Лебедев Н.А., Первышина Г.Г., Кондратюк Т.А., Медведева В.А. Влияние выбросов тепловых электростанций красноярского

края на стабильность развития тополя бальзамического. Успехи современного естествознания. 2020. № 10. С. 85–90.

5. Shadrina E., Turmukhametova N., Soldatova V., Vol'pert Y., Korotchenko I., Pervyshina G. Fluctuating asymmetry in morphological characteristics of *Betula pendula* Roth leaf under conditions of urban ecosystems: evaluation of the multi-factor negative impact // Symmetry. 2020. Т. 12. № 8. С. 1–35.

6. Ерофеева Е.А. Стабильность развития листа *Pisum sativum* L. при действии формальдегида в широком диапазоне доз. Онтогенез. 2012. Т. 43. № 5. С. 320–324.

7. Ерофеева Е.А. Влияние свинца на флуктуирующую асимметрию листа гороха посевного (*Pisum sativum* L.). Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2014. № 1 (1). С. 162–165.

8. Захаров В.М., Баранов А.С., Борисов В.И., Валецкий А.В., Кряжева Н.Г., Чистякова Е.К., Чубинишвили А.Т. Здоровье среды: методика оценки. М.: Центр экологической политики России. 2000. 68 с.

9. Медведева В.А., Коротченко И.С. Оценка возможности применения нута для очистки среды от тяжелых металлов. Вестник КрасГАУ. 2020. № 10 (163). С. 88–94.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ФЕРМЕНТАТИВНОГО БИОТЕСТА ДЛЯ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

Т.С. Котова, Е.М. Колосова,
В.А. Кратасюк, Е.Я. Мучкина, Н.В. Мазняк^{*†}

ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет»,
Красноярск, Россия

Биологические объекты способны накапливать токсичные соединения и элементы из среды обитания. Процесс биопоглощения токсичных элементов и веществ приводит к их аккумуляции в биотелах, в следствии чего биомасса приобретает свойства токсичности. Широко распространён сбор населением дикорастущих растений и грибов, но при этом отсутствует контроль по безопасному уровню содержания токсикантов в сырье, предназначенном для употребления в пищу. Особую актуальность приобретает разработка и применение экспресс-методов для определения токсичности продовольственных ресурсов и компонентов среды их произрастания [1-7].

Целью исследования являлась оценка токсичности базидиальных грибов и почвенного покрова рекреационной зоны урбанизированной территории г. Красноярска.

Экспериментальными участками были выбраны полезащитные лесополосы осинника на территории г. Красноярска вблизи посёлка Овинный 1. 56°02'30.2"N 92°41'01.6"E, 2. 56°02'28.0"N 92°41'03.0"E (У1 и У2 соответственно). Исследовали образцы почвенного покрова и плодовых тел базидиомицетов: ПУ1, ПУ2 – подосиновика обыкновенного (*Leccinum aurantiacum*) и ГУ1, ГУ2 – груздя осинового (*Lactarius controversus*).

Комплексный ферментативный биотест при изучении образцов почвы выявил значительное гашение биолюминисценции, при этом различия между двумя участками – незначительные. Анализ образцов с применением комплексного ферментативного биотеста [6, 7] показал уровень сильного загрязнения во всех исследуемых районах, что может быть вызвано накоплением тяжёлых металлов [8, 9] (рис. 1).

Комплексный ферментативный биотест показал сильное загрязнение изучаемых образцов почвы и базидиальных грибов.

Проведённая атомно-абсорбционная спектрометрия показала повышенное содержание меди в образцах базидиомицетов, содержание исследуемых тяжёлых металлов в почве не превышало ПДК (Табл. 1).

* Bordo_krs@mail.ru

† © Котова Т.С., Колосова Е.М., Кратасюк В.А., Мучкина Е.Я., Мазняк Н.В., 2021

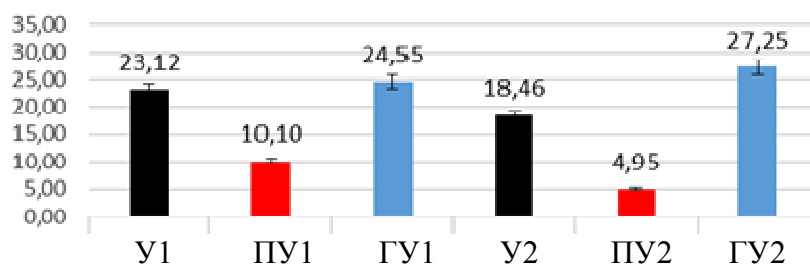


Рис. 1. Остаточное свечение (Т, %) водных вытяжек почвы, плодовых тел подосиновика обыкновенного и груздя осинового

Таблица 1

Содержание подвижных форм Cu, Pb, Cr в образцах почвенного субстрата и пробах базидиомицетов

Содержание тяжёлых металлов мкг/г						
	Участок 1			Участок 2		
	Cu	Pb	Cr	Cu	Pb	Cr
Почва	0,98	0,95	0,17	1,66	1,44	0,18
Подосиновик обыкновенный (<i>Leccinum aurantiacum</i>)	43,6	н/о	н/о	82,45	н/о	н/о
Груздь осиновый (<i>Lactarius controversus</i>)	20,4	н/о	н/о	15,75	н/о	н/о

Использование комплексного ферментативного биотеста в целях объективной оценки токсичности базидиальных грибов перспективно, но требует дальнейшего изучения.

Список литературы

1. Воршева А. В., Байбеков Р. Ф., Белопухов С. Л., Кауфман А. Л. Грибы как биоиндикаторы экологического состояния окружающей среды // Концепции устойчивого развития науки в современных условиях: сборник статей Международной научно-практической конференции (09 сентября 2019 г., г. Самара). – С. 23-25.
2. Гордеева И. В. Аккумуляция ионов тяжёлых металлов базидиальными грибами: проблемы и особенности // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук 2015., № 11 С. 20-25.
3. Иванов А. И., Костычев А. А., Скобанев А. В. Аккумуляция тяжёлых металлов и мышьяка базидиомами макромицетов различных эколого-трофических и таксономических групп // Поволжский экологический журнал. 2008. № 3. С. 190-199.
4. Красников А. В., Селихова В. С., Красникова Е. С. Аккумуляция тяжёлых металлов дикорастущими и культивируемыми грибами (обзор) // «Инновации и продовольственная безопасность» № 1(31)/2021. С.61-66.
5. Мучкина Е. Я., Бадмаева С. Э., Коротченко И. С., Горлушкина К. С. Анализ распределения подвижных форм тяжёлых металлов в почвенном покрове

ве промышленно урбанизированной территории г. Красноярска // Экология и промышленность России. 2020. т. 24. № 4. С. 66-71.

6. Esimbekova E., Kratasyuk V., Shimomura O. Application of Enzyme Bioluminescence in Ecology // Biochem. Eng. Biotechnol. 2014. V. 144. P. 67-109.

7. Байгина Е. М. Анализ возможности применения биолюминесцентных ферментативных биотестов для оценки загрязнения почв (на примере почв г. Красноярска) [Электронный ресурс]. 2017. т. 21. Режим доступа: http://izvestia_bio.isu.ru/ru/index.html.

8. Коротченко И. С., Мучкина Е. Я. Тяжёлые металлы в почвенном покрове и древесных растениях урбанизированной территории города Красноярска // Экология урбанизированных территорий. 2017. № 2. С. 6-11.

9. Коротченко И. С., Мучкина Е. Я. Тяжёлые металлы в техногенных поверхностных образованиях Красноярской агломерации // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 4. С. 224.

БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ БИОТЕСТЫ ДЛЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА И ОБРАЗОВАНИЯ

В.А. Кратасюк^{1,2*†}

¹*Сибирский федеральный университет,
Красноярск,*

²*Институт биофизики СО РАН,
Красноярск,*

Исторически применение биолюминесценции в токсикологии началось с использования светящихся бактерий, и они до сих пор широко используются. В отличие от классических тестируемых объектов, таких как парameции, водоросли, дафнии и т.п., анализ в биотестах на светящихся бактериях происходит быстрее (<30 мин). Однако, как и в случае других организмов, светящиеся бактерии имеют много недостатков, связанных с использованием живых объектов. Так, трудности поддерживать стабильное состояние бактериальной культуры во время измерений и при хранении приводят к низкой точности измерения. При этом реакция бактерий на токсичные вещества неоднозначна и выражается как в уменьшении, так и в увеличении интенсивности светоизлучения, что часто приводит к неоднозначной интерпретации результатов. Из-за этих недостатков биотест на светящихся бактериях также не дает надежных результатов. Для решения проблем ферментативного анализа и биотестирования предлагается новый подход к разработке ферментативных биосенсоров, а также биотестов на токсичность. В противовес методам химического анализа, которые занимаются поиском в окружающей среде известных загрязнителей и токсичных веществ и сравнивают их концентрацию с ПДК, предлагаются методы ферментативного биотестирования, позволяющие решить проблему обнаружения неизвестных многочисленных химических соединений в окружающей среде, пищевых продуктах и др. объектах. Ферментативные биотесты дают интегральную оценку качества или загрязнения анализируемой среды и, также же как классические биотесты, показывают влияние вредных веществ на функции живых организмов (рыбы, водоросли, растения, дафнии, бактерии и т.д.), но в качестве тест-объекта используют ферментативные реакции, отвечающие за биологические функции, например, дыхание, подвижность и т.д. Предложена новая методология комплексного ферментативного биотеста, предусматривающая замену живых организмов, используемых в качестве тест-систем в биотестах, на набор репрезентативных ферментативных систем, составляющих комплексный ферментативный биотест. Каждая из ферментативных систем моделирует, как правило, одну ключевую функцию организма. Выявлены принципы выбора ферментных систем исходя из задач исследования. Определены составы такого теста для исследования загрязнения городских и сельскохозяйственных почв,

* valkrat@mail.ru

† © Кратасюк В.А., 2021

на основе специфического действия токсикантов на ферменты. Была разработана методология получения иммобилизованных реагентов «Энзимоллюм», содержащих в своем составе ферменты и их субстраты для проведения одного измерения, по сути являющихся биологическим модулем биосенсора. Предлагаемые подходы обеспечивают ферментативным биотестам ценовые преимущества, универсальность, высокую чувствительность и точность, быстрый отклик, а реагенты обладают стабильностью и увеличенным сроком хранения. Была разработана экспериментальная ферментативная модель организма (ФМО) как новый комплексный биотест для оценки качества почвы. ФМО используется также для мониторинга природных и промышленных водных экосистем, загрязнения воздуха, а также для анализа качества пищевых продуктов, разнообразных материалов, включая наноматериалы.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 16-14-10115.

ИНДУКЦИЯ АПОПТОЗА В КЛЕТКАХ АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА ПРИ ИНКУБАЦИИ С МАГНИТНЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ

С.В. Лисак¹, О.В. Крюкова^{2*†}

¹*Сибирский федеральный университет,*

Красноярск, Россия

²*ФИЦ КНЦ СО РАН,*

Красноярск, Россия

В последние годы активно развиваются наномедицина и нанофармация, разрабатывающие механизмы доставки лекарственных веществ, новые методы лечения на наноразмерном уровне. Особое место среди наноразмерных материалов, применяемых для диагностических и терапевтических целей, занимают наночастицы оксида железа. Оценка их влияния на клетки является особенно важной задачей

К основным параметрам взаимодействия наночастиц с биологическими объектами – организмами или клетками, помимо характеристик их прохождения или проникновения в те или иные среды, также можно отнести токсичность. Наночастицы могут инициировать различные клеточные реакции: клеточную пролиферацию, нарушение клеточного цикла, апоптоз и некроз.

Апоптоз – обязательный компонент жизни многоклеточных организмов: их развития, нормального функционирования и осуществления регуляторных процессов. Это естественная клеточная гибель, которая служит одним из механизмов освобождения организма от необратимо поврежденных или потенциально канцерогенных клеток. Апоптоз является результатом запрограммированных внутриклеточных процессов, сопровождается сморщиванием клеток, и представляет собой активную гибель, обусловленную физиологическими сигналами, передаваемыми с мембранных рецепторов в ядро.

Понимание динамики клеточной гибели в сочетании с динамикой клеточного цикла может пролить свет на изучение различных видов клеточного поведения и управление этими процессами с помощью наночастиц.

Целью работы является оценка воздействия наночастиц магнетита и ферригидрита, покрытых арабиногалактаном, на жизнеспособность клеток асцитной карциномы Эрлиха.

В работе использовали лабораторных мышей аутбредной популяции ICR с привитой экспериментальной опухолью – асцитной карциномой Эрлиха (АКЭ). Суспензию АКЭ извлекали из перитонеальной полости животных в стационарной фазе роста (10 сутки) и делили на группы: 1 – контроль, 2 – инкубация АКЭ с наночастицами магнетита, покрытыми арабиногалактаном, 3 – инкубация с наночастицами ферригидрита, покрытыми арабиногалактаном.

* SofkaLiss@yandex.ru

† © Лисак С.В., Крюкова О.В., 2021

Наночастицы получали методом химического осаждения в присутствии раствора гидроксида аммония при ультразвуковой кавитации.

Методом проточной цитометрии определяли число жизнеспособных клеток, клеток находящихся на стадии апоптоза и некроза. Для оценки проницаемости цитоплазматической мембраны использовали флуоресцирующие ДНК-связывающие красители, такие как йодид YO-PRO-1 и йодистый пропидий (PI).

На рисунке приведено графическое изображение отличий между группами. Можно видеть, что на рисунке 1(а) и 1(в) группы ферригидрита и магнетита незначительно отличаются от контроля по значению среднего и медианы, однако группа ферригидрита на рисунке 1(б) отличаются по обоим параметрам.

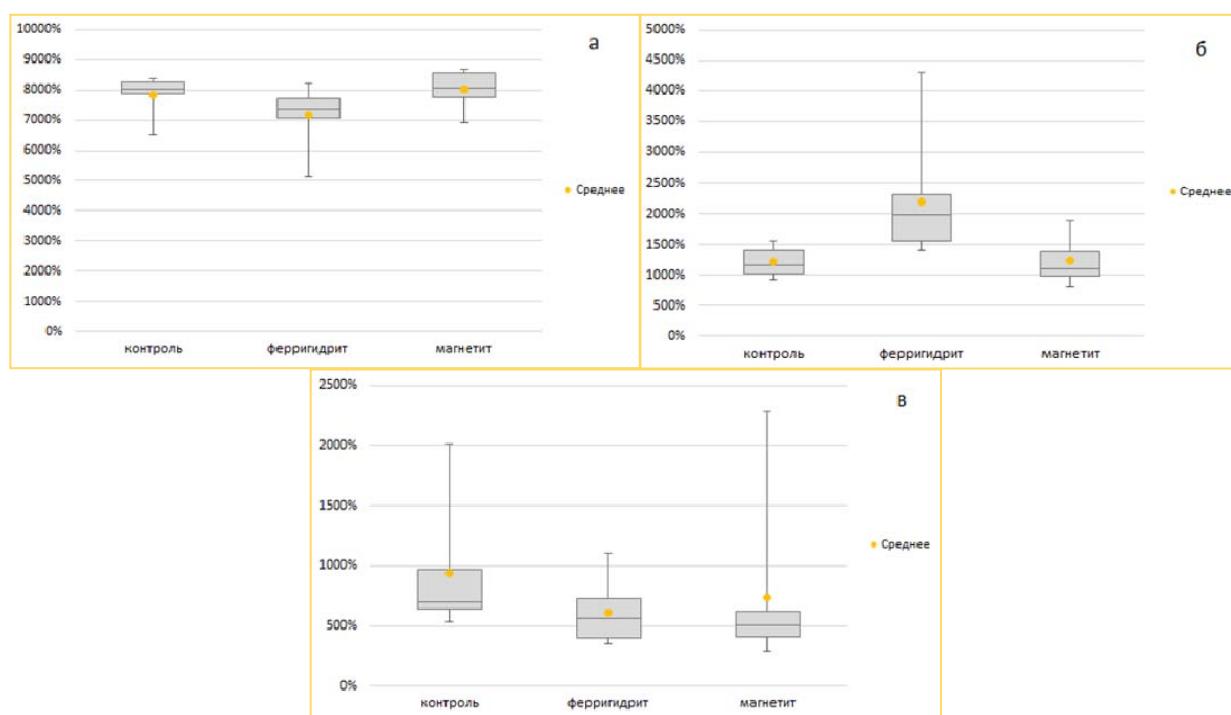


Рис. Статистические данные цитометрического анализа жизнеспособности клеток.
а) живые клетки; б) ранний апоптоз; в) апоптоз/некроз

В ходе работы было получено, что наночастицы ферригидрита, покрытые арабиногалактаном, вызывают индукцию апоптоза в клетках асцитной карциномы Эрлиха.

STRUCTURE OF BIOCHAR AS AFFECTED BY BIOMASS FEEDSTOCK AND PYROLYSIS CONDITIONS

**I.P. Lobzenko^{1*}, M.V. Burachevskaya¹, M. Mazarji¹,
T.V. Bauer, S.S. Mandzhieva¹, S.N. Sushkova¹,
T.M. Minkina¹, A.V. Soldatov¹, V.V. Butova¹,
Y.V. Popov¹, Mikhail Kirichkov^{1†}**

*¹The Southern Federal University,
Rostov on Don, Russia*

The nature-based solutions framework of the United Nations recommends adopting viable solutions inspired by nature to reduce the adverse effects associated with climate change. In this framework, biochar derived from different feedstock sources fits perfectly to tackle the many environmental challenges. Herein, the paper compares the properties of biochar made from various sources, including wood, sunflower, and rice husk. In this regard, biochar is produced from the pyrolysis procedure at the same pyrolysis time and temperature. The series of qualitative and quantitative analyses such as XRD, FTIR, TGA, N₂ adsorption and desorption, specific surface area, 3D confocal microscopy, SEM, and elemental are considered to compare the results based on the sources. The results obtained from the elemental analysis showed that there are no heavy metals in any of the samples. Moreover, it was found silicon oxide is presented in rice husk. It was found that the total volume of pores in the following descending order rice husk>wood>sunflower. In addition, the total surface area of the wood biochar and rice husk biochar is found to be highest and lowest, respectively. The SEM and 3D confocal microscopy results indicate that wood biochar contains the surface with the most upside-down as compared to other samples. The XRD demonstrated that wood and sunflower husk biochar samples take crystallinity from cellulose compared to rice husk biochar. The TGA results manifested that the wood biochar is more stable, and the new step as the decomposition of lignin part results by increasing the temperature up to 500 °C. The Ash content of rice husk is higher than wood and sunflower husk. This study highlighted the importance of starting materials necessary for producing engineered biochar for different target applications and purposes

* lobzenko@sfedu.ru

† © Lobzenko I.P., Burachevskaya M.V., Mazarji M., Bauer T.V., Mandzhieva S.S., Sushkova S.N., Minkina T.M., Soldatov A.V., Butova V.V., Popov Y.V., Kirichkov Mikhail, 2021

БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ПРОКАРИОТИЧЕСКИХ И ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ ЖИВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ МЕМБРАНО-AКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Г.Ю. Ломакина^{1,2}, Н.Н. Угарова^{1*}

¹ *Московский государственный университет*

имени М.В. Ломоносова, химический факультет,

² *Московский государственный технический университет*

имени Н.Э. Баумана;

Тест-системы на основе живых прокариотических и эукариотических **клеток** весьма чувствительны к внешним воздействиям, что позволяет их применять для **оценки токсических эффектов химических веществ, скрининга лекарственных средств, изучения** функционирования организмов в условиях клеточного стресса различной природы. Высокочувствительные **биолюминесцентные методы детекции могут использоваться в режиме реального времени без разрушения клеток**. Достоинством биолюминесцентных методов является отсутствие фонового сигнала и простота детекции – они не требуют источника возбуждающего излучения. Особый интерес представляет биолюминесцентная система светляков, в основе которой лежит катализируемая люциферазой реакция окисления D-люциферина кислородом воздуха в присутствии АТФ и ионов магния, в ходе которой наблюдается стабильное во времени свечение. Клетки, продуцирующие люциферазу светляков (так называемые биолюминесцентные клетки), содержат два биолюминесцентных маркера: АТФ и люциферазу и перспективны при изучении эффекта различных физиологически активных агентов на живые системы.

В данной работе разработана тест-система на основе рекомбинантных клеток *E.coli* BL-21 (DE3) Codon Plus, экспрессирующих термостабильную (TS) люциферазу *Luciola mingrelica*, что позволяет проводить исследования при повышенных температурах. Показана эффективность использования тест-системы для изучения механизма действия мембрано-активных соединений на живые клетки по изменению содержания АТФ и люциферазы внутри и вне клеток на примере действия катионного полипептидного антибиотика полимиксина Е (колистина). Накопление внеклеточной люциферазы однозначно свидетельствует о протекании необратимого разрушения клеток при повреждении мембраны. Уровень внеклеточного АТФ_{ex} также является информативным индикатором изменения проницаемости клеточной мембраны как в ходе роста клеток, так и под действием литического агента, вызывающего вытекание внутриклеточного АТФ_{in} во внеклеточное пространство. Обнаружено, что более сильный бактерицидный эффект колистин оказывает на растущие, метаболически активные клетки, в то время как клетки, лишенные питания, оказываются более ус-

* © Ломакина Г.Ю., Угарова Н.Н., 2021

тойчивыми к действию антибиотика. В отсутствие колистина ATP_{ex} составляет ~7 % от ATP_{in} , концентрация Luc_{ex} также мала, что свидетельствует о целостности клеточной мембраны. При инкубации клеток в питательной среде с колистином ATP_{ex} возрастает всего до 20-30 % от исходной величины ATP_{in} . Скорость снижения уровня ATP_{in} в три раза выше, чем скорость накопления ATP_{ex} и падение ATP_{in} происходит не за счет высвобождения АТФ через образующиеся поры во внеклеточное пространство, а за счет утилизации внутри клетки и остановки его синтеза. По-видимому, колистин проникает в периплазматическое пространство микробной клетки и разрушает систему синтеза АТФ. Отмечено, что ATP_{in} вне клеток сохраняется в суспензии и после полной гибели клетки. Следовательно, во внеклеточном пространстве отсутствуют ферменты, гидролизующие АТФ.

Клетки линии НЕК293, транзистентно трансфицированные плазмидой pсDNALuc, экспрессирующей люциферазу светляков, были использованы для изучения кинетики взаимодействия мембраны клеток с дигитонином (монодесмоидный сапонин) и его аналогов по высвобождению внутриклеточных компонентов – АТФ и люциферазы, в реакционную среду в режиме реального времени. Под действием дигитонина, образующего комплексы с холестерином клеточной мембраны, приводит к дезинтеграции ее структуры и образованию пор. Показано, что дигитонин наиболее токсичен для клеток при концентрации 0,08 мМ и выше, когда в течение нескольких десятков секунд достигается максимальная концентрация высвобождаемых компонентов, а на кинетических кривых исчезает период индукции. Диосцин – аналог дигитонина, взятый в той же концентрации, начинает действовать значительно позже, и биолуминесцентный сигнал появляется через 30 мин. Уменьшение числа углеводных циклов в молекуле сапонина привело к снижению его литической активности. Наличие объемного заместителя в агликоновой части молекулы протодиосцина препятствует связыванию стероидальной составляющей с мембраной и он не оказывает действия на клетки НЕК293.

Таким образом, разработанная биолуминесцентная тест-система на основе живых клеток с использованием низкомолекулярного маркера АТФ и высокомолекулярной люциферазы, позволяет в режиме реального времени изучать *in situ* процессы изменения проницаемости клеточных мембран на ранних стадиях процесса лизиса клеток под действием литических агентов.

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ РЕАГЕНТ НА ОСНОВЕ ИММОБИЛИЗОВАННОЙ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

В.И.Лоншакова-Мукина^{1*},
Е.Н. Есимбекова^{2,1}, В.А. Кратасюк^{1,2†}

¹Сибирский федеральный университет,
Красноярск, Россия

²Институт биофизики СО РАН,
Красноярск, Россия

В настоящее время широко используется спектр аналитических систем на основе холинэстераз для экспрессной оценки токсичности экосистем различной сложности. Связано это в первую очередь с их высокой чувствительностью и селективностью определения ингибиторов. Тем не менее, практическое использование любых ферментативных методов контроля объектов окружающей среды на сегодняшний день остается весьма ограниченным. И связано это не столько с отсутствием нормативной базы их применения, сколько с проблемами стабильности аналитического сигнала и низкой селективности определения ингибиторов в многокомпонентных средах [1]. Более того, ферменты неустойчивы при различных воздействиях: повышенных температурах, экстремальных значениях pH и т.д. [2]. Для более широкого использования холинэстераз в методах экологического биотестирования, оценки качества воды, воздуха и почвы необходимо получение реагентов, сочетающих стабильность при хранении и использовании с чувствительностью к действию ингибирующих веществ на уровне ПДК.

Целью данной работы является стабилизация бутирилхолинэстеразы (BChE) путем её совместной иммобилизации с 5'5-дитиобис (2-нитробензойной кислотой) в гели на основе природных полимеров.

Иммобилизацию BChE в крахмальный гель проводили следующим образом: в суспензию крахмала или желатина, охлажденную до температуры 25 °С, последовательно вносили фермент и 5'5-дитиобис (2-нитробензойную кислоту). Полученную смесь тщательно перемешивали. Далее, при помощи автоматической станции пробоподготовки epMotion 5075 фирмы «Eppendorf» (Германия) дозировали по 25 мкл смеси на лавсановую пленку и высушивали при температуре 8 °С в течение 24 часов. Активность BChE определяли по методу Элмана [3]. Регистрацию оптической плотности раствора проводили при длине волны 412 нм. По изменению оптической плотности во времени вычисляли скорость гидролиза субстрата S-бутирилтиохолина йодистого (S-BChI) растворимой и иммобилизованной BChE, по полученным результатам делали вывод об активности иммобилизованных реагентов. В ходе работы были получены реагенты с различным содержанием BChE и индикатора на тиоловую группу –

* viktoriya.lww@gmail.com

† © Лоншакова-Мукина В.И., Есимбекова Е.Н., Кратасюк В.А., 2021

5'5-дитиобис (2-нитробензойной кислоты) (реактив Элмана) в крахмальных и желатиновых носителях. Реагент представляет собой высушенный диск диаметром 6-7 мм, сухой вес $1,5 \pm 0,2$ мг.

На графике 1 видно, что при включении ВChЕ как в крахмальный, так и в желатиновый гель активность фермента сохраняется. Внесение в состав реагента 5'5-дитиобис (2-нитробензойной кислоты) не приводит к существенной потере активности реагентов на всем исследуемом диапазоне концентраций. Таким образом, как крахмальный, так и желатиновый гель могут использоваться в качестве носителя для получения иммобилизованных реагентов на основе ВChЕ.

Далее исследовали стабильность при хранении реагентов, представляющих собой ВChЕ, иммобилизованную совместно с реактивом Элмана в крахмальный и желатиновый гели. Показано, что реагенты отличаются длительным сроком хранения без потери активности. Так, активность реагентов, содержащих 0,11 U ВChЕ и 0,2 мМ индикатора, не изменяется при хранении в течение не менее 300 суток.

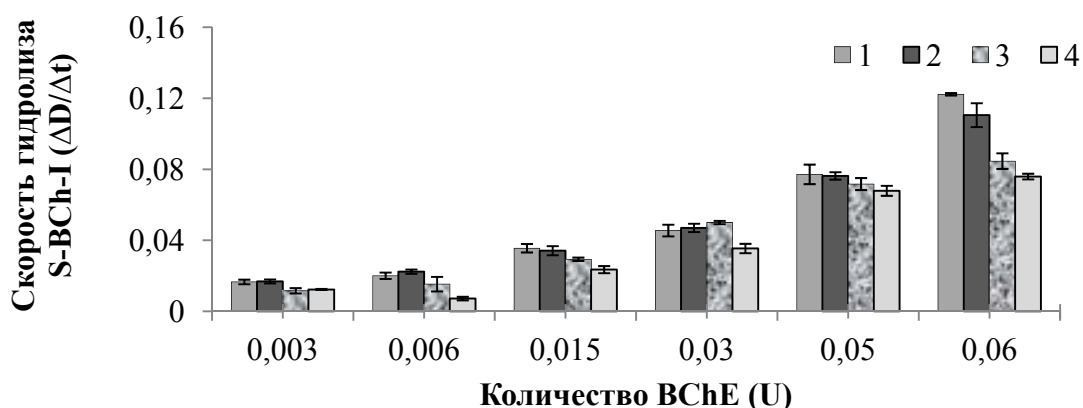


График 1 – Зависимость скорости гидролиза S-BCh-I от количества ВChЕ.

1 – растворимая ВChЕ, 2 – ВChЕ, иммобилизованная в крахмальный гель, 3 – ВChЕ, иммобилизованная совместно с реактивом Элмана в крахмальный гель, 4 – ВChЕ, иммобилизованная совместно с реактивом Элмана в желатиновый гель

Для исследования чувствительности полученных реагентов к действию фосфорорганических соединений (ФОС) в качестве модельных веществ были выбраны глифосат и малатион, различающиеся по механизму воздействию на ВChЕ. Для повышения чувствительности определения ФОС была введена процедура предварительной инкубации реагента в исследуемом растворе ингибирующего вещества в течение 5 минут. Установлено, что реагенты на основе желатинового геля не чувствительны к действию модельных ингибирующих веществ. Из графика 2 видно, что ВChЕ, иммобилизованная в желатиновом носителе, не чувствительна к действию малатиона концентрации 0,5 мкМ, что существенно (в 10 раз) превышает ПДК.

В то же время реагенты на основе крахмального геля снижают свою активность на 74 % в присутствии 0,05 мкМ малатиона, что соответствует уровню

ПДК. Концентрация малатиона, при которой наблюдается снижение скорости ферментативного гидролиза S-BCh-I на 50 % (так называемая величина IC_{50}) составляет 0,5 мкМ. Следовательно, с точки зрения практического использования разрабатываемых реагентов в экоаналитическом контроле за содержанием фосфорорганических соединений в образцах сред, крахмал является наиболее подходящим носителем. Для глифосата чувствительность реагента не достаточна для определения его на уровне ПДК. IC_{50} данного соединения в воде составил 50 мкМ. Такой результат может объясняться различиями в механизмах действия выбранных ФОС. Действительно, малатион содержит фосфор, связанный с алкоксильными группами, что влечет образование прочной ковалентной связи «фосфорил-серин» в активном центре BChE и, как следствие, её необратимое ингибирование. В отличие от малатиона, глифосат содержит фосфор в составе остатка фосфорной кислоты, не способного к проникновению в активный центр фермента.

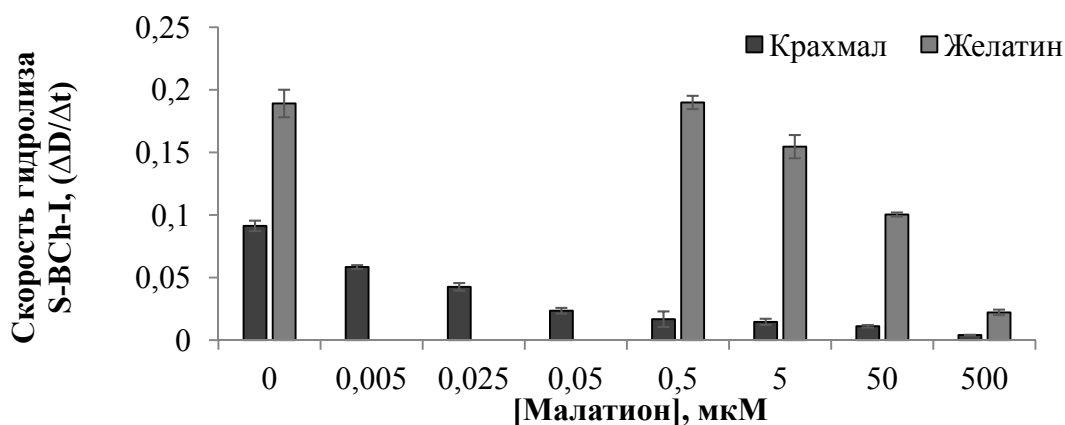


График 2 – Зависимость скорости ферментативного гидролиза S-BuCh-I от типа носителя в присутствии малатиона
В 1 диске: BChE – 0.11 U, реактив Элмана – 0,2 мМ

Установлено, что включение 5'5-дителиобис(2-нитробензойной кислоты) не приводит к снижению активности иммобилизованной BChE. Иммобилизация BChE в крахмальный и желатиновый гели совместно с 5'5-дителиобис(2-нитробензойной кислотой) позволяет получить ферментные реагенты, отличающиеся высокой активностью и стабильностью при хранении. Полученный реагент обладает высокой чувствительностью к действию ФОС. В дальнейшем разработанный ферментный реагент может использоваться для определения ультрамалых количеств токсических веществ в образцах сред и для контроля за соблюдением установленных норм на содержание ФОС в продукции объектов пищевой промышленности.

Список литературы

1. Евтюгин Г.А. Электрохимические биосенсоры на основе холинэстеразы для группового определения токсикантов и диагностики загрязнения объектов окружающей среды: дис. ... док.хим.наук : 02.00.02. – Саратов, 1999. – С. 401.

2. Петушков В.Н. Биферментная система NADH:FMN-оксидоредуктаза-люцифераза из светящихся бактерий / В.Н. Петушков, Г.А. Кратасюк, Н.С. Родионова, А.М. Фиш, П.И. Белобров // Биохимия. – 1984. – Т.49, вып.4. – С. 692-702.

3. Ellman G.L. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity / G. L. Ellman, K. D. Courtney, V. Andres, R. M. Featherstone // Biochem. Pharmacol. – 1961. – V. 7. – P. 88-95.

ПОРОГОВЫЕ КОНЦЕНТРАЦИИ РАСТВОРОВ ПРОТИВОГОЛОЛЁДНОЙ СМЕСИ, ВЫЗЫВАЮЩИЕ НЕГАТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ У РАСТИТЕЛЬНЫХ И ЖИВОТНЫХ ТЕСТ ОРГАНИЗМОВ

Т.С. Лопатина^{1*}, Ю.В. Александрова¹, О.В. Анищенко¹,
Н.А. Оськина¹, Т.А. Зотина^{1,2}, Е.С. Задереев^{1,2†}

¹Институт биофизики СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия

²Сибирский федеральный университет,
Красноярск, Россия

Химическое загрязнение водных и почвенных экосистем в результате использования противогололёдных материалов, является серьёзной экологической проблемой во многих регионах мира [1]. Наиболее популярными средствами для борьбы со льдом на дорогах являются хлористые соли [2, 3, 4]. Использование таких средств приводит к поступлению катионов (Na^+ , Ca^{2+} и т.д.) и хлорид-аниона (Cl^-) в поверхностные и подземные водоёмы и водотоки прилегающих территорий, почвенные системы [3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13].

Для экологического прогнозирования качества среды обитания и осуществления мер по защите экосистем от долговременного химического загрязнения соледержащими смесями, чрезвычайно важно иметь представление о том, насколько солёность может превысить фоновые концентрации в среде, не оказав негативного воздействия на биоту [14]. Цель настоящей работы – определить пороговые концентрации растворов противогололёдной солевой смеси на примере реагента «Бионорд», содержащей в своём составе хлориды натрия и кальция (до 85 % от общего состава), при которых наблюдаются негативные эффекты на параметры развития растительных и животных тест-объектов (лук репчатый *A. cepa*, газонные злаки *L. perenne* L., *F. pratensis*, *F. arundinacea* L., ветвистоусый рачок *M. macroscopa*). Также мы поставили задачу выполнить оценку допустимых уровней применения и химического загрязнения водных и наземных экосистем противогололёдным реагентом на единицу площади модельной экосистемы. Угнетающее действие реагента в работе оценивалось на уровне организма (выживаемость, параметры роста и развития), клеточном уровне (митотический индекс), а также на уровне отдельных стадий жизненного цикла (активная стадия жизни и эмбриональная диапауза).

Биотест на основе лука репчатого *Allium cepa* показал, что снижение на 50 % по сравнению с контролем средней длины корня, суммарной длины корней на каждой луковице и пролиферативной активности в кончиках корней (митотический индекс) лука наблюдается при концентрациях смеси в растворе 6,3; 5,2 и 10,4 г/л, соответственно. Вес сырой и сухой биомассы газонных зла-

* lopatianats@mail.ru

† © Лопатина Т.С., Александрова Ю.В., Анищенко О.В., Оськина Н.А., Зотина Т.А., Задереев Е.С., 2021

ков *Lolium perenne* L., *Festuca pratensis*, *Festuca arundinacea* L. был на 50 % меньше по сравнению с контролем при концентрациях смеси в растворе 4,5 и 5,7 г/л, соответственно. При концентрации реагента в растворе 15 г/л прорастание семян зафиксировано только для единичных экземпляров. Острый 48-часовой тест на ветвистоусых рачках *Moina macroscopa* показал, что гибель 50 % рачков наблюдалась при концентрации антигололёдной смеси в растворе 5,1 г/л. Хронический тест показал, что смесь в диапазоне концентраций 0,3–5,0 г/л не оказывает значимого влияния на среднюю продолжительность жизни, удельную скорость ювенильного роста и плодовитость самок рачков. Полная гибель животных наблюдалась на вторые сутки эксперимента при концентрации смеси в растворе 6,0 г/л и выше [15].

Электропроводность растворов смеси, оказавших негативное влияние на выбранные тест-объекты, совпадает с ранее полученными значениями электропроводности растворов хлорида натрия, токсичных для ракообразных [16, 17]. На основании этого можно предположить, что основное действие противогололёдной смеси «Бионорд» на исследуемые объекты связано с входящими в её состав солями хлора и натрия.

Результаты экспериментов с покоящимися яйцами ветвистоусого рачка *Moina macroscopa* показали, что пороговые солёности в воде, при которых наблюдается значимое снижение эффективности реактивации покоящихся яиц и гибель 100 % рачков, вышедших из яиц, соответствуют летальным значениям солёности растворов реагента для рачков в активной стадии их жизни в острых и хронических тестах. Смертность рачков, вышедших из яиц, наблюдается при гораздо более низких значениях солёности в воде, чем значения солёности в грунте, при которых происходит снижение эффективности реактивации яиц [18].

Основываясь на критических для роста и развития, использованных тест-объектов, концентрациях смеси «Бионорд» в растворе и нормативах ее применения можно сделать заключение, что сток с 1 м² обработанной поверхности может привести к загрязнению 8–13 литров пресной воды и 14–22 килограмм почвы. Таким образом, регламентированная правилами использования препарата очистка обработанных поверхностей от «Бионорда» – базовое требование к применению солесодержащих средств.

Суммируя полученные результаты работы, исследуемый противогололёдный реагент, содержащий в своем составе хлориды натрия, имеет потенциальную опасность для роста, развития и гибели животных и растительных организмов, населяющих водные и почвенные экосистемы. В долгосрочной перспективе постепенное накопление в почве и водоёмах хлоридов натрия и кальция может привести к серьёзным нарушениям в функционировании экосистем.

Список литературы

1. Meter R.J.V., Swan Ch.M., Leips J., Snodgrass J.W. Road salt stress induces novel food web structure and interactions. *Wetlands*. 2011. Vol. 31, № 5. P. 843–851.

2. Godwin K.S., Hafner S.D., Buff M.F. Long-term trends in sodium and chloride in the Mohawk River, New York: the effect of fifty years of road-salt application. *Environmental Pollution*. 2003. Vol. 124. P. 273–281.
3. Hofman J, Trávníčková E, Anděl P. Road salts effects on soil chemical and microbial properties at grassland and forest site in protected natural areas. *Plant, soil and environment*. 2012. Vol. 58, № 6. P. 282-288.
4. Schuler M.S., Hintz W.D., Jones D.K., Lind L.A., Mattes B.M., Stoler A.B., Sudol K.A., Relyea R.A. How common road salts and organic additives alter freshwater food webs: in search of safer alternatives. *Journal of Applied Ecology*. 2017. Vol. 54, № 5. P. 1353– 1361.
5. Dugan H.A., Bartlett S.L., Burke S.M., Doubek J.P., Krivak-Tetley F.E., Skaff N.K., Summers J.C., Farrell K.J., McCullough I.M., Morales-Williams A.M., Roberts D.C., Ouyang Z., Scordo F., Hanson P.C., Weathers K.C. Salting our freshwater lakes. *PNAS*. 2017. Vol. 114, № 17. P. 4453–4458.
6. Cañedo-Argüelles M. A review of recent advances and future challenges in freshwater salinization. *Limnetica*. 2020. Vol. 39, № 1. P. 185–211.
7. Czerniawska-Kusza I., Kusza G., Dużyński M. Effect of deicing salts on urban soils and health status of roadside trees in the Opole Region. *Environmental Toxicology*. 2004. Vol. 19, № 34. P. 296-301.
8. Jones D.K., Mattes B.M., Hintz W.D., Schuler M.S., Stoler A.B., Lind L.A., Cooper R.O., Relyea R.A. Investigation of road salts and biotic stressors on freshwater wetland communities. *Environmental Pollution*. 2017. Vol. 221. P. 159–167.
9. Ramakrishna D.M., Viraraghavatan T. Environmental impact of chemical deicers – a review. *Water, Air and Soil Pollution*. 2005. Vol. 166. P. 49–63.
10. Velasco J., Gutie´rrez-Ca´novas C., Botella-Cruz M., Sa´nchez-Ferna´ndez D., Arribas P., Carbonell J.A., Milla´n A., Pallare´s S. Effects of salinity changes on aquatic organisms in a multiple stressor context. *Philosophical Transaction of the Royal Society B*. 2019. Vol. 374, № 1764.
11. Герасимов А.О., Чугунова М.В. Изучение воздействия хлоридных противогололедных реагентов на высшие растения и почвенные микроорганизмы в лабораторном и полевом экспериментах. *Инженерная геология*. 2016 № 6. С. 48–53.
12. Никифорова Е.М., Кошелева Н.Е., Хайбрахманов Т.С. Экологические последствия применения противогололедных реагентов для почв восточного округа Москвы. *Вестник Московского университета. Серия 5: География*. 2016. № 3. С. 40–49.
13. Шишова Т.К., Матвеева Т.Б., Казанцев И.В. Влияние противогололедного материала «Бионорд» на развитие растений. Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. 2017 № 26 (1). С. 78–84.
14. Peredo-Alvarez V.M., Sarma S.S.S., Nandini S. Combined effect of concentrations of 172 algal food (*Chlorella vulgaris*) and salt (sodium chloride) on the population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera). *Revista de Biologia Tropical*. 2003. Vol. 51, № 2. P. 399–407.

15. Лопатина Т.С., Александрова Ю.В., Анищенко О.В., Грибовская И.В., Оськина Н.А., Зотина Т.А., Задереев Е.С. Влияние растворов противогололёдной смеси на *Moina macrocopa* и *Allium* сера в биотестовом эксперименте. Вестник Томского государственного университета. Биология. 2020 № 51. С. 162–178.
16. Schuytema G.S., Nebeker A.V., Stutzman TW. Salinity tolerance of *Daphnia magna* and potential use for estuarine sediment toxicity test. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 1997. Vol. 33, № 2. P. 194-198.
17. Martínez-Jerónimo F., Martínez-Jerónimo L. Chronic effect of NaCl salinity on a freshwater strain of *Daphnia magna* Straus (Crustacea: Cladocera): A demographic study. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2007. Vol. 67, № 3. P. 411-416.
18. Lopatina Tatiana, Anishchenko Olesya, Oskina Natalia, Zadereev Egor. Threshold concentrations of the road salt for adverse effects on females and resting eggs of cladoceran *Moina macrocopa*. Aquatic ecology. 2021. Vol. 55. P. 283–297.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК КРОВИ РЫБ СЕМЕЙСТВА ОКУНЕВЫХ, ОБИТАЮЩИХ В РАЗНОТИПНЫХ ВОДОЕМАХ

Г.В. Макарская^{1,2*}, С.В. Тарских^{2†}

¹*Институт вычислительного моделирования СО РАН,
Красноярск, Россия*

²*Международный научный центр исследований
экстремальных состояний организма ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия*

В водной экосистеме формирование видового состава ихтиоценозов, устойчивость их функционирования, а также отдельной особи рыбы, определяется составом и качеством факторов среды обитания. Красноярское водохранилище и озеро Иткуль [1] имеют существенные отличия по ряду гидрохимических характеристик: глубине, солености, скорости перемещение водных масс, но есть и приближение по температурным показателям в летний период, содержанию растворенного кислорода, БПК₅. Особенностью иммунной системы рыб является доминирование неспецифических факторов защиты, характеризующиеся большим разнообразием и быстротой реакции [2]. За период 17-летнего мониторинга среднего участка (Приморского плеса) Красноярского водохранилища отмечено доминирование в ихтиоценозе по численности (до 85-90 %) рыб семейства *Percidae*. Однако по размерно-весовым характеристикам окуни из Красноярского водохранилища значимо уступают одновозрастным особям из озера Иткуль Хакасии.

Цель настоящей работы состояла в выявлении отличительных особенностей иммуногематологических показателей и функциональной активности клеток крови у одновозрастных особей окуня, обитающих в разнотипных водоемах: средней части Красноярского водохранилища и озера Иткуль.

Отбор биологического материала и крови рыб производили в первой половине августа в процессе экспедиционных исследований водных экосистем. Определение содержания гемоглобина, численности эритроцитов и лейкоцитов выполняли согласно общепринятым рекомендованным методикам [3–4]. Функциональную активность клеток крови рыб при антигенной стимуляции фагоцитоза [5] оценивали по кинетике генерации АФК, регистрируемой микрометодом люминолусилированной хемилюминесценции с использованием аппаратурно-программного комплекса “Хемилюминометр CL-3604 – ПЭВМ” (СКТБ «Наука», Красноярск). Компонентный анализ хемилюминесцентной кинетики по Magrisso et. al [6] и статистическую обработку материалов проводили на персональной ЭВМ с использованием приложений в среде Excel Microsoft и программы Lgraf.exe.

* makgalvla@yandex.ru

† © Макарская Г.В., Тарских С.В., 2021

Сравнительный анализ размерно-весовых характеристик окуня установил достоверные отличия ($P < 0.05$) у одновозрастных особей (табл. 1). 5+ – 8+ возраста окуни оз. Иткуль в 1.7 раза длиннее и 4.3 раза тяжелее своих одногодок из Красноярского водохранилища. Выявленные различия размерно-весовых характеристик определяются особенностями доступной кормовой базы. В водохранилище это зоопланктонные организмы, детрит, личинки хирономид, макрофиты и зачастую молодь рыб [7]. В пищевом комке окуня всех возрастных групп из озера отмечены гаммарусы и остатки водных насекомых. Основу пищи окуня по массе составляет гаммарус (60-90 % от массы пищевого комка).

Таблица 1

Значения размерно-весовых характеристик окуня разного возраста, обитающего в различных экотопах Красноярского водохранилища и о. Иткуль в начале августа

Возраст, год	Длина тела промысловая, мм				Вес, г			
	о. Иткуль	N	Водохранилище	N	о. Иткуль	N	Водохранилище	N
5+	311 ± 1*	2	170 ± 2	103	635 ± 72*	2	97 ± 6	62
6+	305 ± 4*	6	181 ± 4	34	629 ± 26*	6	116 ± 9	24
7+	331 ± 2*	7	198 ± 11	12	770 ± 44*	7	199 ± 53	7
8+	325 ± 8*	10	207 ± 20	4	787 ± 54*	10	400	1

Примечание * $P < 0.001$ по сравнению с соответствующим значением для окуня из Красноярского водохранилища

Устойчивость функционирования организма рыб, как и всех видов животных, находится под контролем системы гемоиммуногенеза, по показателям и изменению характеристик которой можно судить о критичности изменения состояния организма. По гематологическим показателям одновозрастные особи окуня оз. Иткуль и Красноярского водохранилища достоверно не отличались за исключением пятилеток. Близок по значению и фагоцитарный индекс озерного окуня и окуню из водохранилища.

Одной из составляющих комплексной системы неспецифической резистентности рыб является функциональная активность клеток крови, проявляющаяся генерацией активных форм кислорода (АФК) в большей степени при антигенной активации, регулируемая про- и антиоксидантными ферментами и факторами клеток (НАФН-оксидаза, супероксиддисмутаза, миелопероксидаза и т.п.) и плазмы крови (металлы с переменной валентностью) [8, 9]. Хемилюминесцентная кривая кинетики генерации АФК при респираторном взрыве, характеризующем функциональную активность клеток крови рыб в ответ на антигенную активацию *in vitro*, для окуня из оз. Иткуль и Красноярского водохранилища имела одинаковый вид (рис. 1А). Отличия проявлялись в значениях параметров максимальной интенсивности ($I_{\max}$), общего объема генерации АФК (S). У окуня из о. Иткуль они почти в 2.5 раза были выше (табл. 2).

Применение компонентного анализа по Magrisso et. al [6] среднестатистических хемилюминесцентных кривых кинетики (рис. 1 Б) также выявило различие вклада в общий объем генерации кислородных радикалов долей, связанных с процессом фагоцитоза (I и II-я компоненты), и активных радикалов из-за перекисного окисления липидных и белковых молекул (компонента III) у одно-возрастных особей окуня из разных водоемов (табл. 2). При этом доля вклада каждой компоненты в интегральный объем продукции свободных радикалов у окуней из разных водоемов достоверно не отличается. Для окуней из обоих водоемов характерно доминирование вклада III компоненты: $(71.2 \pm 3.4) \%$ для окуня из водохранилища и $(67.5 \pm 3.4) \%$ из озера, которые имеют тенденцию увеличения с возрастом. У озерного окуня, старше пяти лет, отмечается более активная реакция на антигенную стимуляцию, что также связано с большей долей фагоцитирующих клеток в периферической крови и высокой активностью прооксидантной системы.

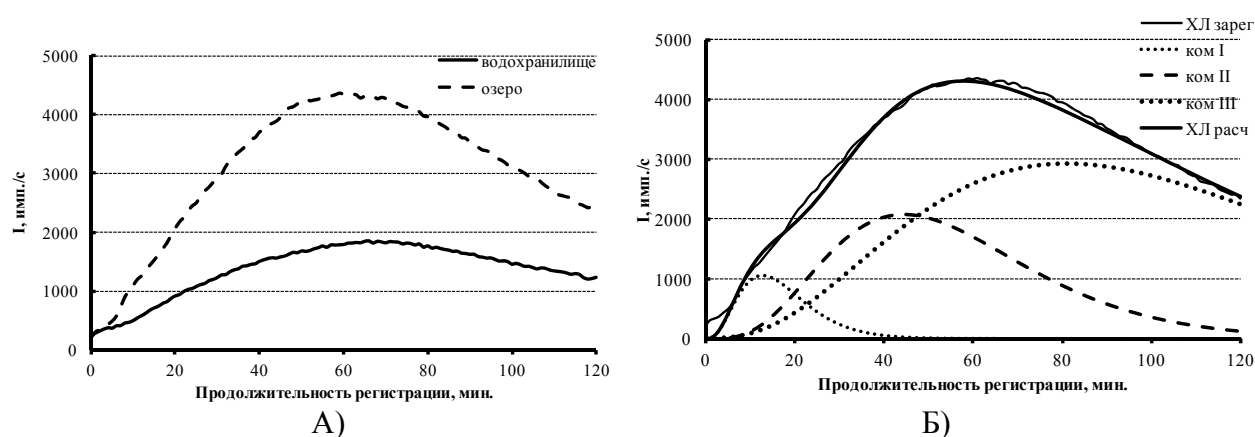


Рис. 1. Хемилюминесцентная кинетика генерации АФК антигенактивированными клетками цельной крови окуня, обитающего в различных экотопах Красноярского водохранилища и оз. Иткуль в начале августа (А) и ее компонентная структура (Б) по Magrisso et.al, 2000

Отличие кинетики генерации АФК клетками периферической крови окуня из озера Иткуль от окуня из Красноярского водохранилища, вероятно, связано с различием солевого состава среды обитания [7], т.к. соленость воды Иткуля выше в 6 раз. Кроме того в водохранилище отмечается присутствие тяжелых металлов (Cu, Zn, Mn, Fe) в пограничной к ПДК концентрации, аккумулируемых в организме рыб и участвующих в реакциях генерации АФК в составе про- и антиоксидантных ферментов, что оказывает влияние на величину времени достижения максимума кинетики респираторного взрыва при антигенной стимуляции клеток крови *in vitro* в сравнении с этим параметром у окуня из Иткуля (табл. 2). Кроме того, в о. Иткуль значительно выше уровень и доступность кормовой базы, что связано с различием глубины водоемов и энергетическими затратами рыб при добывании корма.

Возрастная динамика объема (S) интегральной (А) и компонентных составляющих (по Magrisso et.al, 2000) (ком I, ком II, ком III) кинетики генерации АФК антигенактивированными клетками периферической крови окуня

Возраст, год	N	I _{max} , имп./с	T _{max} .мин	S, млн. имп. за 120 мин			
				ХЛ зарегистри- рованная	ком I	ком II	ком III
	о. Иткуль						
5+	2	3000 ± 1118	81 ± 1***	9.95 ± 4.05*	0.39	3.29	6.08
6+	6	6067 ± 2054	84 ± 11	22.13 ± 8.57*	0.36	6.94	14.81
7+	7	6094 ± 1507*	69 ± 9	21.99 ± 6.44**	1.34	7.17	13.14
8+	10	7543 ± 1236***	73 ± 7***	27.17 ± 4.87***	0.70	7.31	18.89
	Водохранилище						
5+	95	2143 ± 314	62 ± 4	7.66 ± 1.27	0.32	1.91	5.55
6+	33	2060 ± 468	59 ± 6	6.93 ± 1.70	0.32	1.93	4.55
7+	12	2209 ± 891	58 ± 9	7.69 ± 3.57	0.44	2.26	5.92
8+	4	552 ± 266	28 ± 2	7.47 ± 0.37	0.44	0.85	6.53

Примечание *P<0.05, **P<0.01, ***P <0.001 по сравнению с соответствующим значением для окуня из Красноярского водохранилища

Таким образом сравнительный анализ морфометрических характеристик, иммуногематологических показателей и функциональной активности клеток крови при антигенной активации *in vitro* окуней выявил не только разницу по размерам и весу, но и по способности генерировать АФК в ответ на антигенное воздействие *in vitro*. Клетки крови окуня о. Иткуль в 2.5 раза активнее проявляют формирование респираторного взрыва при фагоцитарном процессе, чем окуни Красноярского водохранилища.

Список литературы

1. Природный комплекс и биоразнообразие участка «Озера Иткуль» заповедника «Хакасский». Коллектив авторов; под ред. В.В. Непомнящего. Абакан: Хакаское книжное издательство. 2010. 418 с.
2. Кондратьева И.А., Киташова А.А. Современные представления об иммунной системе рыб. Функционирование и регуляция иммунной системы рыб. Иммунология. 2002. № 2. С. 97 – 100.
3. Методические указания по определению уровня естественной резистентности в оценке иммунного статуса рыб. № 13-4-2/1795. База данных «Ветеринарное законодательство». <http://www.aris.ru>. М.: ГВЦ Минсельхозпрома России; Департамент ветеринарии Минсельхозпрома России. 2000.
4. Методические указания по проведению гематологического обследования рыб. Утв. Департаментом ветеринарии Министерства сельского хозяйства и продовольствия РФ № 13-4-2/1487 от 02.02.99.

5. Макарская Г.В.. Тарских С.В. Особенности функциональной активности клеток периферической крови рыб средней части Красноярского водохранилища в летний период // Гидробиологический журнал. 2011. Т.47. № 5. С. 88 – 95.
6. Magrisso M.Y.. Aleksandrova M.L.. Markova V.I.. Bechev B.G.. Bochev P.G. Functional states of polymorphonuclear leucocytes determined by chemiluminescent analysis //Luminescence. 2000. V.15. P.143-151.
7. Вышегородцев А.А.. Космаков И.В.. Ануфриева Т.А.. Кузнецова О.А. Красноярское водохранилище. Новосибирск: Наука. 2005. 212с.
8. Немова Н.Н.. Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука. 2004. 215 с.
9. Lushchak V.I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals // Aquatic Toxicology. 2011. Vol. 101. P. 13-30.

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ИММУННОГО ОТВЕТА У НАСЕЛЕНИЯ АРКТИЧЕСКИХ ТЕРРИТОРИЙ КРАСНОЯРСКОГО КРАЯ И У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

М.А. Малинчик¹, М.В. Смольникова^{1*†}

*¹ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия*

Бронхиальная астма – это хроническое заболевание, характеризующееся воспалением дыхательных путей, обратимой обструкцией дыхательных путей и гиперреактивностью дыхательных путей [6]. В отношении легочных заболеваний, в частности бронхиальной астмы, существует двойственная роль системы комплемента (СК), которая, с одной стороны, может не допустить развитие респираторных инфекций, а с другой стороны, может усугубить повреждение тканей или вызвать неблагоприятные побочные эффекты [10]. Система комплемента состоит из нескольких десятков белков плазмы, поверхностных рецепторов клеток и регуляторных белков [8], которые связывают системы врожденного и адаптивного иммунитета, обеспечивая нормальные условия для созревания и дифференциации Т- и В-лимфоцитов [12]. Свои функции протеины СК осуществляют посредством трех путей – классического, альтернативного и лектинового.

Все три пути СК инициируются множеством стимулов независимо друг от друга, стимулируя активацию основного компонента С3, что в конечном итоге приводит к сборке мембрано-атакующего комплекса (МАК) [3]. Лектиновый путь (ЛП) является наиболее филогенетически древним, его активация происходит в отсутствие иммунных комплексов и инициируется путем связывания лектинов с углеводами или ацетилированными остатками, присутствующими на поверхности патогенов или собственных апоптотических / опухолевых клеток [1]. Циркулирующие лектины образуют комплексы со специфическими сериновыми протеазами (MASP). Таким образом, образование сложного комплекса: полисахариды микробной стенки + коллектин/фиколин + специфические протеазы приводит к активации ЛП системы комплемента, воспалительной реакции и элиминации бактерии [4].

Согласно анализу литературных данных, в настоящее время связанные с врожденными дефицитами Н-фиколина и MASP-2 мутации (rs28357092 и rs72550870, соответственно) не исследованы в российских популяциях и в популяциях коренных народностей российских Арктических территорий.

Мутация rs28357092 гена *FCN3* способствует снижению уровня Н-фиколина в плазме крови: у гомозигот с такой делецией наблюдается полное отсутствие Н-фиколина в плазме, а у гетерозигот – средние его уровни [5]. Гомозиготность встречается крайне редко (частота у европеоидов 3 % по данным

* seapearl1995@gmail.com

† © Малинчик М.А., Смольникова М.В., 2021

ресурса <http://www.ensembl.org>), что доказывает важную роль *FCN3* для иммунитета [2]. Минорный аллель *G** полиморфизма rs72550870 *MASP2* ассоциирован с низкой концентрацией белка, снижением способности белка связываться с MBL и фиколинами, и соответственно, неспособностью активировать комплемент [9]. Дефицит белка может быть связан с предрасположенностью к развитию бронхиальной астмы и других респираторных заболеваний [11, 7].

Таким образом, целью данной работы было выявить популяционно-этнические различия распределения частот аллельных вариантов полиморфизмов rs72550870 гена *MASP2* и rs28357092 гена *FCN3* в популяциях Красноярского края.

В исследование были включены новорожденные дети популяций Красноярского края (n=920), разделенные на 4 группы в зависимости от этнической принадлежности (Табл. 1). Материалом для исследования послужила ДНК, выделенная сорбентным методом из пятен крови, для генотипирования *MASP2* (rs72550870) и *FCN3* (rs28354092) был применен метод RT-PCR. Сравнение частот аллелей и генотипов производили с помощью online-калькулятора, теста χ^2 -квадрат.

Таблица 1

Группы исследуемых новорожденных

Популяции Арктических территорий			Европеоиды г. Красноярска	ИТОГО:
Ненцы	Долгане- нганасане	Смешанные		
323	112	243	242	920

При анализе частот генотипов rs28357092 *FCN3* нами было выявлено преобладание генотипа GG во всех исследуемых популяциях, что совпадает с доступными мировыми данными. Гетерозиготный генотип G/del обнаружен только у одного новорожденного ребенка европеоидного происхождения г. Красноярска. Частота генотипа del/del у славян составила 3.3 % (10 новорожденных), 2.2 % (5 новорожденных) в смешанной популяции коренных народов Таймырского Долгано-Ненецкого района и лишь у одного ребенка в популяции долган-нганасан. У ненцев не было обнаружено ни гомозигот, ни гетерозигот по минорному аллелю.

Анализ распространенности генотипов rs72550870 гена *MASP2* показал более низкие частоты генотипа AG у Арктических популяций по сравнению с европеоидами г. Красноярска. Частота гетерозиготного генотипа у европеоидов (6.6 %) статистически значимо выше по сравнению с группами арктических популяций (ненцы: 0.3 %, $p<0.001$; долганы-нганасаны: 0.9 %, $p=0.02$; смешанные: 2.1 %, $p=0.02$). Помимо этого, не было выявлено гомозигот по минорному аллелю *G** (частота аллеля *G** в европеоидной популяции 4.0 %, полученная нами в ходе исследования – 3.3 %).

Результаты настоящего исследования показывают, что у населения Арктических территорий более низкие цифры распространенности генетических маркеров *MASP2* и *FCN3* дефицитов, и вероятно, более высокий уровень защиты от респираторных заболеваний по сравнению с европеоидами г. Красноярска. В дальнейшем мы планируем провести анализ полиморфизмов rs72550570 гена *MASP2* и rs28357092 гена *FCN3* у пациентов с бронхиальной астмой.

Список литературы

1. Ali Y.M., Lynch N.J., Haleem K.S., Fujita T., Endo Y., Hansen S., Holmskov U., Takahashi K., Stahl G.L., Dudler T., Girija U.V., Wallis R., Kadioglu A., Stover C.M., Andrew P.W., Schwaebler W.J. The lectin pathway of complement activation is a critical component of the innate immune response to pneumococcal infection. *PLoS Pathog.* 2012. Vol. 8, № 7;
2. Bjarnadóttir H., Arnadóttir M., Ludvíksson B.R. Frequency and distribution of FCN2 and FCN3 functional variants among MBL2 genotypes. *Immunogenetics.* 2016. Vol. 68, № 5. P. 315-325
3. Blom A.M., Villoutreix B.O., Dahlbäck B. Complement inhibitor C4b-binding protein: friend or foe in the innate immune system? *Mol Immunol.* 2004. Vol. 40. P. 1333–46;
4. Héja D., Kocsis A., Dobó J., Szilágyi K., Szász R., Závorszky P., Pál G., Gál P. Revised mechanism of complement lectin-pathway activation revealing the role of serine protease MASP-1 as the exclusive activator of MASP-2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012. Vol. 109. P. 10498–10503;
5. Michalski M., Szala A., St Swierzek A., Lukasiewicz J., Maciejewska A., Kilpatrick D.C., Matsushita M., Domzalska-Popadiuk I., Borkowska-Klos M., Sokolowska A., Szczapa J., Lugowski C., Cedzynski M. H-ficolin (ficolin-3) concentrations and FCN3 gene polymorphism in neonates. *Immunobiology.* 2011. Vol. 217. P. 730–737;
6. Nakagome K., Nagata M. Pathogenesis of airway inflammation in bronchial asthma. *Auris Nasus Larynx.* 2011. Vol. 38, № 5. P. 555-563;
7. Olszowski T., Poziomkowska-Gęsicka I., Jensenius J.C., Adler G. Lectin pathway of complement activation in a Polish woman with MASP-2 deficiency. *Immunobiology.* 2013. Vol. 2119, № 4;
8. Ricklin D., Hajishengallis G., Yang K., Lambris J.D. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol.* 2010. Vol. 11. P. 785–97;
9. Stengaard-Pedersen K., Thiel S., Gadjeva M., Møller-Kristensen M., Sørensen R., Jensen L.T., Sjøholm A.G., Fugger L., Jensenius J.C. Inherited deficiency of mannan-binding lectin-associated serine protease 2. *N. Engl. J. Med.* 2003. Vol. 349, № 6. P. 554-60;
10. Swierzek A.S., Cedzynski M. The Influence of the Lectin Pathway of Complement Activation on Infections of the Respiratory System. *Frontiers in Immunology.* 2020. Vol. 11;

11. Thiel S., Steffensen R., Christensen I.J., Ip W.K., Lau Y.L., Reason I.J., Eiberg H., Gadjeva M., Ruseva M., Jensenius J.C. Deficiency of mannan-binding lectin associated serine protease-2 due to missense polymorphisms. *Genes Immun.* 2007. Vol. 8. P. 154–163;
12. Walport M.J. Complement. First of two parts. *N Engl J Med.* 2001. Vol. 344. P. 1058–66.

ДИАГНОСТИРОВАНИЕ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ У ДЕТЕЙ КРАСНОЯРСКОГО КРАЯ С ПОМОЩЬЮ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЛЕКУЛ TREС И KREC

И.В. Марченко, М.В. Смольникова^{†}**

*ФИЦ КНЦ СО РАН НИИ медицинских проблем Севера,
Красноярск, Россия*

Первичные иммунодефициты (ПИД) – это врожденные ошибки иммунитета, которые проявляются в виде повышенной восприимчивости к инфекционным, аутоиммунным, аутовоспалительным заболеваниям, аллергии или злокачественным новообразованиям [1,2]. Чаще всего причиной ПИД является сниженная функциональная способность лейкоцитов бороться с инфекциями.

Особым типом первичного иммунодефицита является тяжелый комбинированный иммунодефицит (ТКИН). Он характеризуется неспособностью вырабатывать Т – и В-лимфоциты [5]. Данные клетки выполняют важные защитные функции: Т- лимфоциты распознают процессированный антиген, а В- лимфоциты принимают- эффекторное участие в гуморальных иммунных реакциях. Большинство форм тяжелого комбинированного иммунодефицита можно обнаружить путем измерения уровней Т-клеточных рекомбинационных эксцизионных кругов (TRECs) и каппа-удаляющих рекомбинационных эксцизионных кругов (KRECs).

Каппа-удаляющие рекомбинационные эксцизионные круги (KRECs) являются круговыми ДНК-продуктами рекомбинации VJ в локусе Ig каппа и служат уникальными маркерами вновь генерируемых В-клеток. Круги иссечения рецепторов Т-клеток (TRECs) – это стабильные кольцевые фрагменты иссечения ДНК, которые являются биомаркером новообразованных Т-лимфоцитов [3,4]. Низкие уровни этих молекул в периферической крови указывают на Т-и/или В- клеточную лимфопению.

Исследование содержания молекул TREС и KREC активно проводится в Детской городской клинической больнице № 9 им. Г. Н. Сперанского г. Москва. Так как мы планируем проведение подобных исследований у детей Красноярского края, то была проведена апробация и стандартизация нового для нашей лаборатории метода количественного определения молекул TREС и KREC методом полимеразной цепной реакции с использованием набора «БиТ тест» (Сколково, Россия). Материалом исследования являлись ДНК, выделенные из венозной крови подростка (15 лет) и взрослого человека (85 лет), проживающих в г. Красноярск. Выделение производилось набором «РИБО-преп» (Amplisens, Россия). Реакцию амплификации проводили на двух амплификаторах Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия) и LightCycler (Roshe Diagnostics, Москва). Съем флуоресцентного сигнала проводился в трех каналах Green(FAM),

* sonesoundfordj@mail.ru

† © Марченко И.В., Смольникова М.В., 2021

Yellow(R6G) и Orange(ROX). Каждый канал ответственен за измерение соответствующей молекулы (Green – альбумин(ALB), Yellow – KREC, Orange – TREC). Альбумин используется в качестве эндогенного внутреннего контроля.

В результате амплификации, в присутствии калибраторов и количественного подсчета по формуле, указанной в наборе «БиТ-Тест» (Сколково, Россия) «Кол-во TREC(KREC) =(кол-во копий TREC(KREC) на мл / кол-во копий ALB) * 200 000» было определено, что в исследуемых контрольных образцах уровень содержания молекул соответствует концентрации TREC/ KREC у здоровых людей: образец 1 TREC=500*10⁵, KREC=300*10⁵; образец 2 = TREC=300*10⁵, KREC= 200*10⁵. Нижние границы содержания молекул в крови для TREC = 30*10⁵, для KREC = 40*10⁵. Согласно приложению к набору, значения, выше минимального свидетельствуют о нормальном содержании молекул TREC и KREC в крови. Данные, полученные на обоих амплификаторах, имели схожие значения. Следовательно, полученные нами результаты, говорят об отсутствии у исследуемых пациентов Т – и В- клеточной лимфопении.

Таким образом, количественное определение молекул TREC и KREC методом полимеразной цепной реакции в реальном времени можно применять в качестве раннего маркера тяжелого комбинированного иммунодефицита, такие как агаммаглобулинемия, болезнь Вискота-Олдриджа, ретикулярная дискинезия и другие. Данное исследование значительно повышает шансы на постановку правильного диагноза, назначение адекватного лечения и, как следствие всего, выживаемость пациента. Перспективы дальнейшего исследования мы видим в более подробном изучении ДНК детей Красноярского края, что может способствовать расширению данных по уровню заболевания первичными иммунодефицитами в крае.

Список литературы

1. G. Buccioli, L. Moens, B. Bosch, X. Bossuyt, J.L. Casanova, A. Puel, Lessons learned from the study of human inborn errors of innate immunity, J Allergy Clin Immunol., Vol. 143 (2019), P. 507-527
2. A.A. Bousfiha, L. Jeddane [et al.], Primary immunodeficiency diseases worldwide: more common than generally thought, J Clin Immunol., Vol. 33 (2013), P. 1-7
3. Christin Deal, Caroline Kuo, TREC and KREC ddPCR as a predictor of infection susceptibility in newborns, Journal of Allergy and Clinical Immunology, Vol. 145, P. 2020
4. Michael Nevid MD, G.Wendell Richmond, Stephannie Davies MD [et al.], Non-immunologic Conditions Associated with Low TREC Values, Journal of Allergy and Clinical, Vol. 145, 2020, P. AB214
5. Ilya Korsunskiy, Oleg Blyuss, Maria Gordukova, [et al.], Munblit Expanding TREC and KREC Utility in Primary Immunodeficiency Diseases Diagnosis, Front Immunol. 2020, doi: 10.3389/fimmu.2020.00320

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕХНОЛОГИИ РЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЫ С ПОМОЩЬЮ БИОПРЕПАРАТА «ДЕСТРОЙЛ» И СОРБЕНТА МАГНЕТИТА

**В.Н. Молочко^{1*}, Д.Л. Басалаева¹,
Е.В. Глинская¹, О.В. Нечаева^{2†}**

¹*Саратовский национальный исследовательский государственный университет
имени Н. Г. Чернышевского,*

Саратов, Российская Федерация

²*Саратовский государственный технический университет
имени Ю. А. Гагарина,*

Саратов, Российская Федерация

Химическое загрязнение окружающей среды происходит на всех стадиях технологического процесса: при добыче, транспортировке, хранении и переработке нефти. Один прорыв нефтепровода приводит к утечке 2 т нефти, при этом в негодность приводится 1 тыс. м² земли. Из-за аварий нефтепроводов в России каждый год разливается 15-20 млн. тонн нефти. Когда нефть попадает в почву, она обволакивает почвенные частицы, образует пленку, нарушающую дыхание почвенной микрофлоры, что ведет к деградации экосистем, нефть также оказывает фитотоксическое действие. Дальнейшее хозяйственное использование загрязненных территорий становится невозможным. В процессе трансформации углеводороды нефти способны образовывать токсичные соединения (например, бензопирен и фенолы), которые обладают канцерогенными свойствами. Эти вещества способны поступать из почвы в растения, что резко приводит к снижению качества возделываемых культур и создает определенную угрозу для здоровья человека [1 – 3].

Ремедиацию нефтезагрязненной почвы проводят разными методами: механическим, физическим, химическим, биологическим и комплексным. Суть комбинированной технологии заключается в том, чтобы совместить биологический метод очистки при помощи потенциала микроорганизмов – деструкторов и растений и физического метода, основанного на внесении сорбентов.

Целью работы являлось определение эффективности комплексного метода ремедиации нефтезагрязненной почвы с использованием биопрепарата «Дестройл» и сорбента магнетита.

Работа проводилась на базе кафедры микробиологии и физиологии растений Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского.

Для изучения эффективности процессов ремедиации использовали 4 варианта проб почвы:

- незагрязненная почва (контроль),
- почва, загрязненная нефтью (10 %),

* victoriamolo4ko@yandex.ru

† © Молочко В.Н., Басалаева Д.Л., Глинская Е.В., Нечаева О.В., 2021

- почва, загрязненная нефтью + биопрепарат «Дестройл»,
- почва, загрязненная нефтью + биопрепарат «Дестройл» + сорбент магнетит.

В ходе эксперимента оценивали количественные показатели разных групп почвенных микроорганизмов: азотфиксаторы, нитрификаторы, денитрификаторы, целлюлозоразлагающие микроорганизмы, плесневые грибы, органотрофы, фосфоорокисляющие микроорганизмы (таблица 1).

Таблица 1

Количественные показатели (Lg КОЕ) почвенных микроорганизмов в нефтезагрязненной почве ($M \pm m, p \leq 0,05$)

Микроорганизмы	незагрязненная почва (контроль)	почва, загрязненная нефтью (10 %)	почва, загрязненная нефтью (10 %) + биопрепарат «Дестройл»	почва, загрязненная нефтью (10 %) + биопрепарат «Дестройл» + сорбент магнетит
Азотфиксаторы	7,2±1,02	4,2±1,08	6,3±1,07	6,7±1,16
Нитрификаторы	6,9±1,15	-	-	-
Денитрификаторы	6,6±1,03	-	-	-
Целлюлозо-разлагающие	6,3±1,01	-	-	-
Органотрофы	7,2±1,16	5,1±1,03	7,0±1,01	7,5±1,12
Фосфоорокисляющие	7,2±1,14	-	-	-
Плесневые грибы	6,9±1,10	5,4±1,01	6,9±1,00	6,5±1,05

Результаты исследований показали, что в незагрязненной почве присутствовали все исследуемые группы почвенных микроорганизмов.

В загрязненной почве обнаружены представители только трех групп микроорганизмов: органотрофы, азотфиксирующие бактерии и плесневые грибы. Для других групп микроорганизмов загрязнение почвы 10 % нефти оказалось токсичным, не зависимо от используемых методов ремедиации.

При использовании биологического препарата «Дестройл» для процессов ремедиации почвы количественные показатели микроорганизмов достоверно не отличались от соответствующих значений в нефтезагрязненной почве без использования препарата.

Метод очистки почвы с использованием биопрепарата «Дестройл» и сорбента магнетита приводил к достоверному увеличению численности азотфиксирующих и органотрофных бактерий на 4 %. Количественные показатели плесневых грибов достоверно не отличались от соответствующих показателей в нефтезагрязненной почве.

Таким образом, комплексный метод ремедиации нефтезагрязненной почвы с использованием биопрепарата «Дестройл» и сорбента магнетита приводит к увеличению численности азотфиксирующих бактерий как индикаторных микроорганизмов процессов самоочищения почвы и органотрофных бактерий, которые осуществляют процесс деградации нефти в экосистемах.

Список литературы

1. Васильева Г. К., Стрижакова Е. Р., Бочарникова Е. А. Нефть и нефтепродукты как загрязнители почв. Технология комбинированной физико-биологической очистки загрязненных почв. Российский химический журнал. 2013. Т. 57, № 1. С. 79-104.
2. Суслонов А. В. Влияние нефтяного загрязнения почв на формирование растительного покрова. Молодой ученый. 2012. № 3. С. 116-118.
3. Кириенко О. А., Ирманова Е. Л. Влияние углеводородов на состав микробного сообщества в луговой глеевой почве. Вестник дальневосточного отделения российской академии наук. 2015. № 5. С. 29-34.

BIOSENSOR BASED ON AG NANOPARTICLES FOR MICROBIAL CONTAMINATION DETECTION

E. Morozova^{1*}, T. Smoliarovaa, R. Ranjan^{1†}

¹ *Siberian Federal University, , Krasnoyarsk, Russia*

One of the most actual problems of biology is the development of biosensors for ecotoxicology. The solution to this problem may be the development of biosensors based on a firefly bioluminescence system. Due to high sensitivity to adenosine triphosphate (ATP), this system is widely used for analysis of the presence or absence of microbial contamination in the different samples. In this work we report of the silver nanoparticles (AgNPs) influence on the extraction of ATP from bacteria cells and bioluminescence signal and the inhibition of luciferin-luciferase systems components by (AgNPs).

AgNPs were synthesized in solution using AgNO₃ reduction by NaBH₄ in the presence of benzalkonium chloride (BAC) as a stabilizing agent. Synthesized AgNPs have a spherical form with an average diameter of 5 nm (Fig. 1(a)).

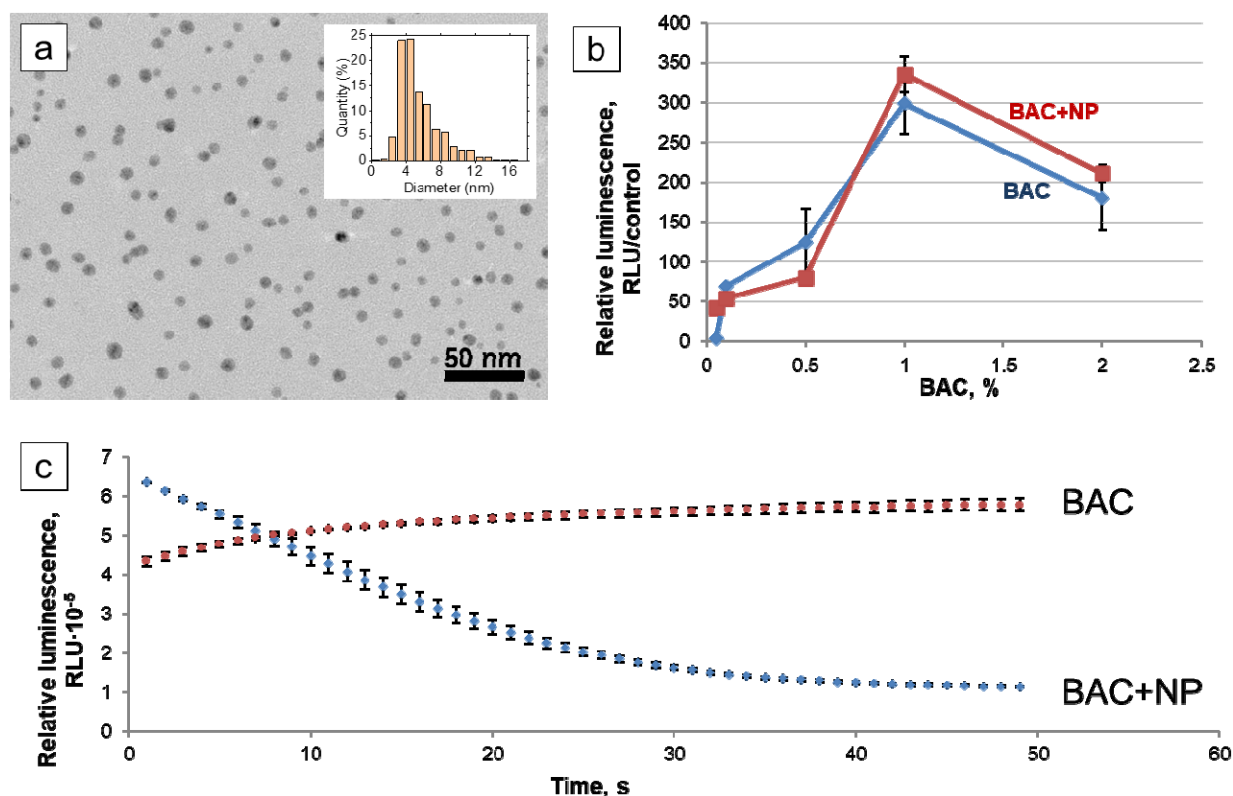


Fig. 1. (a) TEM image of synthesized AgNPs and statistical distribution over diameter; (b) extraction efficiency using various concentrations of BAC and BAC+AgNPs; (c) kinetics of the luminescence signal using BAC and BAC+AgNPs extraction solutions

* morozova-bf@mail.ru

† © Morozova E., Smoliarova T., Ranjan R., 2021

The maximum signal of luminescence was investigated during extraction of ATP by BAC solution with and without AgNPs (Fig. 1(b)). It was shown that AgNPs effect on maximum signal and kinetics of the reaction comparing with BAC solution (Fig. 1(c)).

References

1. Berger A. C., Olson S. Genome-based Therapeutics: Targeted Drug Discovery and Development. – National Academies Press, 2012.

БАКТЕРИИ-ДЕСТРУКТОРЫ НЕФТИ ИЗ ПОЧВЫ ВБЛИЗИ ЖЕЛЕЗНОДОРОЖНЫХ СТАНЦИЙ НА ТЕРРИТОРИИ Г. САРАТОВА

**Ю.И. Мурзина^{1*}, А.С. Коробейникова¹,
Д.Л. Басалаева¹, Е.В. Глинская¹, О.В. Нечаева^{2†}**

¹*Саратовский национальный исследовательский государственный университет
имени Н. Г. Чернышевского,*

Саратов, Российская Федерация

²*Саратовский государственный технический университет
имени Ю. А. Гагарина,*

Саратов, Российская Федерация

В настоящее время загрязнение окружающей среды нефтью и продуктами ее переработки является глобальной проблемой. Нефтяные разливы приводят к экологическим катастрофам во всем мире. Ежегодно в России 15 млн тонн нефти попадает в окружающую среду в результате потерь при ее добыче, транспортировке и переработке. По степени вредного влияния на экосистемы нефть и нефтепродукты занимают второе место после радиоактивного загрязнения. Нефтяное загрязнение приводит к негативным изменениям в почвенных биоценозах, вследствие чего резко снижается продуктивность и ухудшается хозяйственная ценность земель. Самоочищение загрязненных территорий без вмешательства человека длится десятки лет, а последствия нефтяных загрязнений могут оказывать влияние на природные экосистемы в течение десятилетий и даже столетий.

Существующие способы очистки нефтезагрязненных территорий можно разделить на механические, физические, химические, биологические и фитомелиоративные. Наиболее экологически безопасными и эффективными считаются биологические способы. Среди биологических методов очистки окружающей среды от нефтяных загрязнений выделяют биостимуляцию – активацию природных микроорганизмов *in situ* и *ex situ* и биоремедиацию – внесение активных нефтеокисляющих микроорганизмов и проведение соответствующих агротехнических мероприятий [1-3].

Способность усваивать углеводороды нефти присуща микроорганизмам различных систематических групп. К ним относятся различные виды микромикетов, дрожжей и бактерий. Деструкторы нефти характеризуются способностью к усвоению широкого спектра углеводородов, включая и ароматические, обладают высокой скоростью роста и представляют большой практический интерес. Немалый интерес представляют спорообразующие бактерии, так как они наиболее устойчивы к различным неблагоприятным воздействиям окружающей среды [4, 5].

* yuliya.murzina.2000@mail.ru

† © Мурзина Ю.И., Коробейникова А.С., Басалаева Д.Л., Глинская Е.В., Нечаева О.В., 2021

В настоящее время активно ведётся поиск микроорганизмов, разрушающих нефть, в особенности при низких температурах. Активные формы микроорганизмов выделяются из разнообразных водных и почвенных экосистем, особенно загрязнённых углеводородами или нефтью, а также из микрофлоры нефти и пластовых вод нефтяных месторождений.

Целью исследования было выделение микроорганизмов-деконструкторов нефти из почв вблизи железных дорог на территории г. Саратова.

Работа проводилась на базе кафедры микробиологии и физиологии растений Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского.

Отбор проб почвы проводился в черте города Саратова рядом с железнодорожными станциями: Саратов-1, Вагонное депо, Студгородок, Площадь Ленина, Трофимовский-1. Отбор проб осуществляли в стерильные контейнеры и доставляли в лабораторию в течение суток.

Для выделения гетеротрофных бактерий и деконструкторов нефти использовали метод последовательных разведений и поверхностного посева на плотные питательные среды. Для приготовления почвенной суспензии отбирали по 1 г почвы из каждой пробы, суспендировали в 99 мл стерильной воды. В результате получали разведение 10^{-2} и из него последовательно готовили рабочие разведения до 10^{-8} . По 0,1 мл почвенной суспензии высевали на питательные среды: ГРМ-агар (Россия, Оболенск) и среду М9, в которой единственным источником углерода являлись углеводороды нефти. Посевы инкубировали в термостате при температуре $+28^{\circ}\text{C}$ в течение 1-3 суток. Через 24 часа осуществляли количественный учет микроорганизмов. Идентификацию выделенных микроорганизмов осуществляли на основании изучения фенотипических свойств по определителю бактерий Берджи.

Результаты показали, что в образцах почв вблизи железнодорожных станций присутствуют гетеротрофные бактерии, численность которых достигала 5 млрд КОЕ/г почвы (таблица 1). Из образцов почвы были изолированы бактерии, способные расти на минеральной среде М9 с добавлением нефти. Численность указанной группы достигала 5,5 млн КОЕ/г почвы.

Таблица 1

**Количественные показатели гетеротрофных бактерий
и бактерий нефтедеструкторов ($M \pm m$, $p \leq 0,05$)**

Места отбора проб	Гетеротрофные бактерии, Lg КОЕ	Бактерии -нефтедеструкторы, Lg КОЕ
Саратов-1	8,57 $\pm$ 2,64	6,74 $\pm$ 1,02
Вагонное депо	9,69 $\pm$ 1,85	6,79 $\pm$ 1,16
Студгородок	9,63 $\pm$ 1,97	6,76 $\pm$ 1,61
Площадь Ленина	9,56 $\pm$ 2,72	6,75 $\pm$ 1,27
Трофимовский-1	9,53 $\pm$ 1,96	6,74 $\pm$ 1,44

Среди выделенных штаммов доминировали грамположительны спорообразующие бактерии рода *Bacillus*: *B. benzoovorans*, *B. clausii*, *B. coagulans*, *B. halodurans*, *B. lentus*, *B. pseudomycoides*, *B. psychrodurans*.

Далее было проведено определение способности изолированных штаммов к росту на безуглеродной среде М-9 с различной концентрацией нефти: 1, 5, 10 %. Результаты показали, что при концентрации нефти в среде 1 и 5 % ее способны использовать в качестве единственного источника углеродного субстрата все выделенные виды бактерий рода *Bacillus*. При увеличении концентрации нефти до 10 % способность к ее использованию сохранили только вид *B. psychrodurans* (таблица 2).

Таблица 2

Способность выделенных микроорганизмов к использованию нефти в качестве единственного источника углерода на среде М9

Виды бактерий	Концентрация нефти в среде М9, %		
	1	5	10
<i>B. benzoovorans</i>	+	+	-
<i>B. clausii</i>	+	+	-
<i>B. coagulans</i>	+	+	-
<i>B. halodurans</i>	+	+	-
<i>B. lentus</i>	+	+	-
<i>B. pseudomycoides</i>	+	+	-
<i>B. psychrodurans</i>	+	+	+

Таким образом, если нефтезагрязнение составляет не более 5 % от массы почвы, то процесс деградации могут осуществлять все выделенные штаммы бактерий рода *Bacillus*, при 10 % загрязнении перспективным нефтедеструктором может быть штамм *B. psychrodurans*.

Список литературы

1. Коршунова Т. Ю., Четвериков С. П., Бакаева М. Д., Кузина Е. В., Рафикова Г. Ф., Четверикова Д. В., Логинов О. Н. Микроорганизмы в ликвидации последствий нефтяного загрязнения. Прикладная биохимия и микробиология. 2019. Т.55, № 4. С. 338-349.
2. Чернявская М. И., Абдуннаби А. Э. Титок, М. А. Первичная характеристика бактерий-деструкторов нефти. Вестник БГУ. 2012. № 2. С. 44-49.
3. Сопрунова О. Б., Ключаева М. А. Штаммы-деструкторы нефтяных углеводородов. Вестник АГТУ. 2007. № 1 (36). С. 180-183.
4. Лыонг Т. М., Нечаева И. А., Понаморева О. Н. Изучение эмульгирующих свойств бактерий-деструкторов углеводородов нефти. Актуальная биотехнология. 2014. № 3 (10). С. 108-109.

5. Мокеева А. В., Алексеев А. Ю., Емельянова Е. К. Ассоциация штаммов бактерий-нефтедеструкторов для ремедиации нефтезагрязненных территорий. Вестник НГУ. 2011. № 3. С. 27-33.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЕТЕРИНАРНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ

**Л.И. Мухаметова^{*}, А.А. Багдасарян,
М.Р. Каримова, С.А. Еремин[†]**

*Химический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия*

Интенсивное развитие животноводства часто сопровождается развитием и распространением болезней при большом совместном содержании животных. Для решения этой проблемы ветеринарные препараты часто используются не только в лечебных, но и в профилактических целях. Из организма животных ветеринарные лекарственные препараты могут попадать в окружающую среду как в нативном так и в частично метаболизированном виде и достигать природных вод.

В настоящее время проблема загрязнения водной среды лекарственными препаратами привлекает к себе повышенное внимание. Особое место в этом ряду занимают антибиотики, которые полностью не удаляются из сточных вод на очистных сооружениях и попадают в природные водоемы и питьевую воду. В связи с малой изученностью остаются открытыми все аспекты данной проблемы: мониторинг антибиотиков в водах, их взаимодействие с другими препаратами, оценка степени токсичности, определение эффективности методов удаления.

В свою очередь определение антибиотиков в сточных водах и водоемах окружающей среды сталкивается с рядом проблем. Это связано с тем, что анализируемые вещества присутствуют в водных средах в низких концентрациях, а сама анализируемая матрица может иметь чрезвычайно сложный состав. Разработка новых и усовершенствование уже существующих методов как качественного, так и количественного определения лекарственных препаратов в водных средах являются весьма трудной и актуальной задачей. Для анализа лекарственных препаратов наиболее распространен метод высокоэффективной жидкостной хроматографии чаще всего он используется в комбинации с тандемной масс-спектрометрией, поскольку в этом случае реализуется возможность селективного и высокочувствительного определения препаратов при минимальной интерференции сопутствующих веществ. Однако данный метод требует дорогостоящего оборудования и высококвалифицированного персонала.

Важным вопросом также остается пробоподготовка воды для анализа. Обычно она предполагает выделение лекарственных препаратов и их предварительное концентрирование методом твердофазной экстракции, однако это требует длительного времени и связано с большим расходом реагентов. В настоящее время для предварительного концентрирования разрабатываются методы с применением магнитных частиц.

^{*} liliya106@mail.ru

[†] © Мухаметова Л.И., Багдасарян А.А., Каримова М.Р., Еремин С.А., 2021

В ветеринарии наиболее часто используются антибиотики макролидного ряда – тилозин, и ионофорные полиэфирные антибиотики, такие как салиномицин и мадуромицин. Поэтому актуальной проблемой становится определение данных антибиотиков в водной среде.

Перспективными методами определения антибиотиков в окружающей среде являются иммунные методы. В настоящий момент иммунохимические методы анализа уже широко используются в работе диагностических лабораторий в различных областях медицины и сельского хозяйства – иммуноферментный анализ (ИФА), поляризационно-флуоресцентный иммуноанализ (ПФИА) и иммунохроматографический анализ. Иммунохимическая реакция взаимодействия антиген – антитело не сопровождается практически никакими изменениями свойств реакционной системы. Для детекции аналитического сигнала, пропорционального количеству образовавшегося иммунокомплекса, используют различного рода метки, вводимые в один из исходных компонентов реакционной смеси. Эти метки затем легко детектируются соответствующим физико-химическим методом. Метод поляризационно-флуоресцентного иммуноанализа позволяет с высокой специфичностью и чувствительностью определять низкомолекулярные аналиты в гомогенной среде без разделения. ПФИА имеет ряд существенных преимуществ перед методом ИФА: возможность автоматизации системы анализа, большая точность, стабильность метки, меньшая подверженность влиянию температуры и pH среды, характерному для фермент-субстратных отношений, а также быстроту и простоту проведения анализа. Метод ПФИА заключается в конкуренции определяемого вещества и вещества меченного флуоресцентной меткой (трейсера) за связывание с ограниченным количеством антител и определении степени поляризации флуоресценции трейсера. Чем больше в образце определяемого соединения, тем ниже будет поляризация флуоресценции смеси. Метод ПФИА довольно прост в постановке и заключается в добавлении к исследуемому образцу (обычно 10-50 мкл) аликвоты трейсера и раствора антител, инкубации в течение нескольких минут и измерении поляризации флуоресценции на поляризационном флуориметре. Общее время анализа с пробоподготовкой составляет несколько минут.

В настоящей работе были получены флуоресцентно меченные трейсеры для определения тилозина, мадуромицина и салиномицина. Подобраны и охарактеризованы пары иммунореагентов (трейсеры и антитела) для определения данных антибиотиков. Оптимизированы условия проведения ПФИА, получены калибровочные кривые и определены аналитические характеристики метода: предел обнаружения, диапазон определяемых концентраций и чувствительность.

С помощью разработанных методов ПФИА определения антибиотиков наиболее часто используемых в ветеринарии были проверены образцы воды, отобранные в водоемах Москвы и Подмосковья.

Таким образом в данной работе разработаны методы определения тилозина, салиномицина и мадуромицина с помощью поляризационно флуоресцент-

ного иммуноанализа, точность метода проверена тестом введено-найденно и протестированы реальные образцы воды.

Исследование выполнено в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета "Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды"

ПОСТОЯННЫЕ ПРОБНЫЕ ПЛОЩАДИ ДЛЯ ДЛИТЕЛЬНОГО МОНИТОРИНГА ЛЕСНОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ

Н.Ф. Овчинникова^{*†}

*Институт леса им. В.Н. Сукачева, ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия*

Оценивая устойчивость той или иной экосистемы необходимо установить параметры, определяющие состояние системы и ее устойчивость. В лесу, как экосистеме, древостой является доминантной подсистемой (дендросистемой), в изучении которой необходимо учитывать масштаб времени и пространства. Из-за продолжительного роста и развития практически трудно непосредственно проследить динамику даже одного поколения деревьев, образующих древостой. Современные сведения о закономерностях роста деревьев получены в основном методом однократных измерений в древостоях разного возраста, объединенных во временные, «естественные» ряды по классам бонитета или типам леса, которые считались условно стабильными [1]. Таким методом составлены таблицы хода роста, которые могут использоваться для технических расчетов на короткий период, но они не отражают действительный ход роста отдельных насаждений с учетом особенностей состава и возрастной структуры древостоя, лесорастительных условий, происхождения, истории развития [2, 3].

Часто специалисты разного профиля используют материалы лесоустройств, которые изначально ориентированы на определенные хозяйственные цели [4] и не содержат информацию о экологических и биологических основах устойчивости природных дендросистем. Исследования с середины XVIII в. динамики древостоев привели к противоречивым выводам о общих закономерностях. Несмотря на постоянно разрабатываемые методы изучения многолетней динамики в наиболее короткие сроки, единой количественной теории возрастной динамики лесной растительности не существует [3]. Оценивать состояние покрытых лесом площадей, указывать на отдельные причины их изменений, до определенной степени могут современные методы дистанционного мониторинга [5, 6, 7]. Однако фактические закономерности роста и механизмы устойчивости лесных экосистем позволяют выявить только специальные длительные наземные наблюдения за постоянными объектами на постоянных пробных площадях.

Естественное изреживание древесной растительности является наиболее трудным для изучения. В то же время, его очень важно правильно учитывать для решения научных и практических задач. Существует большое число моделей изреживания древостоев, но для большинства подобранных формул изреживания количественное совпадение расчетных значений численности с данными таблиц хода роста и с данными на пробных площадях спорное [2, 3, 8]. В

^{*} nf@ksc.krasn.ru

[†] © Овчинникова Н.Ф., 2021

основе естественного изреживания древостоев лежит процесс дифференциации деревьев на всех стадиях онтогенеза. Наблюдаемое варьирование роста деревьев в пределах ценопопуляции можно объяснить генотипом, неоднородностью условий произрастания и конкуренцией между соседними деревьями. Имеет значение начальная густота насаждения, так как она определяет момент смыкания крон и корневых систем деревьев. Одновременность этого процесса в древостое или его растянутость во времени определяет размещение деревьев.

Для изучения пространственной структуры древостоев используются различные методы [3, 7, 8 и др.]. Обычно принято выделять три основных типа размещения: случайное, равномерное и групповое [9]. В естественных дендросистемах можно выделить одновременно все эти типы. Они согласуются с исторически сложившимся принципом «однородности» объекта исследования [1]. При мозаичном распределении деревьев в равнинных лесах относительная «однородность» изучаемых древесных ценозов достигается обоснованными размерами пробных площадей. На склоне увеличение размера пробной площади неизбежно ведет к усилению неоднородности изучаемого древостоя. Это принципиальное различие равнинных и горных лесов не учитывается многими исследователями. При фактически фундаментальном постулате о первостепенном влиянии на формирование и дифференциацию почвенно-растительного покрова геоморфологических факторов среды, включающих разнообразные особенности рельефа местности, в науке сохраняется умозрительность о масштабах однородности растительного покрова, практически лишенная количественного содержания [6]. В горных лесах, которые в Сибири наиболее представлены, экспозиция и крутизна склона определяют условия роста растительности. Но топографическая съемка пробных площадей представляется лишь картами с горизонталями. Высота местности у основания ствола дерева не определяется при закладке постоянных пробных площадей с нумерацией и картированием деревьев. Поэтому предложены способы расчетного определения высоты места основания стволов деревьев на пробной площади [10, 11, 12]

Данные наиболее длительного изучения древостоев в Сибири (с 60-х годов XX в.), оформленные в пополняемую электронную базу данных [13], и разработанный алгоритм определения высоты местности у основания ствола каждого закартированного на площади дерева, позволяют более полно оценить влияние рельефа на лесную растительность. Результаты исследований показали, что на сравнительно небольших пробных площадях (40x50 м) при крутизне склона 5-8° наблюдается статистически достоверное различие в пространственной структуре и росте древостоев на склоне. Делается вывод о необходимости учета клинального размещения [14] и неравномерного роста деревьев по склону при изучении лесных экосистем, моделировании и проведении лесохозяйственных мероприятий. Клинальное размещение деревьев, характеризующееся постепенным и направленным изменением густоты древостоев по склону, можно рассматривать как проявление механизма устойчивости дендросистем лесообразователей к отличающимся разнообразием внешним условиям среды и «парадоксом конкуренции», когда при увеличении питательных веществ или воды

наблюдается усиление роста и отпада деревьев [15]. В сосновом древостое обнаружен эффект «стягивания» – сближение густоты со временем [16].

В настоящее время необходима кооперация ученых, специалистов разных организаций для сохранения объектов и данных длительного мониторинга лесной растительности на постоянных пробных площадях, создаваемых более полувека в разных лесорастительных условиях, важность и актуальность которых со временем только растет [3, 17].

Список литературы

1. Сукачев В.Н. Избранные труды. Т. I: Основы лесной типологии и биогеоценологии. Л.: Наука, 1972. 418 с.
2. Демаков Ю.П. Устойчивость лесных экосистем: диагностика, прогноз, управление (на примере сосняков Марийского Заволжья): автореф. дис. ...д-ра биол. наук: 06.03.03. 03.00.16. Москва, 2000. 43 с.
3. Кузьмичев В.В. Закономерности динамики древостоев. Новосибирск: Наука, 2013. 208 с.
4. Михайлов Н.А. Условия местопроизрастания, как основа лесного хозяйства. Петроград: «Якорь», 1914. 88 с.
5. Данилин И.М., Медведев Е.М. Некоторые результаты международного проекта по исследованию возможностей лазерной, радарной и цифровой аэро съемки лесов. Лесной журнал. 2008. № 1. С. 15-23
6. Ризаев И.Г. Геоморфологические аспекты исследования растительного покрова на основе лазерной альтиметрии: на примере Западного Кавказа: автореф. дис. ... канд. геогр. наук: 25.00.25. Краснодар, 2010. 24 с.
7. Illian J. et al., Statistical Analysis and Modelling of Spatial Point Patterns. Chichester, USA, Wiley, 2008. 560 p.
8. Pretzsch H. Forest Dynamics, Growth and Yield. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2009. 664 p.
9. Одум Ю. Основы экологии: Пер. с англ., М.: Мир, 1975. 740 с.
10. Овчинникова Н.Ф., Овчинников А.Е. Динамика структуры осинового древостоя в черневом поясе Западного Саяна. Лесоведение. 2016, № 6. С. 418-425.
11. Овчинникова Н.Ф. Изучение влияния рельефа на динамику пространственной структуры и рост древостоев. Моделирование неравновесных систем: Материалы XXII Всероссийского семинара, Красноярск: Институт вычислительного моделирования Сибирского отделения РАН, 2019. С. 73-78.
12. Овчинникова Н.Ф., Овчинников А.Е. Способ определения высоты места произрастания деревьев на склонах. Актуальные проблемы сохранения биоразнообразия и экологически сбалансированного природопользования на Западном Кавказе: Материалы Международной конференции, посвященной 20-летию сотрудничества Абхазского государственного университета и Института экологии горных территорий им. А.К. Темботова РАН, 25-летию Института экологии горных территорий им. А.К. Темботова РАН. Нальчик, 2019. С. 110-111.

13. Овчинникова Н.Ф., Овчинников А.Е. Учеты деревьев на постоянных пробных площадях Красноярского края. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2011620706, заявл. 05.08.2011, зарег. 30.09.2011.
14. Ипатов В.С., Кирикова Л.А. Фитоценология. СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 1997. 316 с.
15. Сеннов С.Н. Итоги экспериментального изучения конкуренции в древостоях. Известия С.-Петербург. лесотехн. акад. СПб, 1993. С. 160-172.
16. Овчинникова Н.Ф., Овчинников А.Е. Влияние склона на рост соснового древостоя и динамику его горизонтальной структуры на постоянной пробной площади в низкогорье Восточного Саяна. Математическое моделирование в экологии: мат. V нац-ой науч. конф. с междунар. уч-ем, Пущино, 16-20 окт. 2017 г. Пущино: ИФХ иБПП РАН, 2017. С.144-146.
17. Permanent Sample Plots: More than just forest data Proceedings of International Workshop on Promoting Permanent Sample Plots in Asia and the Pacific Region: Bogor, Indonesia, 3-5 August 2005/ed. Bogor, Indonesia: Center for International Forestry Research (CIFOR), 2006. 169 p.

ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ ПИГМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ НА ДЕЙСТВИЕ ФИТОФАГОВ

С.Ю. Огородникова^{1*}, С.В. Пестов^{1,2†}

¹Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
Сыктывкар, Россия

²Вятский государственный университет,
Киров, Россия

Галловые клещи (Eriophyidae) являются облигатными фитофагами широкого круга растений, ведут скрытый образ жизни, развиваясь в тканях листьев и стеблей растений [1]. Они широко распространены как в природных экосистемах, так и в созданных человеком растительных сообществах [2]. Особенностями группы является, очень тесная связь с кормовым растением и защищённость фитофагов от хищников и неблагоприятных условий среды [3]. В литературе имеются сведения о физиолого-биохимических аспектах взаимодействия галловых клещей с растениями хозяевами [4].

Целью данной работы было изучение ответных реакций пигментного комплекса листьев древесных растений на действие фитофагов – галлообразователей.

Сбор растительного материала проводили на территории Дендропарка лесоводов Кировской области (подзона южной тайги). Для выявления степени повреждения деревьев галловыми клещами отбирали по 10 листьев с 10 деревьев. Содержания фотосинтетических пигментов в листьях определяли на спектрофотометре SPEKOL 1300 (Analytik Jena, Германия). Навеску листьев взвешивали, фиксировали кипящим 100 % ацетоном, содержание хлорофилла а, б и каротиноидов определяли в ацетоновой вытяжке при длинах волн 662, 644 и 470 нм соответственно [5, 6].

Выявлено, что на изучаемой территории широко распространены шесть видов галлообразователей. Все выявленные виды галловых клещей являются монофагами. Повреждения листьев на липе (*Eriophyes leiosoma*), осине (*Aceria varia*) и рябине (*Eriophyes sorbi*) и вязе (*Eriophyes ulmicola*), представляют беловатые или желтоватые войлочные, как правило, на нижней стороне листа. Клещи *Eriophyes tiliae* на липе и *Eriophyes padi* на черемухе образуют вытянутые (рожковидные) галлы на верхней стороне листа. Наиболее многочисленным видом был черемуховый клещ, доля повреждённых растений достигала 27 %. Редко встречались рябиновый клещ, липовый войлочный и вязовый клещ (доля повреждённых растений менее 1 %).

Заселение листьев галловыми клещами оказывает влияние на состояние фотосинтетического аппарата листьев древесных растений. Среди изученных растений более чувствительными к поражению галлами были липа и черемуха.

* svetao_05@mail.ru

† © Огородникова С.Ю., Пестов С.В., 2021

В листьях липы с галлами (*E. leiosoma*) содержание суммы хлорофиллов было меньше на 22 %, по сравнению со здоровыми листьями. При повреждении листьев галлами в большей степени снижалось накопление хлорофилла б (28 %), что свидетельствует о его повышенной чувствительности, по сравнению с хлорофиллом а. Каротиноиды отличались большей устойчивостью к действию галловых клещей, их содержание достоверно не изменялось.

Поражение галлообразователями листьев черемухи инициировало снижение уровня зеленых пигментов, хлорофилл б был более чувствителен к повреждению листьев галловым клещом, по сравнению с хлорофиллом а, что отмечено и для растений липы (табл.). В листьях черемухи, поврежденных галлами изменялось соотношение хлорофиллов а/б, что обусловлено достоверным снижением уровня хлорофилла б, по сравнению с листьями без повреждений. Каротиноиды, по сравнению с хлорофиллами, были более устойчивы к действию фитофагов.

Для оценки непосредственного влияния галлообразователей на состояние пигментного комплекса были удалены участки с видимыми повреждениями (галлами) и изучено содержание пигментов в пораженных клещами листьях без видимых повреждений. На участках листьев без видимых повреждений уровень хлорофиллов был на 40 % выше, чем на участках листьев с галлами. Низкое содержание хлорофиллов на участках листьев с галловыми разрастаниями свидетельствует об угнетении процессов биосинтеза пигментов при заселении растительных тканей клещами. Сходные эффекты были представлены в исследовании [7].

Таблица

**Содержание пигментов в листьях черемухи,
пораженных галлообразователями, мг/г сухой массы**

Вариант	Содержание, мг/г сухой массы		
	хлорофилл		каротиноиды
	а	б	
Листья без повреждений	3,81±0,12	2,56±0,09	0,98±0,02
Листья с повреждениями (с галлами)	3,18±0,02	1,84±0,30	0,99±0,01
Листья с повреждениями (с удаленными галлами)	4,11±0,07	2,89±0,28	1,06±0,01

Пигментный комплекс листьев осины отличался повышенной устойчивостью к поражению тканей галловыми клещами. Содержание и соотношение пластидных пигментов в листьях осины при заселении клещами не изменялось.

Сходные изменения в пигментном комплексе отмечали при повреждении листьев рябины и вяза галловыми клещами (рис.). Уровень хлорофиллов и каротиноидов в листьях с галлами был снижен на 12–16 %, по сравнению с неповрежденными листьями.

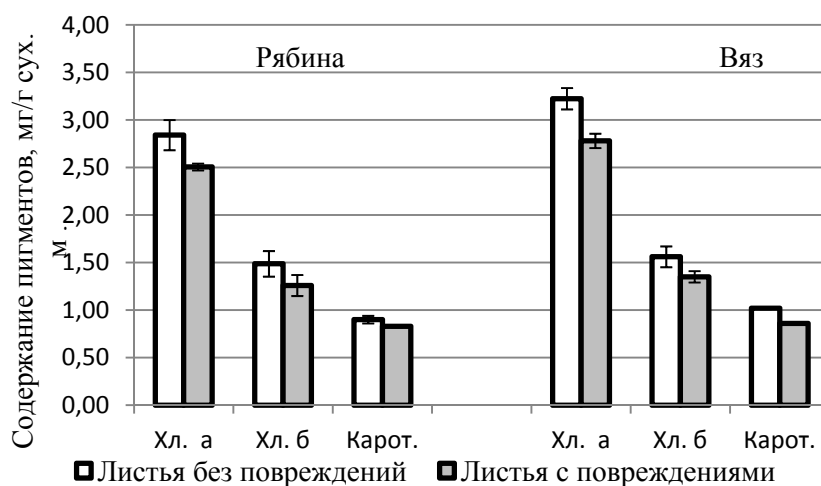


Рис. Содержание пигментов в листьях рябины и вяза, поврежденных галловыми клещами

Таким образом, на исследованной территории на листьях деревьев встречено шесть видов галловых клещей. Все выявленные виды галлообразователей представлены монофагами. Поражение листьев галловыми клещами оказывало влияние на содержание и соотношение пластидных пигментов в листьях. Степень изменений в пигментном комплексе растений зависела от вида растений и вида галловых клещей. Среди изученных видов растений значительные изменения в пигментном комплексе отмечали в листьях липы и черемухи, заселенных фитофагами. Это может быть связано с высокой долей листьев, пораженных клещами, а также типом повреждений листьев липы и черемухи, которые вызывают галлообразователи – рожковидные галлы на верхней стороне листа. В листьях осины, вяза и рябины пораженных клещами, которые вызывают образование войлочек на нижней стороне листа, изменения в пигментном фонде были незначительны.

Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии Коми НЦ УрО РАН по теме «Оценка и прогноз отсроченного техногенного воздействия на природные и трансформированные экосистемы подзоны южной тайги» № гос. регистрации АААА-А17-117121990125-5

Список литературы

1. Белицкая М.Н. Особенности фауны галлообразователей в полезащитных лесополосах аридной зоны // Экология России: на пути к инновациям. 2015. № 11. С. 105–107.
2. Леонтьева И.А., Яковлева И.А. Обзор фауны галлообразующих членистоногих городских зеленых насаждений г. Елабуги // Успехи современной науки и образования. 2017. Т. 8, № 4. С. 180–187.
3. Skoracka A., Smith L. Oldfield G., Cristofaro M., Amrine J. W. Host-plant specificity and specialization in eriophyoid mites and their importance for the use of

eriophyoid mites as biocontrol agents of weeds // Exp. Appl. Acarol. 2010. Vol. 51 P. 93 – 113.

4. Аникин В. В., Никельшпарг М. И., Никельшпарг Э. И., Конюхов И. В. Фотосинтетическая активность у повилики *Cuscuta campestris* (Convolvulaceae) при заселении растения галлообразователем-долгоносиком *Smicronyx smreczynskii* (Coleoptera, Curculionidae) // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, № 1. С. 42 – 47.

5. Шлык А. А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1971. С. 154–170.

6. Маслова Т. Г., Попова И. А., Попова О. Ф. Критическая оценка спектрофотометрического метода количественного определения каротиноидов // Физиология растений. Т. 39, № 6. 1986. С. 615 – 619.

7. Kmiec K., Rubinowska K., Michalek W., Sytykiewicz H. The effect of gall-ing aphids feeding on photosynthesis photochemistry of elm trees (*Ulmus* sp.) // Photosynthetica. 2018. Vol. 56, № 4, P. 989 – 997. DOI: 10.1007/s11099-018-0813-9.

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ КРОВИ КАК МЕТОД ОЦЕНКИ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ХОЛОДОВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

В.П. Патракеева^{*†}

*ФГБУН ФИЦ комплексного изучения Арктики
им. академика Н.П. Лавёрова Уральского отделения РАН,
Институт физиологии природных адаптаций,
Архангельск, Россия*

Температура является важным фактором, определяющим возможность активной жизнедеятельности в условиях Севера. Способность человека адаптироваться без формирования патологических состояний обеспечивается наличием функциональных резервов. Иммунная система интегрально отражает состояние организма и нормальное функционирование иммунокомпетентных клеток (ИКК) является необходимым условием для успешной адаптации. Определение изменения функциональной и метаболической активности ИКК, в ответ на воздействие негативного фактора, может быть использовано для оценки индивидуальной холодовой чувствительности.

Проведено обследование 180 человека в возрасте от 25 до 55 лет до и после кратковременного общего охлаждения в холодовой камере при -25°C в течение 5 минут. Забор крови из локтевой вены до и сразу после охлаждения. Все волонтеры были практически здоровые, на момент обследования не имели хронических и/или рецидивирующих заболеваний. Исследования проводились в соответствии с принципами Хельсинкской декларации 1975 г. (2013г.). На проведение исследования получено разрешение этической комиссии ИФПА ФГБУН ФИЦКИА УрО РАН (протокол № 4 от 7 декабря 2016г.). Лейкограмму определяли на гематологическом анализаторе XS-1000i (Sysmex, Япония). ИФА определяли концентрации цитокинов IL-10, IL-6, TNF α , иризина на АИФА Evolis (Bio-Rad, Франция). Оценку содержания гликогена проводили цитохимически (НПФ Абрис+, Россия). Результаты исследования проведены в 3 группах, в зависимости от изменения уровня лимфоцитов в периферической крови после кратковременного общего охлаждения. В 1-ой группе – содержание лимфоцитов снизилось в 1,5-2 раза с $2,1(1,77-2,44)$ до $1,69(0,95-2,16) \times 10^3$ кл/мкл, во 2-ой группе – не установлено достоверных изменений $(1,88(1,46-2,17)$ и $1,82(1,46-2,56) \times 10^3$ кл/мкл), в 3-ей группе – содержание лимфоцитов повысилось с $1,49(1,26-1,74)$ до $2,22(1,48-2,61) \times 10^3$ кл/мкл. Группы не различались по возрасту и индексу массы тела. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 10. В связи с тем, что распределение признаков не подчинялось закону нормального распределения (Shapiro-Wilk's), данные представлены в виде медианы, 25- и 75-перцентилей Me (25-75). Мно-

^{*} patrakeewa.veronika@yandex.ru

[†] © Патракеева В.П., 2021

жественные сравнения значений (3 группы) – Kruscal-Wallis ($p < 0,05$). Попарные сравнения – критерий Mann-Whitney ($p < 0,017$).

Установлено, что для обследованных лиц первой группы характерно изначально более высокое фоновое содержание лимфоцитов в периферической крови – $2,1 (1,77-2,44) \times 10^3$ кл/мкл. В двух других группах уровень циркулирующих лимфоцитов достоверно ниже и составил во второй группе – $1,88(1,46-2,17) \times 10^3$ кл/мкл ($p^{1-2}=0,0035$), в третьей – $1,49 (1,26-1,74) \times 10^3$ кл/мкл ($p^{2-3}=0,0078$; $p^{1-3}=0,0001$). У большей части обследованных лиц значимо не изменяется уровень лимфоцитов в ответ на кратковременное охлаждение, что вероятно связано с устойчивостью данной группы людей к такому воздействию и оно не является для них стрессовым. Снижение числа клеток в 1-ой группе может быть связано с усилением их миграционной активности. Повышение числа лимфоцитов в 3-ей группе, учитывая короткий период воздействия, вероятное всего связано с усилением их выхода из депо и пополнения за счет этого циркулирующего пула. Не исключено, что в данной группе дальнейшее холодовое воздействие может привести к усилению миграционной активности лимфоцитов и, соответственно, снижению их уровня в периферической крови. В соответствии со снижением уровня лимфоцитов увеличивается и частота регистрации лимфопении (содержание лимфоцитов менее $1,5 \times 10^3$ кл/мкл) в группах с $7,5 \pm 0,68$ % – в первой, до $23,08 \pm 0,53$ % – во второй и $42,11 \pm 3,39$ % – в третьей. При этом более низкое фоновое содержание лимфоцитов в третьей группе не компенсируется повышением числа нейтрофилов. В первой и второй группе содержание нейтрофилов фактически одинаковое, а в третьей регистрируется значительное снижение ($p^{1-3}=0,0132$; $p^{2-3}=0,0216$) (рисунок 1). Кроме того, для третьей группы характерна высокая частота нейтропении (содержание нейтрофилов $< 2,0 \times 10^3$ кл/мкл) – в $21,05 \pm 1,55$ % случаев, что отражает дизадаптационные процессы и нарушение баланса в системе механизмов иммунного гомеостаза и может привести к формированию вторичного экологически обусловленного иммунодефицита. В 1-ой и 2-ой группах нейтропения выявляется значительно реже, соответственно у $5 \pm 0,03$ % и $9,5 \pm 0,11$ % обследованных.

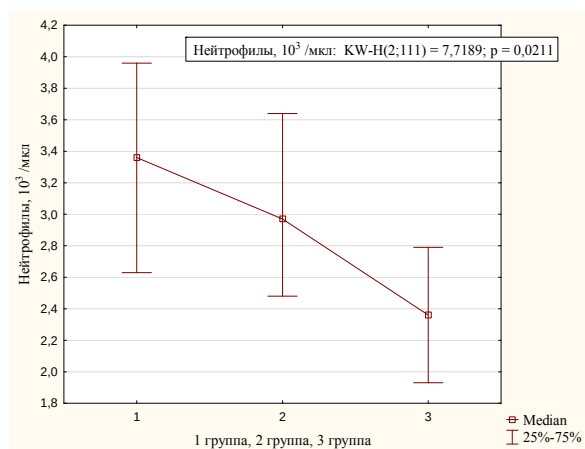


Рис. 1. Содержание нейтрофилов в группах обследования

При изучении цитокинового профиля установлено, что для первой группы обследованных характерно более высокое содержание противовоспалительного цитокина IL-10 – 3,03 (2,34-9,29) пг/мл, во-второй и третьей группах соответственно 2,34 (0,89-4,93) и 2,43 (0,95-4,08) пг/мл ($p^{1-2}=0,0286$). Достоверных различий в концентрации IL-10 во второй и третьей группах не установлено. При этом в первой группе достоверно ниже концентрация провоспалительных цитокинов IL-6 и TNF α (таблица 1).

Таблица 1

Содержание цитокинов в периферической крови, Ме(25-75)

	Снижение лимфоцитов	Без изменения уровня лимфоцитов	Повышение лимфоцитов	Достоверность различий
IL-6 пг/мл	1,23 (0,47-2,71)	4,49 (0,86-5,04)	2,61 (0,58-5,17)	0,0116 (p^{1-2})
TNF α , пг/мл	1,34 (0,8-3,57)	9,72 (1,56-12,68)	2,95 (1,34-14,06)	0,0008 (p^{1-2})

Важную роль в холодовой реакции играет метаболическая активность клеток. Известно, что распад гликогена активизируется достаточно быстро, при этом процессе для синтеза АТФ необходимо в среднем 2-4 минуты. Оценивая уровень гликогена в клетках нами было установлено, что при кратковременном охлаждении уровень гликогена в нейтрофилах остается фактически неизменным во всех группах (в первой группе – 97 и 94,5 %; во-второй группе – 97,4 и 96,9 %; в третьей группе – 96 и 97 %). Содержание гликогена в лимфоцитах значительно снижаются в первой группе с 4 до 2,83 % ($p=0,0056$), в двух других группах – не изменяется (во второй группе – 5,8 и 6,2 %; в третьей группе – 3,6 и 4,8). Такое сокращение гликогена отражает запуск метаболических реакций, направленных на повышение уровня АТФ в лимфоцитах, которое было нами ранее установлено [1]. Важную роль в холодовой реакции играет иризин, белок, способствующий повышению метаболической активности клеток, уровня АТФ в них и обеспечивает адаптивную реакцию термогенеза [2]. В первой группе обследованных регистрируется самое высокое содержание иризина – 6,29 (3,04-7,98) мкг/мл. Для второй и третьей группы характерны более низкие уровни – 3,06 (1,59-6,70) и 4,32 (3,11-8,08) мкг/мл ($p^{1-2}=0,005$). Таким образом, более высокий уровень иризина обеспечивает термогенную способность, а также, опосредованно интегринами, увеличивает адгезию иммунокомпетентных клеток, усиливая их миграцию, что отражается в снижении уровня лимфоцитов в циркуляции [3].

Таким образом, снижение концентрации лимфоцитов в ответ на кратковременное холодовое воздействие происходит при повышении их метаболической и миграционной активности. Данные изменения можно рассматривать как адаптивные, обеспечивающие организму адекватную реакцию на холод. Повышение содержания лимфоцитов в циркуляции отражает несостоятельность ответа на холод и ассоциировано с более высокими уровнями провоспалительных цитокинов, без активизации реакций термогенеза.

Работа выполнена в рамках программы фундаментальных научных исследований по теме лаборатории экологической иммунологии Института физиологии природных адаптаций ФГБУН ФИЦКИА УрО РАН № гос. регистрации АААА-А17-117033010124-7.

Список литературы

1. Патракеева В.П., Самодова А.В. Влияние кратковременного общего охлаждения на миграцию, рециркуляцию и энергетический ресурс иммунокомпетентных клеток периферической крови человека // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2017. Т. 14. № 4. С. 362-368.
2. S. Wei, J. Bi, L. Yang, J. Zhang, Y. Wan, X. Chen, Y. Wang, Z. Wu, Y. Lv, R. Wu /Serum irisin levels are decreased in patients with sepsis, and exogenous irisin suppresses ferroptosis in the liver of septic mice // Clinical and translational medicine. 2020. Vol. 10. № e173, 10.1002/ctm2.173.
3. P.K. Myint, Atsushi Ito M.D., Michael G. Appiah, Gideon Obeng, Samuel Darkwah Ph.D., Eiji Kawamoto M.D., Ph.D., Arong Gaowa Ph.D., Eun Jeong Park Ph.D., Motomu Shimaoka M.D., Ph.D. Irisin supports integrin-mediated cell adhesion of lymphocytes // Biochemistry and Biophysics Reports. 2021. Vol. 26. № 100977.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ СТЕПНЫХ ПОЧВ САРАТОВСКОГО ЗАВОЛЖЬЯ СО СЛАБЫМ И УМЕРЕННЫМ АНТРОПОГЕННЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ

Е.В. Плешакова^{1*}, К.Т. Нгун¹, М.В. Решетников^{1,2†}

¹*Саратовский национальный исследовательский государственный университет
имени Н.Г. Чернышевского,
Россия*

²*Центр исследования керна и пластовых флюидов
Филиала ООО «ЛУКОЙЛ-Инжиниринг» «КогалымНИПИнефть»,
Тюмень, Россия*

Проблемам загрязнения городских почв тяжелыми металлами (ТМ) и углеводородами (УВ) уделяется большое внимание как в России [1, 2], так во многих других странах [3]. В то же время крайне мало исследований эколого-функциональных, биологических, геохимических и физико-химических свойств почв малопромышленных городов. Показано, что размер населенного пункта (число жителей и связанное с этим количество отходов, вносимых в ландшафт), а также профили предприятий, действующих в населенном пункте, определяют техногенную миграцию элементов в почвах [4]. Степень деградации почв под действием ксенобиотиков и способы реабилитации во многом зависят от свойств самих почв, от климатических особенностей местности. Для Саратовской области, относящейся к степной зоне восточной части Европейской территории России, представительны степные почвы, которые характеризуются определенной уязвимостью к загрязнителям, обусловленной засушливым климатом и избыточным накоплением в почвенном профиле или в подпочвенных слоях карбонатов, хлоридов, сульфатов. Цель настоящих исследований – оценить эколого-функциональное состояние степных почв Саратовского Заволжья при слабом и умеренном антропогенном воздействии на примере малопромышленного города Красный Кут. Специализация г. Красный Кут Саратовской обл. площадью 8 км² и с населением 14,8 тыс. человек представлена предприятиями районного значения машиностроительной, металлообрабатывающей, электроэнергетической и пищевой промышленности, на территории которых фиксируются относительно неблагоприятные экологические условия. Негативное воздействие антропогенной деятельности на окружающую среду наблюдается также в районах городской свалки твердых бытовых отходов, полей фильтрации, гаражной застройки.

В малопромышленном городе Красный Кут, расположенном в южной части Саратовского Заволжья в зоне сухих типчаково-ковыльных степей на слабовсхолмленной равнине, нами были отобраны и исследованы каштановые солонцеватые и каштановые карбонатные почвы, сформированные при неустойчивом и недостаточном естественном увлажнении, отнесенные нами к есте-

* plekat@yandex.ru

† © Плешакова Е.В., Нгун К.Т., Решетников М.В., 2021

ственным поверхностно-преобразованным почвам (урбо-почвам). В результате анализов во всех изученных почвенных пробах на территории г. Красный Кут были обнаружены повышенные концентрации подвижных форм: Zn (11,26-227,83 мг/кг почвы), в большинстве проб превышающие ПДК (23,0 мг/кг почвы); Cu (5,46-325,39 мг/кг почвы), превышающие ПДК (3,0 мг/кг); Pb (8,60-61,89 мг/кг почвы), превышающие ПДК (6,0 мг/кг почвы); Ni (4,56-28,07 мг/кг почвы), превышающие ПДК (4,0 мг/кг почвы). Коэффициент опасности Zn варьировал в диапазоне от 0,49 до 9,91; Cu – от 1,82 до 108,46; Pb – от 1,43 до 10,32; Ni – от 1,14 до 7,02. Среднее содержание Cr в подвижной форме составило 3,97 мг/кг почвы, что было ниже ПДК (6,0 мг/кг почвы). Среднее значение коэффициента опасности Cr равнялось 0,66. Среднее содержание Cd в подвижной форме составило 0,34 мг/кг почвы, что было ниже ПДК (1,0 мг/кг почвы). Среднее значение коэффициента опасности Cd равнялось 0,34. Превышение Cr и Cd над ПДК зарегистрировано только в одной пробе (5,63 и 2,19 ПДК соответственно). Полученные результаты согласуются с данными авторов [4], показавшими, что в городах независимо от их размера первостепенными загрязнителями почв выступают Zn и Pb.

Суммарный коэффициент загрязненности (Z_c) на исследованной территории, как показали расчеты, варьировал в пределах от 1,03 до 118,91 ед. К категории почв с допустимым уровнем загрязнения (Z_c от 0 до 16 ед.) были отнесены 18 проб, 4 пробы отнесены к категории с умеренно опасным уровнем загрязнения (Z_c от 16 до 32 ед.) и 2 пробы отнесены к категории с опасным уровнем загрязнения (Z_c от 32 до 128 ед.).

Известно, что возрастание магнитной восприимчивости поверхности городских почв указывает на техногенное воздействие и накопление в почве сильномагнитных соединений железа в результате индустриальной деятельности [5]. Значения коэффициента магнитности (K_{mag}) в почвах г. Красный Кут, как показали наши исследования, варьировали от 0,25 до 4,93 ед. В соответствии со шкалой М.В. Решетникова [6] почвы на большей части территории г. Красный Кут были отнесены нами к категории почв с допустимой степенью привноса техногенных магнитных частиц ($K_{mag} < 1$). Пять почвенных проб отнесены к категории с умеренной степенью привноса техногенных магнитных частиц ($1 < K_{mag} < 1,5$), выявлена одна точечная аномалия с опасной степенью привноса техногенных магнитных частиц ($K_{mag} = 4,93$). Значения термомагнитного эффекта (dk) в большинстве почвенных проб на территории г. Красный Кут соответствовали уровню для незагрязненных УВ почв ($dk \leq 1$), в нескольких пробах $dk \geq 3$, что могло указывать на углеводородное загрязнение [7].

В связи с важной биологической ролью почвенных ферментов и их чувствительностью к действию загрязнителей [8, 9], мы оценили активность ряда ферментов в почвенных пробах г. Красный Кут. Отмечен средний, высокий и очень высокий уровень активности дегидрогеназ (АД), каталаз (АК), пероксидаз (АП) и инвертаз (АИ) в почве г. Красный Кут. В одном из районов города обнаружено несколько почвенных проб с крайне низким уровнем АИ и низкими значениями АД и АК, указывая на вероятное действие загрязнителей почвы.

Выявлена высокая положительная корреляция между АК и АД ($r=0,76$; $p=0,05$), значимая прямая корреляция между АД и dk ($r=0,60$; $p=0,05$), между АК и dk ($r=0,50$; $p=0,05$). Обнаружена значимая прямая корреляция между АД и концентрацией в почвах Zn ($r=0,61$; $p=0,05$), между АД и концентрацией Pb ($r=0,51$; $p=0,05$), между АК и концентрацией Pb ($r=0,51$; $p=0,05$) и невысокая значимая прямая корреляции между АИ и АД ($r=0,41$; $p=0,05$), между АИ и АК ($r=0,44$; $p=0,05$), между АД и Z_c ($r=0,47$; $p=0,05$), между АК и концентрацией Zn ($r=0,44$; $p=0,05$), между АК и Z_c ($r=0,43$; $p=0,05$), между АИ и dk ($r=0,42$; $p=0,05$). Известно, что ТМ в невысоких концентрациях могут оказывать стимулирующее действие на активность почвенных ферментов [10]. Это позволило нам предположить, что данные ТМ в соответствующих концентрациях не оказывали негативного действия на активность исследованных почвенных ферментов. Обнаруженные значимые прямые корреляции между активностью ферментов (дегидрогеназ, каталаз, инвертаз) в почвах и термомагнитным эффектом, могли указывать на свежее углеводородное загрязнение.

В результате проведенного анализа почв малопромышленного города Красный Кут Саратовской обл. выявлены изменения геохимических и физико-химических свойств, свидетельствующие о слабом и умеренном техногенном воздействии на почвы. Результаты проведенного ферментативного анализа свидетельствовали об отсутствии в почвах экотоксикантов, ингибирующих ферменты, за исключением почв одного из районов г. Красный Кут.

Список литературы

1. Иванов Д.В. Тяжелые металлы в почвах Республики Татарстан. Российский журнал прикладной экологии. 2015. № 4. С. 53–60.
2. Касимов Н.С., Битюкова В.Р., Малхазова С.М., Кошелева Н.Е., Никифорова Е.М., Шартова Н.В., Власов Д.В., Тимонин С.А., Крайнов В.Н. Регионы и города России: интегральная оценка экологического состояния / Под ред. Н.С. Касимова. М.: ИП Филимонов М.В., 2014. 560 с.
3. Su C., Jiang L., Zhang W. A review on heavy metal contamination in the soil worldwide: Situation, impact and remediation techniques. Environmental Skeptics and Critics. 2014. Vol. 3, № 2. P. 24–38.
4. Алексеенко В.А., Рудский В.В. Алексеенко А.В. Влияние размера населенных пунктов на загрязнение городских почв. География и природные ресурсы. 2016. № 3. С. 26–36.
5. Водяницкий Ю.Н., Шоба С.А. Магнитная восприимчивость как индикатор загрязнения тяжелыми металлами городских почв. Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение. 2015. № 1. С. 13–20.
6. Решетников М.В. Магнитная индикация почв городских территорий (на примере г. Саратова). Саратов: Сарат. гос. тех. ун-т, 2011. 152 с.
7. Пименов М.В., Маникин А.Г., Ямпольская О.Б., Гужикова А.А., Жуков А.Н. Предварительные результаты исследований по оценке возможности количественной интерпретации термокаппаметрических данных. Известия Саратовского университета. Серия Науки о Земле. 2007. Т. 7, Вып. 1. С. 39–44.

8. 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.
9. Поляк Ю.М., Сухаревич В.И. Почвенные ферменты и загрязнение почв: биodeградация, биоремедиация, биоиндикация. *Агрохимия*. 2020. № 3. С. 83–93.
10. Гузев В.С., Левин С.В. Техногенные изменения сообщества почвенных микроорганизмов. *Перспективы развития почвенной биологии*. 2001. № 5. С. 178–219.

ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ ПРИГОРОДНЫХ СОСНЯКОВ КРАСНОЯРСКА В СВЯЗИ С ПРОМЫШЛЕННЫМИ ВЫБРОСАМИ

Г.Г. Полякова^{1*}, Н.В. Пашенова¹,
В.А. Сенашова¹, Н.М. Подоляк^{2†}, Н.С. Кудряшева^{3,4‡§}

¹Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия

²Автономная некоммерческая организация высшего образования
"Сибирский институт бизнеса, управления и психологии",
Красноярск, Россия

³Сибирский федеральный университет,
Красноярск, Россия

⁴Институт биофизики СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия

Цель работы оценить динамику экологических условий в Красноярске за период 2002-2020 гг. с помощью ежегодного измерения различных характеристик двух средневозрастных пригородных сосняков, близких по таксационным характеристикам, но испытывающих различный уровень загрязнения. Сосняк "А" расположен по розе ветров в 6 км от промышленного города-миллионника, сосняк "В" с противоположной стороны на том же расстоянии. В 2002 г., сосняк "А" был выбран, как загрязненный древостой, а сосняк "В" – фоновый. В сосняках "А" и "В" в 2002 г. было заложено по 2–3 пробных площади (ПП) по 200–300 пронумерованных деревьев на каждой ПП (рис. 1).



Рис. 1. Пронумерованные деревья на ПП 3 в сосняке "В" в 2019 г.

Ежегодно оценивали различные параметры сосняков "А" и "В": таксационную характеристику (средний диаметр, среднюю высоту, запас и др.), наличие ожогов хвои, вызванных промышленными выбросами, средневзвешенную

* ggpolyakova@mail.ru

† docent-245@mail.ru

‡ n-qdr@yandex.ru

§ © Полякова Г.Г., Пашенова Н.В., Сенашова В.А., Подоляк Н.М., Кудряшева Н.С., 2021

по объему стволов категорию состояния деревьев, энтропию категории состояния, величину отпада деревьев (объем стволов и количество усохших деревьев на единице площади), расположение (вертикальный сдвиг по стволу) некротической метки относительно места инокуляции экстрактов гриба *C. laricicola*, вызывающих некроз растительной ткани вокруг точки инокуляции (рис. 2). Описанный комплекс параметров сосняков был исследован впервые.



Рис. 2. Некроз флоэмы ствола сосны, различимый после удаления мертвой коры, образовавшийся через 4 недели после внесения 0,5 мг экстрактивных веществ из гриба *C. laricicola* в инокуляционное отверстие [1]

Мониторинг 2002–2020 гг. показал, что по измеренным характеристикам состояние сосняка "В" ухудшилось, и в настоящее время он также является загрязненным. Так, в сосняке «В» с 2012 г. визуально зарегистрирован ежегодный ожог хвои токсическими веществами, переносимыми по воздуху. Также отмечен гипертрофированный рост хвои (рис. 3), что обеспечивает компенсацию повреждения хвои на ранней стадии ее повреждения поллютантами.

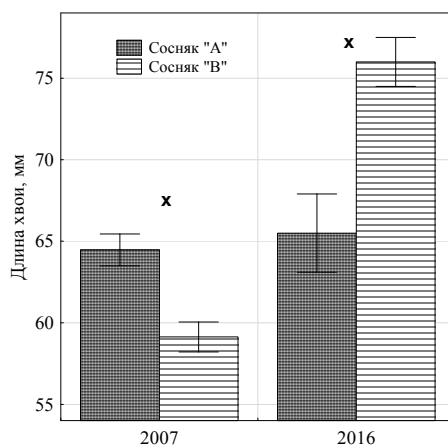


Рис. 3. Длина 2-летней хвои из верхней части крон сосен на пробных площадях (ПП) в сосняках "А" и "В" в 2007 г. и 2016 г. Указаны средние значения и их ошибки. Объем выборки 120–200 хвоинок, отобранных с 8–9 деревьев. Знаком "Х" отмечено достоверное различие между сосняками "А" и "В" ($p < 0,01$ по t -критерию) [1]

Некротическая метка сосняке "В" смещалась вверх по стволу (рис. 4), что свидетельствует в пользу нашей гипотезы о транспорте ассимилятов в крону для восстановления обожженной хвои.

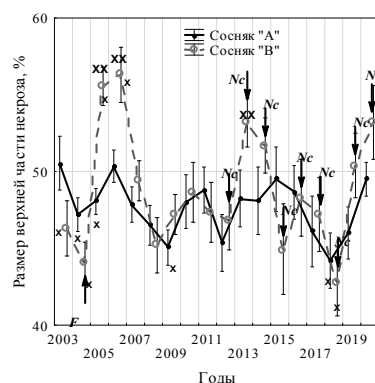


Рис. 4. Размер верхней части некроза в лубе ствола, выраженный в процентах от всей длины некроза, образующегося через 4 недели после инъектирования ствола экстрактом гриба *Ceratocystis laricicola*, на пробных площадях (ПП) в сосняках "А" и "В" в период наблюдения 2003-2020 гг. Указаны средние значения и их ошибки. Объем выборки в сосняках "А" и "В" в разные годы варьирует от 30 до 40. Знаками "Nc" отмечены визуально различимые химические ожоги (некрозы) хвои, вызванные промышленными выбросами, "F" – низовой пожар в сосняке "В" весной 2004 г., "X" – достоверные различия между размером верхней и нижней части некроза ($p < 0,05$ по t -критерию) "XX" – достоверные различия между сосняками "А" и "В" ($p < 0,05$ по t -критерию).

Отпад в сосняке "В" в некоторые годы существенно превышал "А", отмечена тенденция к ухудшению категории состояния, увеличению ее энтропии в сосняке «В» (рис. 5).

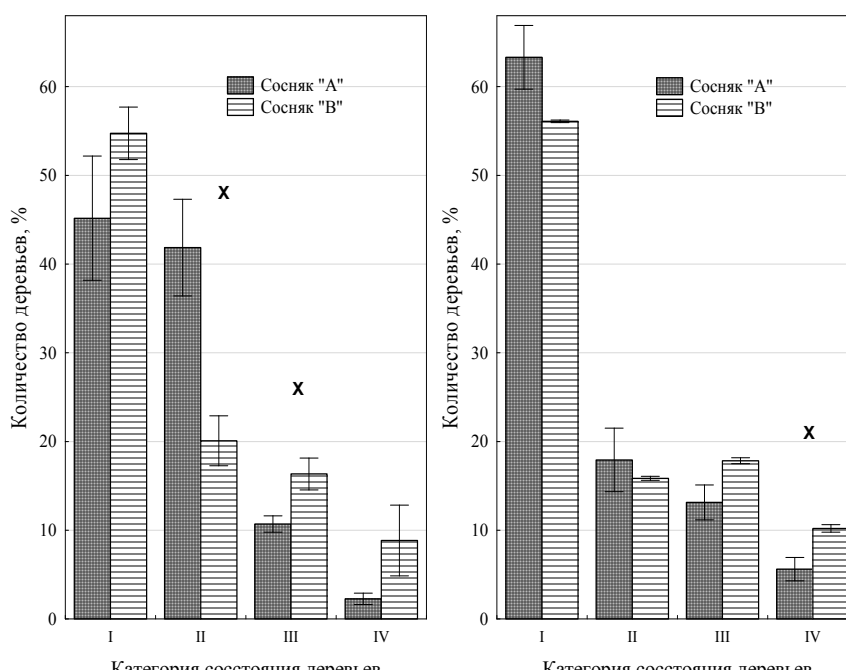


Рис. 5. Распределение категории состояния сосны на пробных площадях (ПП) в сосняках "А" и "В" в 2002 г. (слева) и 2020 г. (справа). Количество ПП в сосняках "А" и "В" в разные годы варьирует от 2 до 3. Указаны средние значения и их ошибки. Знаком "X" отмечено достоверное различие между сосняками "А" и "В" ($p < 0,10$ по t -критерию)

У сосняка "А", хронически повреждаемого промышленными выбросами, отмечается большая стабильность морфологических и физиологических характеристик по сравнению с сосняком "В", находящимся на острой стадии токсического повреждения. Экологическое биотестирование сосняков свидетельствует об ослаблении промышленными выбросами сосняка "В", являвшегося фоновым в начале эксперимента, и ухудшении экологической ситуации в Красноярске за период 2002-2020. Основным загрязнителем Красноярска является один из крупнейших в мире алюминиевый завод компании En+. Завод использует самую отсталую технологию необожженных анодов []. Мощность завода на 35 % превышает проектную. Среднемесячные выбросы бенз(а)пирена, маркера алюминиевого завода, достигают 60 ПДК, пиковые – 100 ПДК.

Список литературы

1. Polyakova G., Pashenova N., Senashova V., Podolyak N., Kudryasheva N. Pine Stands as Bioindicators: Justification for Air Toxicity Monitoring in an Industrial Metropolis // *Environments* 2020. Vol. 7 (4). № 28. P. 1–13; <https://doi.org/10.3390/environments7040028>
2. Борисоглебский Ю.В., Галевский Г.В., Кулагин Н.М., Минцис М.Я., Сиразутдинов Г.А. *Металлургия алюминия*. 1999. Новосибирск: Наука. Сибирская издательская фирма РАН. 438 с.

КОНСТРУКЦИОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ УСТРОЙСТВ ДЛЯ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ СВЧ-ДИАПАЗОНА НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ

В.Ф. Пьянков^{*}, О.В. Крюкова[†]

*ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия*

В настоящее время условия окружающей среды можно считать экстремальными, то есть выходящими за те границы, которые складывались в условиях эволюции. Так, согласно данным [1] уровень электромагнитных излучений в результате антропогенного воздействия вырос существенно вырос, что в свою очередь может оказывать влияние на живые организмы, и процессы, протекающие в них.

Для изучения действия электромагнитного излучения СВЧ-диапазона (ЭМИ СВЧ), как наиболее биологически активного [2], в лабораторных условиях возникает потребность в разработке устройств, способных эффективно доносить до биологических объектов СВЧ-энергию, а также обеспечивать возможность измерения уровня падающей на объекты, и поглощаемой СВЧ-энергии.

В экспериментальных исследованиях по воздействию ЭМИ на биологические объекты в настоящее время используются мобильные телефоны, некоторые медицинские аппараты, а также специально разработанные устройства.

В данной работе рассматривается узкий диапазон устройств, предназначенных для воздействия на мелких лабораторных животных, на частоте от 800 до 1000 МГц. Также среди важных ограничивающих параметров также были выбраны наличие свободы движений животного, для избежания иммобилизационного стресса, который может существенно повлиять и исказить результаты исследований, особенно при работе с низкоинтенсивным ЭМИ СВЧ. А также необходимость в достаточно большой группе животных, одновременно подвергающихся воздействию, для более быстрого и комфортного набора статически значимых групп.

Исследуемые устройства для воздействия ЭМИ СВЧ на биологические объекты имеют разную конструкцию. Среди всей массы можно выделить несколько наиболее часто встречающихся типов:

Коробчатые (коробка экспонирования) [3] представляет собой короткий волновод с излучающей системой, открывающийся в металлический бокс, внутри которого находится объект, на который оказывается воздействие. Недостаток системы – регистрируется только падающая СВЧ-энергии, нет измерения проходящей через объект СВЧ-энергии, и не измеряется отраженная СВЧ-энергию.

Волноводные [4] представляют собой закрытую направляющую систему, в которой распространение энергии ограничивается в поперечном направлении.

^{**} pyankov.vf@ksc.krasn.ru

[†] © Пьянков В.Ф., Крюкова О.В., 2021

Объекты располагают внутри волновода. Волноводы позволяют реализовать возможность регистрации как падающей, так и отраженной и проходящей электромагнитной волны. Волноводы могут быть рассчитаны для определенных частот, или диапазонов частот.

Резонаторные [5], или объемно-резонаторные представляют собой колебательные системы СВЧ, аналоги колебательного контура, заполненные диэлектриком, с ограниченной проводящей поверхностью. Объект располагают внутри резонатора, на строго определенном расстоянии от излучающей системы. Недостаток системы – необходимость точных расчетов позиционирования объекта, а также затрудненность расчетов как падающей так и отраженной, проходящей СВЧ-энергии, и как следствие – и поглощаемой.

Реверберационные (безэховые) камеры [6] представляют собой бокс, стенки которого либо гасят электромагнитное излучение от источника (безэховые камеры), либо интенсивность ЭМИ падает в результате многократных отражений от стенок камеры (реверберационные камеры). Объект или объекты располагаются внутри бокса, в камере из радиопрозрачного материала. Недостаток системы – затрудненность расчетов как падающей, так и отраженной, проходящей СВЧ-энергии, и как следствие – и поглощаемой.

В системах антенно-направленного типа [7] наиболее часто применяют рупорные антенны, представляющие собой металлические конструкции, состоящие из волновода переменного (расширяющегося) сечения с одним открытым излучающим концом. Недостаток системы – отсутствие возможности расчета проходящего через объект и отраженного электромагнитного сигнала.

ТЕМ-ячейка [8] (поперечная электро-магнитная) ячейка. Представляет собой двухэлектродную систему, в которой плоский потенциальный электрод заключен в прямоугольный экран. На концах ячейки существуют конические переходы, в которых подключается с одной стороны входной высокочастотный разъем, с другой стороны – нагрузка. Объект помещается внутри ТЕМ-ячейки. Недостатком является отсутствие учета отражения и прохождения сигнала через объект, ввиду того что СВЧ-энергия преимущественно поглощается нагрузкой.

Использование подобных устройств, отличающихся изрядным разнообразием, делает возможным проведение экспериментальных исследований по воздействию ЭМИ СВЧ на биологические объекты, но часто возникают сложности метрологического плана. В свою очередь отсутствие возможности рассчитать и учесть количество СВЧ-энергии, попадающей и поглощаемой биологическими объектами затрудняет повторение результатов различными экспериментальными группами, ввиду невозможности точно повторить условия эксперимента. И это затрудняет проведение исследований в данной области.

Список литературы

1. О.Н. Маслов Экологический риск и электромагнитная безопасность М.: ИРИАС, 2004. – 329 с.

2. Либерман А.Н. Мобильный телефон и здоровье / А.Н. Лимберман, С.Г. Денисов.-М.:Изд. Московского ун-та. 2011.

3. T. Ono, Y. Saito, J. Komura, H. Ikehata, Y. Tarusawa, T. Nojima, K. Goukon, Y. Ohba, J. Q. Wang, O. Fujiwara, R. Sato, and J. Tohoku, "Absence of mutagenic effects of 2.45 GHz radiofrequency exposure in spleen, liver, brain, and testis of lac Z-transgenic mouse exposed in utero," *Exp. Med.*, vol. 202, no. 2, pp. 93–103, 2004.

4. P. J. Sykes, B. D. McCallum, M. J. Bangay, A. M. Hooker, and A. A. Morley, "Effect of exposure to 900 MHz radiofrequency radiation on intrachromosomal recombination in pKZ1 mice," *Radiat. Res.*, vol.156, no. 5, pp. 495–502, 2001.

5. A. Faraone, W. Luengas, S. Chebrolu, M. Ballen, G. Bit-Babik, A. V. Gessner, M. Y. Kanda, T. Babij, M. L. Swicord, and C. K. Chou, "Radiofrequency dosimetry for the Ferris-wheel mouse exposure system," *Radiat. Res.*, vol. 165, no. 1, pp. 105–112, Jan. 2006.

6. H. J. Lee, J. S. Lee, J. K. Pack, H. D. Choi, N. Kim, S. H. Kim, and Y. S. Lee, "Lack of teratogenicity after combined exposure of pregnant mice to CDMA and WCDMA radiofrequency electromagnetic fields," *Radiat. Res.*, vol. 172, no. 5, pp. 648–652, 2009.

7. Changes in antioxidant capacity of blood due to mutual action of electromagnetic field (1800MHz) and opioid drug (tramadol) in animal model of persistent inflammatory state / Pawel Bodera, Wanda Stankiewicz, Katarzyna Zawada, Bozena Antkowiak, Malgorzata Paluch, Jaroslaw Kieliszek, Boleslaw Kalicki, Andrzej Bartosiński, Iwona Wawer // *Pharmacological Reports* 2013, 65, 421-428. ISSN 1734-1140.

8. F. Nasta, G. M. Prisco, R. Pinto, G. A. Lovisolo, C. Marino, and C. Pioli, "Effects of GSM-modulated radiofrequency electromagnetic fields on B-cell peripheral differentiation and antibody production," *Radiat. Res.*, vol. 165, no. 6, pp. 664–670, 2006.

**NANOTECHNOLOGY IN THE RESTORATION
OF POLLUTED OR DEGRADED SOIL:
OPENING A NEW WINDOW AT A GLOBAL LEVEL**

**Vishnu D. Rajput^{*}, Tatiana Bauer, Marina Burachevskaya, Victor
Chaplygun, Chetan Keswani, Victoria Tsitsuashvili, Natalia Chernikova,
Marina Voloshina, Saglara Mandjieva, Tatiana Minkina[†]**

*Southern Federal University,
Rostov-on-Don, Russia*

The application of nanoparticles (NPs) entrenched with biological processes to boost up the removal of toxic compounds from contaminated soils. Many efforts have been taken to increase the effectiveness of phytoremediation such as the addition of chemical additives, application of rhizobacteria, and genetic engineering, etc. In this context, the integration of nanotechnology with bioremediation has introduced new dimensions to the reclamation methods. Thus, advanced remediation methods that combine nanotechnological and bioremediation approaches, where nano-scale process regulation aids in the adsorption and breakdown of pollutants. Nanoparticles absorb/adsorb a variety of contaminants and also catalyze reactions by lowering the energy required for their breakdown due to their unique surface properties. As a result, this remediation procedure decreases the accumulation of contaminants while simultaneously limiting their dispersal from one medium to another. Therefore, the present review is dealing with all the possibilities of the application of NPs for remediation/restoration of contamination soil.

^{*} rajput.vishnu@gmail.com

[†] © Rajput Vishnu D., Bauer Tatiana, Burachevskaya Marina, Chaplygun Victor, Keswani Chetan, Tsitsuashvili Victoria, Chernikova Natalia, Voloshina Marina, Mandjieva Saglara, Minkina Tatiana, 2021

RADIATION TOXICITY IN THE ACTION OF SOLUTIONS OF RADIONUCLIDES AMERICIUM-241 AND TRITIUM OF LOW CONCENTRATION ON BACTERIAL LUMINESCENCE

T.V. Rozhko^{1,2*}, N.S. Kudryasheva^{2,3†‡}

¹*Krasnoyarsk State Medical University. prof. VF Voyno-Yasenetsky,
Krasnoyarsk, Russia*

²*Siberian Federal University,
Krasnoyarsk, Russia*

³*Institute of Biophysics SB RAS,
Krasnoyarsk, Russia*

Effects of alpha- and beta-emitting radionuclides (americium-241 and tritium) on luminous marine bacteria were studied under conditions of chronic low-dose irradiation (< 0.2 Gy) in aqueous media; bioluminescent intensity was used as a tested physiological parameter. The luminous bacterium is a proper tool for study the low level exposures due to simplicity and high rates of assay procedure, providing a lot of samplings under comparable conditions and, hence, a proper statistical treatment. Non-linear dose-effect dependencies were demonstrated. Three successive stages in the bioluminescent response to alpha- and beta-emitting radionuclides were found: 1 – absence of effects (stress recognition or threshold effect), 2 – activation (adaptive response), and 3 – inhibition (suppression of physiological function, i.e. radiation toxicity). Experiments with tritiated water and tritium-labeled polyethylene films (liquid and solid courses of beta-particles, respectively) showed that activation of the intracellular bioluminescence process can take place without penetration of tritium into the cells. Sequence analysis did not reveal mutations in bacterial DNA under conditions of the experiments. The results give preference to a “non-genomic” mechanism of bioluminescence activation. Probably, the activation effects result from ionization of aqueous media followed by the intensification of cellular membrane processes. Biological role of reactive oxygen species, secondary products of radioactive decay, is discussed.

* gitniktv72@mail.ru

† n_qdr@yahoo.com

‡ © Rozhko T.V., Kudryasheva N.S., 2021

СВОЙСТВА ЭКСТРАКЛЕТОЧНОЙ ОКСИДАЗЫ ИЗ ГРИБА *NEONOTHOPANUS NAMBI* И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕЕ ПРИМЕНЕНИЯ В АНАЛИТИКЕ

Н.О. Ронжин^{*}, О.А. Могильная,
Е.Д. Посохина, В.С. Бондарь[†]

Институт биофизики Федерального исследовательского центра
“Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской Академии наук”,
Красноярск, Россия

Экстраклеточные ФАД-, гем- и медьсодержащие оксидоредуктазы высших грибов представляют значительный интерес в качестве эффективных и селективных ферментов для аналитических приложений [1,2]. Поэтому исследователи многих стран проводят активный скрининг базидиальных грибов для выявления перспективных продуцентов известных оксидоредуктаз и новых ферментов этого класса. Надо заметить, что широкому применению в аналитике грибных секретлируемых оксидаз препятствует их недостаточная стабильность. Для увеличения резистентности и сохранения каталитической функции при многократном использовании оксидазы базидиомицетов иммобилизуют на разных типах носителей [3,4].

В содержащих экстраклеточные белки водных экстрактах из мицелия светящегося гриба *Neonothopanus nambi* нами был обнаружен фермент с оксидазной функцией, который в отличие от известных пероксидаз катализировал реакцию соокисления фенола с 4-аминоантипирином (4-ААП) без добавления пероксида водорода. Цель данной работы состояла в изучении свойств экстраклеточной оксидазы из базидиомицета *N. nambi* и оценке ее функциональной активности после иммобилизации на нанодиазиды взрывного синтеза.

В работе использовали культуру базидиального гриба *N. nambi* IBSO 3293 из Коллекции микроорганизмов (CCIBSO 836) ИБФ СО РАН, ФИЦ «КНЦ СО РАН» (Красноярск). Биомассу мицелия получали при глубинном культивировании гриба в картофельно-сахарозной среде [5].

Выделение изучаемой экстраклеточной оксидазы включало [6]: обработку мицелия β -глюкозидазой в деионизованной воде для извлечения экстраклеточных белков; концентрирование водного экстракта, содержащего экстрагированные ферменты; разделение ферментов гель-фильтрационной хроматографией концентрата на колонке с Sephadex G-200; объединение хроматографических фракций с наибольшей ферментативной активностью и концентрирование суммарного образца. Чистоту полученной оксидазы и ее молекулярную массу в денатурирующих условиях оценивали SDS-электрофорезом в ПААГ. Количество белка в образцах определяли биуретовым методом, используя реактив Бенедикта и БСА в качестве стандарта. Активность изучаемой оксидазы оценивали реакцией соокисления фенола с 4-аминоантипирином (4-ААП) без добавления H_2O_2 .

^{*} roniol@mail.ru

[†] © Ронжин Н.О., Могильная О.А., Посохина Е.Д., Бондарь В.С., 2021

Для иммобилизации выделенной оксидазы использовали модифицированные наноалмазы (МНА) [7] с высокой коллоидной устойчивостью в водных суспензиях и адсорбционной способностью к молекулам пептидной природы. В работе использовали МНА со средним размером кластеров (d_{50}) в гидрозолях 50 нм. Комплекс МНА-оксидаза получали адсорбцией выделенного фермента на наночастицы при смешивании препарата фермента с суспензией МНА в весовом соотношении компонентов 1 : 3 с последующей инкубацией суспензии при 25 °С в течение 1 ч при постоянном перемешивании. МНА с адсорбированным ферментом собирали центрифугированием при 16000 g в течение 10 мин при 4 °С. Супернатант отбирали и определяли количество не связавшегося с МНА фермента. Полученный осадок (комплекс МНА-оксидаза) трижды отмывали раствором 120 mM NaCl для проверки десорбции иммобилизованного на наночастицы фермента. Отмытый комплекс ресуспендировали в деионизованной воде и использовали в экспериментах.

Из данных SDS-электрофореза следует, что выделенная из гриба *N. nambi* экстраклеточная оксидаза имеет высокую степень чистоты – финальный препарат фермента содержит практически один доминантный белок с молекулярной массой около 60 кДа. Поскольку молекулярная масса фермента в денатурирующих условиях совпадает с молекулярной массой в нативных условиях (при гель-фильтрационной хроматографии), это указывает, что изучаемый фермент является мономерным белком. Выявлено, что оксидаза является ФАД-содержащим ферментом, который в отличие от известных пероксидаз катализирует соокисление фенола с 4-ААП без добавления H_2O_2 . Это позволяет рассматривать данный фермент как оксидазу со смешанной функцией. Кинетические параметры полученной оксидазы K_m и V_{max} для фенола составляют 0.21 mM и 0.40 мкМ·мин⁻¹. Фермент проявляет наибольшую каталитическую активность при pH 5.0 и в температурном диапазоне 55–70 °С.

Показано, что инкубация финального препарата фермента с МНА сопровождается его эффективной и прочной адсорбцией на наночастицы. При выбранных экспериментальных условиях (см. выше) на МНА адсорбируется более 85 % белка. Иммобилизованная на МНА оксидаза проявляет каталитическую функцию и обеспечивает образование цветного продукта (хинонимин) в реакции соокисления фенола с 4-ААП. Установлено, что комплекс МНА-оксидаза обеспечивает на порядок больший выход продукта, по сравнению с его выходом в присутствии свободного фермента (Рисунок 1а). Более эффективное образование продукта в присутствии комплекса обеспечивается дополнительным участием микропримесей ионов Fe^{2+} и Cu^{2+} на поверхности МНА, которые катализируют реакцию соокисления фенола с 4-ААП в присутствии генерируемого оксидазой пероксида водорода. Это подтверждается результатами исследований, в которых было установлено, что добавки ионов железа или меди в содержащую свободный фермент реакционную смесь увеличивают выход продукта по сравнению с контролем в 2 и 4 раза соответственно.

В модельных экспериментах установлена применимость полученного комплекса МНА-оксидаза в качестве индикаторной системы для многократного

тестирования фенола в водных образцах (Рисунок 1б). Показано, что иммобилизованная на МНА оксидаза проявляет функциональную активность при длительном хранении водной суспензии комплекса при 4 °С. Установлено, что после двух месяцев хранения в этих условиях комплекс МНА-оксидаза обеспечивал выход около 70 % продукта, по сравнению с его выходом при использовании свежеприготовленного комплекса.

Результаты проведенных исследований позволяют рассматривать выделенную из гриба *N. nambi* экстраклеточную оксидазу в качестве перспективного фермента для аналитических приложений и открывают возможности конструирования на ее основе новых эффективных индикаторных систем многократного действия для экологического мониторинга загрязнений водной среды фенолом и его производными.

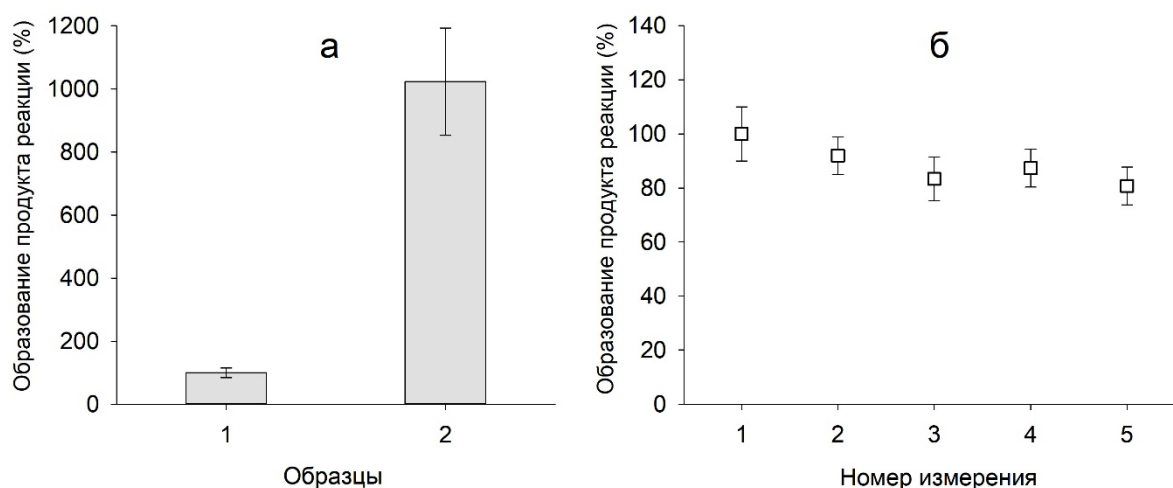


Рисунок 1. (а) Образование продукта реакции соокисления фенола с 4-ААП при одинаковом количестве фермента: 1 – свободная оксидаза, 2 – комплекс МНА-оксидаза. (б) Образование продукта реакции соокисления при многократном использовании комплекса МНА-оксидаза для определения фенола в водных пробах с одинаковой концентрацией аналита. Данные рассчитаны на 1 мг белка и нормированы на значения выхода продукта при: измерении активности свободной оксидазы (а); первом использовании комплекса для тестирования фенола (б).

Список литературы

1. Knop D., Yarden O., Hadar Y. The ligninolytic peroxidases in the genus *Pleurotus*: divergence in activities, expression, and potential applications. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2015. Vol. 99. P. 1025–1038.
2. Galperin I., Javeed A., Luig H., Lochnit G., Rühl M. An aryl-alcohol oxidase of *Pleurotus sapidus*: heterologous expression, characterization, and application in a 2-enzyme system. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2016. Vol. 100. P. 8021–8030.
3. Qiu H., Li Y., Ji G., Zhou G., Huang X., Qu Y., Gao P. Immobilization of lignin peroxidase on nanoporous gold: enzymatic properties and in situ release of

H₂O₂ by co-immobilized glucose oxidase. *Bioresour. Technol.* 2009. Vol. 100. P. 3837–3842.

4. Giannakopoulou A., Patila M., Spyrou K., Chalmpes N., Zarafeta D., Skretas G., Gournis D., Stamatis H. Development of a four-enzyme magnetic nanobiocatalyst for multi-step cascade reactions. *Catalysts*. 2019. Vol. 9. № 12. P. 995.

5. Mogilnaya O.A., Ronzhin N.O., Posokhina E.D., Bondar V.S. Production of extracellular oxidases in the mycelium of the bioluminescent *Neonothopanus nambi* (*Omphalotaceae*, *Basidiomycota*) grown in submerged culture in different media. *Asian Journal of Mycology*. 2020. Vol. 3. P. 408–418.

6. Ronzhin N.O., Mogilnaya O.A., Artemenko K.S., Posokhina E.D., Bondar V.S. Extracellular oxidases of basidiomycete *Neonothopanus nambi*: isolation and some properties. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2020. Vol. 490. P. 38-42.

7. Puzyr A.P., Baron A.V., Purtov K.V., Bortnikov E.V., Skobelev N.N., Mogilnaya O.A., Bondar V.S. Nanodiamonds with novel properties: a biological study. *Diamond and Related Materials*. 2007. Vol. 16. P. 2124–2128.

ЭКОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ТРАВЯНЫХ ЭКОСИСТЕМ ТУВЫ

А.Д. Самбуу, О.Д. Аюнова *

Тувинский институт комплексного освоения
природных ресурсов СО РАН

Степи Тувы, по классификации Е.М. Лавренко (1991), относятся к енисейским настоящим тырсовым степям и входят в состав так называемых островных степей Сибири. Это широко распространенный тип растительности в Туве, которые занимают 2811 тыс. га. Как и все островные степи Южной Сибири, они приурочены к межгорным понижениям и окаймляющим их со всех сторон предгорьям хребтов и нагорий и слагают основу ландшафтов Тувинской и Убсунурской котловин. Наши исследования проводились на ключевых участках сухих степей Убсунурской котловины, а также первичных степных экосистем в зоне затопления Саяно-Шушенского водохранилища в Тувинской котловине.

В данной работе представилась возможность оценить влияние на структуру травостоя различных режимов использования пастбищ и экологию растений. В качестве контрольной экосистемы выбрана сухая степь под легким выпасом, с которой сравниваем различные варианты степей: изоляция с восстановлением степей, деградация, затопление и подтопление степей. Исследования проводились в динамике с осени 2006 г. по осень 2020 г. три раза в сезон: в мае, когда стада откочевывают на весенние пастбища; в июле, в период максимальной вегетации растений; в сентябре, перед пригоном стада.

Все изученные участки сухих степей, хотя и в разной степени испытывают антропогенную нагрузку, имеют ряд общих черт с растительностью Центральной Азии. Преобладают низкорослые растения, у большинства розеточная или полурозеточная форма роста с сильно выраженными вертикальными корневищами. Мощная корневая система распределяется в небольшой толще. У степных растений сближены фазы роста, отсутствует период летнего покоя, максимальный прирост наблюдается в июле или августе (после дождей). Растительные сообщества полидоминантные. В тех и других степях по числу видов господствуют поликарпические травы (злаки). Основные различия между восстанавливающимися и деградирующими степями проявляется в видовом составе, степени сомкнутости травостоя, в строении ценозов, а основные сходства – в постоянном присутствии в видовом составе *Artemisia frigida*, *Cleistogenes squarrosa* и *Stipa ktylovii*.

Временная изоляция от выпаса степных экосистем Тувинских котловин привела к восстановлению растительного покрова, обогащению видового состава, в основном за счет ксерофитов. Наиболее глубокие изменения произошли после трех лет изоляции. Для сохранения биоразнообразия пастбищных

* © Самбуу А.Д., Аюнова О.Д., 2021

степных экосистем целесообразно чередование режимов регулируемой пастбы и полной изоляции от выпаса.

С вводом в эксплуатацию Саяно-Шушенского ГЭС в травяных экосистемах Улуг-Хемской котловины произошли коренные изменения со сдвигом видового состава растительности в сторону резкого увеличения количества мезоксерофитов, мезофитов, гигрофитов и сорных видов, уменьшения количества ксерофитов и ксеромезофитов. В зоне затопления происходит повсеместная мезофитизация и засорение растительности. Хотя четыре из пяти ключевых участков до затопления были степными с широким набором ксерофитов, в настоящее время среди ксерофитов преобладают виды петрофитных вариантов степей оставшиеся на склонах надпойменных террас Чаа-Хольской долины Енисея.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Тувинского института комплексного освоения природных ресурсов СО РАН № 0307-2021-0003.

Список литературы

Лавренко Е.М. и др. Степи Евразии. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1991. 146 с.

МОДЕЛЬ ДИФфуЗИОННОГО ДИОДА ДЛЯ ОПИСАНИЯ КИНЕТИКИ НАБУХАНИЯ И СМОРЩИВАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ РАДИАЦИОННОМ ПОРАЖЕНИИ

Г.П. Саркисян^{*†}

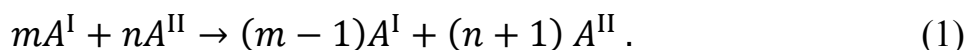
*Институт Химической Физики
им. А.Б. Налбандяна НАН Республики Армения*

Предложено математическое, формально-кинетическое описание диффузионной природы наблюдаемых размерных сдвигов эритроцитов (набухание и сморщивание) в раннем пострadiационном периоде и построена квазихимическая модель диффузионного диода для процессов переноса микрочастиц (в том числе молекул воды) через биологические мембраны.

При разработке достаточно универсальной математической модели для качественного и количественного описания процессов набухания и сморщивания эритроцитов в раннем периоде радиационного поражения, (при разных дозах облучения и разных сроках наблюдения), мы воспользуемся схемой детального описания сложного процесса диффузии в рамках развитого нами ячейечного формализма [1, 2].

Мы исходим также из экспериментального факта, что в зависимости от дозы облучения регистрируется или набухание, или сморщивание эритроцитов. В таком случае разумно построить модель “диффузионного диода”, в котором мембрана эритроцита при определенной дозе облучения, в результате суммарных физико-химических изменений внутриклеточной и межклеточной среды, становится односторонне проницаемым для молекул воды.

В построенной модели принимается, что мембрана играет роль границы раздела между ячейками и в результате элементарного акта переноса молекула воды входит внутрь клетки или выходит в межклеточную среду. Если принять, что внутриклеточной среде соответствует ячейка под вторым номером, а межклеточному окружению – ячейка под первым номером, тогда несложно построить стехиометрическое уравнение для процессов набухания и сморщивания соответственно.



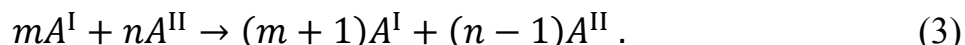
Совокупность элементарных актов входа (1) приведет к увеличению количества молекул воды внутри клетки и она будет набухать. Для этого механизма $\alpha_A^I = m, \alpha_A^{II} = n, \beta_A^I = m - 1, \beta_A^{II} = n + 1, \gamma_A = \beta_A^I - \alpha_A^I = -1$. Выражение для потока молекул воды A имеет вид [3].

$$J = \frac{lk}{RT} c^{m+n} (n - m) \nabla \mu. \quad (2)$$

^{*} hrachya_sargsyan@mail.ru

[†] © Саркисян Г.П., 2021

В результате обратного процесса клетка обезвоживается и ее размеры уменьшаются. Стехиометрическое уравнение по механизму диффузионного диода запишем в виде [3]:



Для механизма (13) $\alpha_A^I = m, \alpha_A^{II} = n, \beta_A^I = m + 1, \beta_A^{II} = n - 1, \gamma_A = \beta_A^I - \alpha_A^I = 1$. После подстановки в (7) получим выражение для потока молекул воды A:

$$J = -\frac{lk}{RT} c^{m+n} (n - m) \nabla \mu. \quad (4)$$

Противоположные знаки потоков (2) и (3) указывают, что диффузионный перенос молекул воды и их комплексов при набухании и при сморщивании имеет противоположное направление. Значения стехиометрических коэффициентов m и n выбираются эмпирическим путем. Для процесса набухания разность $n - m$ должна быть положительного знака, а для процесса сморщивания, соответственно, отрицательного знака. Направление потока молекул воды внутрь клетки или из нее определяется знаком градиента парциального химического потенциала, который играет роль движущей силы диффузионного массопереноса через биологическую мембрану.

Подытоживая литературные данные и результаты наших исследований можно сделать вывод, что проницаемость мембран эритроцитов крови претерпевает специфические изменения в раннем периоде после радиационного поражения в зависимости от дозы облучения. Изменение проницаемости мембраны влияет на кинетику диффузионного переноса микрочастиц (в том числе молекул воды). С увеличением дозы облучения размер эритроцитов выживших животных увеличивается. Однако, при той же дозе облучения размер эритроцитов погибших животных уменьшается. Следовательно, имея одинаковые физические основы для изменения проницаемости мембраны, животные проявляют индивидуальную зависимость. Это означает, что для них будут доминировать разные направления диффузионного потока молекул воды через биологические мембраны. Универсальность предложенного нами подхода для описания многокомпонентной диффузии, в отличие от упрощенной модели Теорелла [4, 5], позволяет легко выписать наиболее адекватные механизмы диффузии в конкретных условиях. Именно прозрачная структура матрицы коэффициентов диффузии и полиномиальная зависимость ее элементов от стехиометрических коэффициентов диффундирующих компонентов позволяет выявить доминирующий механизм для конкретного случая.

Список литературы

1. А. Н. Горбань, Г. П. Саркисян. Кинетика и катализ, 27, 527 (1986).
2. A. N. Gorban, H. P. Sargsyan, H. A. Wahab. J. Math. Model. Nat. Phenom, 6, N 5, 184 (2011).

3. H. P. Sargsyan, A.H. Sargsyan, A.M. Danielyan. J. of Contemp. Physics (Armenian Academy of Sciences) July 2019, Volume 54, Issue 3, pp 326–332.
4. T. Teorell. Proc. N. A. S. USA, 21, 152 (1935).
5. T. Teorell. The Journal of General Physiology, 21,107 (1937).

JUVENILE PROPLASTIDS OF THE APICAL MERISTEM ARE THE MOST SENSITIVE TARGET TO TOXIC EFFECTS

G.A. Semenova¹, T.I. Balakhnina², I.R. Fomina^{2,3*†}

¹*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics,
Russian Academy of Sciences*

Puschino, Moscow Area, 142290, Russia

²*Institute of Basic Biological Problems,
Russian Academy of Sciences,*

Pushchino, Moscow Area, 142290, Russia

³*Biosphere Systems International Foundation,
Tucson, Arizona, USA*

It is generally accepted, and this was included in textbooks on plant anatomy, that proplastids of meristematic cells divide to form new proplastids. However, in the cells of the apical meristem of the growing cone of wheat, there is no division of proplastids, and the proplastids themselves demonstrate a variety of structure or formation [1]. The forming (juvenile) proplastids are vesicles without a matrix, with an open membrane envelope, filled with plastid DNA. Fully formed proplastids are represented by vesicles with a dense matrix surrounded by a double membrane. Directly in the cytoplasm of the meristem, one can see "free" plastid DNA, outside the proplastids, which suggests not division, but the phased formation of proplastids around plastid DNA.

Plastid DNA → Juvenile proplastida → Mature proplastida

Heavy metals, such as lead, accumulate mainly in the roots and apical meristem of the growing cone of wheat [2], which leads to disruption of the process of chloroplast formation from proplastids [3]. Plants grow and form leaves, but not green, but white, except for the upper tip, which is associated with a violation of the formation of thylakoids in the plastids. These plastids can hardly be called etioplasts, since they lack the prolamellar body, characteristic of etioplasts of etiolated seedlings, which can turn green in the light due to light-dependent synthesis of chlorophyll and, accordingly, the formation of chloroplasts from etioplasts with a developed thylakoid system.

Etiolation of leaves under the influence of heavy metals is caused not by a lack of light, but by an irreversible disturbance in the development of proplastids that occurred in the meristem. In the cells of the mesophyll, in this case, there are not etioplasts, but proplastids, which are identical in structure and size to the proplastids of the apical meristem. Possibly, the etiolation of leaves under the action of heavy metals is associated with a disruption in the synthesis of chlorophyll precursors, as shown in a number of works. Our studies allow us to conclude that the primary target of the toxic effect of heavy metals on the formation and development of plastids is

* irafomi@rambler.ru

† © Semenova G.A., Balakhnina T.I., Fomina I.R., 2021

plastid DNA of juvenile proplastids of the meristem, as the least protected or not at all protected by the membrane envelope.

References

1. Semenova G.A. Formation of proplastids in the apical meristem of wheat. *Journal of Plant Cell Development*. 2018. № 1. P. 23-30.
2. Semenova G.A., Fomina I.R., Bakaeva E.A., Balakhnina T.I. The effects of lead on the meristem of wheat seedlings. *CellBio*. 2019. Vol. 8, № 3. P. 41-51.
3. Semenova, G.A., Fomina I.R., Kosobryukhov A.A., Lyubimov V.Yu., Nadezhkina E.S., Balakhnina T.I. Mesophyll cell ultrastructure of wheat leaves etiolated by lead and selenium. *Journal of Plant Physiology*. 2017. Vol. 219. P. 37–44.

УГЛЕРОДНЫЕ НАНОМАТЕРИАЛЫ ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ ОРГАНИЧЕСКОГО ЖИДКОГО ТОПЛИВА

О.П. Стебелева^{1*}, Л.В. Кашкина¹, С.С. Добросмыслов^{1,2†}

¹Сибирский федеральный университет,

Красноярск, Россия

²ФИЦ КНЦ СО РАН,

Красноярск, Россия

В последние десятилетия широкое распространение получили исследования в области применения жидкого или гелеобразного водоугольного топлива (ВУТ). Компонентами для него являются уголь, вода, отходы нефтепромышленности и углеобогащения, промышленные отходы, отработанные масла и т.д. Актуальность этих исследований продиктована в том числе возможностью использования суспензий в условиях северных территорий России, Арктики и Антарктики – водоугольные суспензии экологически менее опасны при сжигании (за счет снижения вредных выбросов по сравнению с сжиганием чистого угля) и позволяют утилизировать не востребуемые промышленные и бытовые отходы. При достаточном внимании процессам транспортировки, реагентной стабилизации, зажигания, горения и сгорания таких видов топлива вопрос о приготовлении суспензий остается открытым.

Одной из основных проблем, которая сдерживает широкое применение водоугольной суспензии (ВУС) в качестве топлива, является ее нестабильность. Диаметр частиц угля в суспензии больше, чем у частиц в коллоидных растворах, поэтому ВУС не может сохранять стабильность за счет броуновского движения. Стабильность суспензии зависит от различных факторов, таких как размер частиц угля в ВУС, концентрация угля, гранулометрический состав, тип и дозировка диспергатора. Чтобы решить проблему стабильности, необходимо управлять двумя параметрами суспензии: количеством диспергатора и стабилизатора и гранулометрическим составом частиц угля [1].

Для приготовления водоугольных топлив нередко применяется гидродинамическая кавитация, которая позволяет влиять на основные свойства жидкого топлива: размер частиц дисперсной фазы суспензии, теплофизические, реологические и седиментационные свойства [2], а также обеспечивает интенсивный массоперенос за счет турбулентного перемешивания. В работе [3] показано, что кавитационная обработка водоугольной суспензии или ее компонентов снижает вредные выбросы при ее сжигании. Получение стабильных во времени водоугольных смесей с помощью кавитации связывают со сложным механизмом взаимодействия частиц угля, модифицирующих добавок и гуминовых кислот, которые также входят в состав угля, и изменением pH дисперсионной среды. Известно, что добавка мелкодисперсной частиц размерами 20-300 нм в состав

* opstebeleva@mail.ru

† © Стебелева О.П., Кашкина Л.В., Добросмыслов С.С., 2021

ВУС в качестве диспергирующего агента увеличивает стабильность водоугольной суспензии [4].

В нашей работе в качестве модифицирующей добавки использовался технический углерод Т-900. Для приготовления образцов ВУС был выбран высокодисперсный Канско-Ачинский бурый уголь (Березовское месторождение 2-БР), концентрация твердой фазы во всех образцах 50 % масс. (75 мл воды/75 г твердая фаза). Для образца ВУС1 смесь угля (75 г) и дистиллированной воды (75 мл) смешивалась в блендере Waring 8010D в течение 3 минут при скорости вращения ротора 10000 об/мин (кавитационный режим). Образец ВУС2 был получен аналогичным способом с заменой дистиллированной воды на предварительно обработанную кавитацией воду. Образец ВУС3 был получен аналогичным способом получения ВУС1 с добавлением Т900 (2 % масс.). Теплофизические характеристики измерялись с помощью высокоскоростной видеосъемки в муфельной печи при нагревании одиночной капли на стержне (рис. 1а). Исследование реологических свойств ВУС1 и ВУС3 выполнено на ротационном вискозиметре Rheotest-2 (рис. 1б).

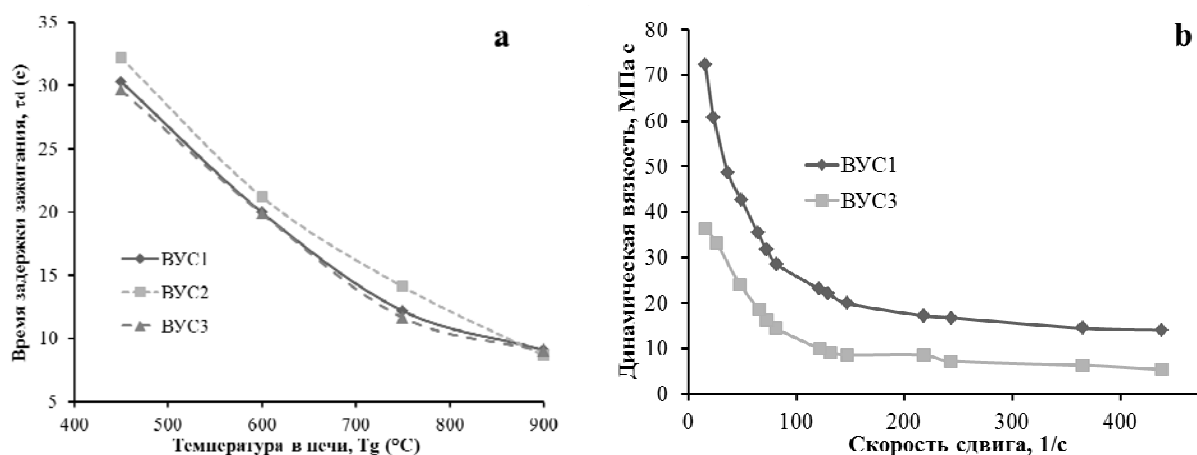


Рис. 1. Зависимость времени задержки зажигания τ_c капли ВУС от температуры печи T_g (а) и динамическая вязкость суспензий (б)

Из рисунка 1 видно, что добавка Т900 незначительно уменьшает задержку зажигания. В работе было также проведено измерение концентраций антропогенных выбросов в процессе горения ВУС, показано, что добавка Т900 снижает количество выбросов СО в отличие от выбросов других газов (CO_2 , NO_x , SO_2). Водоугольная суспензия с добавлением Т900 показывает меньшую вязкость при тех же скоростях сдвига, чем ВУС1.

Таким образом, добавка Т900 в качестве модификатора ВУС улучшает реологические свойства и стабильность суспензии [5], и не оказывает существенного влияния на термодинамические характеристики жидкого дисперсионного топлива.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, Правительства Красноярского края и Красноярского краевого фонда науки в рамках научного проекта 20-48-243001.

Список литературы

1. Xu R., He, Q., Cai J., Pan Y., Shen J., Hu, B. Effects of chemicals and blending petroleum coke on the properties of low-rank indonesian coal water mixtures. *Fuel Processing Technology*. 2008. Vol. 89, № 3. P. 249-253.
2. Mal'tsev L.I., Belogurova T.P., Kravchenko I.V. Influence of high-energy impact on the physical and technical characteristics of coal fuels. *Thermal Engineering*. 2017. Vol. 64, № 8. P. 585–590.
3. Stebeleva O.P., Kashkina L.V., Petrakovskaya E.A., Nikitin S.L., Valiullin T.R. The impact of cavitation-activated water on combustion dynamics and environmental characteristics of coal-water slurry fuel. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 2019. Vol. 537. P. 062056.
4. Pinchuk V.A., Kuzmin A.V. The effect of the addition of TiO₂ nanoparticles to coal-water fuel on its thermophysical properties and combustion parameters. *Fuel*. 2020. Vol. 267. P. 117220.
5. Емельянова Т.Ю., Кашкина Л.В., Кулагин В.А., Стебелева О.П., Петраковская Э.А., Немцев И.В., Редькин В.Е. Влияние добавок глобулярного углерода на реологические свойства водоугольных суспензий. *Известия ВУЗ. Химия и химическая технология*. 2018. № 59 (8). С. 5-11.

ТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ БИОГЕННЫХ НАНОЧАСТИЦ ФЕРРИГИДРИТА

С.В. Столяр^{1,3}, О.А. Коленчукова^{3,4},
А.В. Киреева², Р.Н. Ярославцев¹,
В.П. Ладыгина², Е.А. Бирюкова⁴, А.В. Коломейцев^{5*}

¹Институт физики им. Киренского, ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия

²Красноярский научный центр, ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия

³Сибирский федеральный университет,
Красноярск, Россия

⁴Институт Медицинских Проблем Севера ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия

⁵Красноярский государственный Аграрный университет,
Красноярск, Россия

Ферригидрит $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ или оксигидроксид Fe^{3+} по сравнению с гидроксидами и оксидами Fe^{3+} является соединением с наибольшей метастабильностью. Благодаря этому ферригидрит играет огромную роль в метаболизме живых организмов. Наночастицы ферригидрита, синтезируемые *Klebsiella oxytoca*, могут оказаться весьма перспективным препаратом для различных приложений, поэтому требуют всестороннего изучения [1-3].

Цель данной работы заключается в изучении токсических свойств биогенных наночастиц ферригидрита, полученных в результате культивирования микроорганизмов *Klebsiella oxytoca*.

Используемые микроорганизмы *Klebsiella oxytoca* были выделены из сапропеля озера Боровое (Красноярского края). Отобранный в озере сапропель пропускали через магнитный сепаратор. Микроорганизмы наращивались на питательных средах, содержащих различные формы железа (Fe^{2+} оксалат и Fe^{3+} цитрат) [4]. Объектами исследования являлись половозрелые самцы крыс породы Вистар, массой тела 200...250 г. Содержание и манипуляции над животными проводили в соответствии с основными этическими принципами в сфере биоэтики. Проводили токсикологические исследования воздействия наночастиц ферригидрита на ткани и органы лабораторных животных. Концентрация наночастиц ферригидрита в препарате составляла 2.4 г/л. Доза введения препарата составила 0.2 ml на одно животное каждые 8 дней в течение 1-го месяца. Наночастицы ферригидрита в виде водного золь вводили внутримышечно в область бедра. Лабораторные животные были разделены на 2 группы ($n = 8$): 1) животные, без воздействия; 2) животные, которым вводили водный золь наночастиц ферригидрита. По окончании срока эксперимента всех животных подвергали эвтаназии. Материалом для гистологического исследования служили образцы

* © Столяр С.В., Коленчукова О.А., Киреева А.В., Ярославцев Р.Н., Ладыгина В.П., Бирюкова Е.А., Коломейцев А.В., 2021

печени и почек, из которых готовили гистологические препараты по общепринятым методикам с окрашиванием для обзорных целей гематоксилином и эозином и на соединения железа (III) – по Перлсу с помощью реакции берлинской лазури.

Морфологические изменения печени

У животных, получавших золь наночастиц ферригидрита, обнаружены патогистологические изменения тканей печени. Несмотря на небольшое расширение центральных вен и синусоидных капилляров, гепатоциты находились в состоянии умеренной зернистой дистрофии (рис. 1) и отмечалось увеличение клеток с двумя ядрами, что может свидетельствовать о начале структурной компенсации поврежденной ткани путем пролиферации клеток. Клетки Купфера крупные, неправильной формы, их количество увеличено. Проведение реакции Перлса позволило выявить частичное распределение в паренхиме органа включения кристаллов берлинской лазури (рис. 2), что может свидетельствовать о не накоплении наночастиц ферригидрита в органе и быстром их выведении из органа.

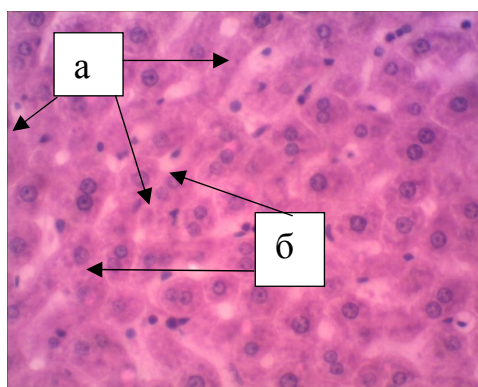


Рис. 1. Печень крысы. Увеличение гепатоцитов с двумя ядрами (а), увеличение клеток Купфера (б). Окраска гематоксилин-эозином. Окуляр x 10, объектив x 40

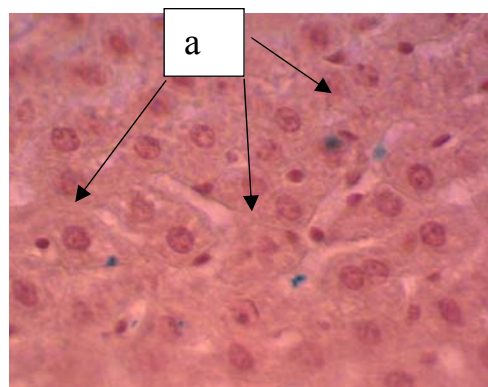


Рис. 2. Печень крысы. Видны частицы, окрашенные в синий цвет (а). Окраска Перлсом. Окуляр x 10, объектив x 40

Морфологические изменения в селезенке

В селезенке крыс, получавших золь наночастиц ферригидрита отмечалось распространение наночастиц как в паренхиме, так в строме органа (рис. 3). Отложение наночастиц ферригидрита отмечается как в красной, так и частично в белой пульпе. В селезенке отмечается увеличение площади красной пульпы, по отношению к белой. В красной пульпе было выражено полнокровие. Фолликулы имели разные размеры, в единичных фолликулах обнаруживались светлые центры и нечеткая мантийная зона. Эндотелий центральных артерий фолликулов набухший, стенка сосудов рыхлая, сами артерии частично в состоянии гиперемии. Повреждение эндотелия сосудов имело системный характер, так как наблюдалось в большинстве случаев.

Морфологические изменения в почках

В почках при введении водного золя наночастиц ферригидрита (рис. 4) отмечалось умеренное полнокровие клубочков, набухание эпителия извитых канальцев, где выявлялось частичное отложение Перлс положительных гранул. Нефроэпителий канальцев представлен зернистой цитоплазмой, четкими ядрами, мелкие очаги, где эпителий канальцев с дистрофией.

Таким образом результаты проведенного тестирования биогенного водного золя ферригидрита на лабораторных животных свидетельствуют о том, что токсикокинетика (задержка, перераспределение и элиминация) железосодержащих наночастиц контролируется как физиологическими, так физико-химическими механизмами, а именно активным эндоцитозом, осуществляемым различными клетками, и постепенным выведением из организма.

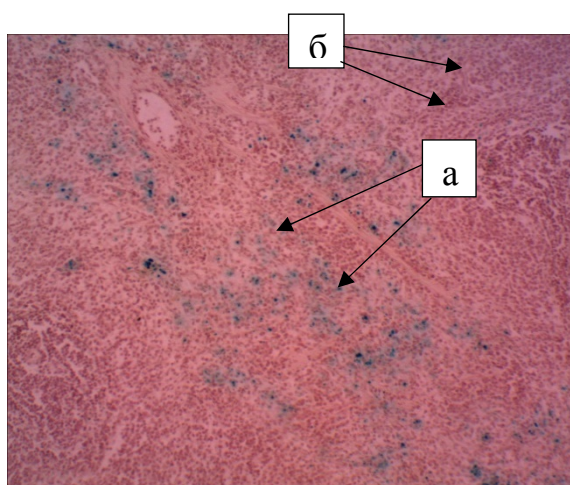


Рис. 3. Селезенка крысы. Видно отложение зерен гемосидерина в красной пульпе (а); отложение гемосидерина в белой пульпе (б) Окраска Перлсом. Окуляр х 10, объектив х 10

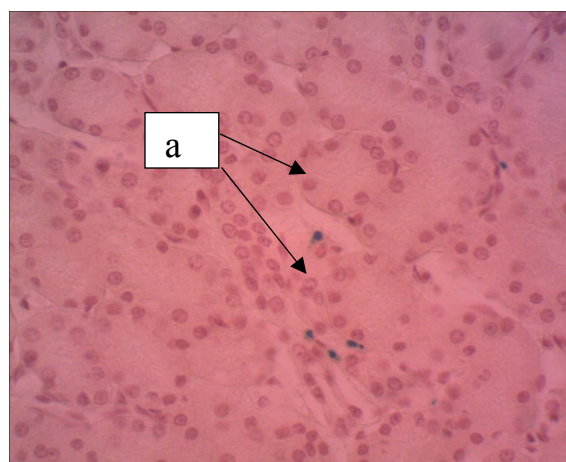


Рис. 4. Почка крысы. Видны зерна гемосидерина (а) Окраска Перлсом. Окуляр х 10, объектив х 40

Влияние биогенных наночастиц ферригидрита можно объяснить с одной стороны способностью к пенетрации через биологические барьеры, перенос с лимфой и кровью в разные органы и ткани (печень, селезенка и почки), а с другой стороны способностью наночастиц железа выделять токсичные ионы вблизи ультраструктурных и молекулярных мишеней их воздействия (повреждением эндотелия сосудов селезенки, а в печени и почках клеток паренхимы с развитием в них белковой дистрофии легкой и средней степени тяжести)[5].

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Красноярского краевого фонда науки в рамках научного проекта № 20-416-242907.

Список литературы

1. G. Gallo, F. Baldi, G. Renzone, M. Gallo, A. Cordaro, A. Scaloni, A. Puglia, Adaptative biochemical pathways and regulatory networks in *Klebsiella oxytoca* BAS-10 producing a biotechnologically relevant exopolysaccharide during Fe(III)-citrate fermentation, *Microb. Cell Fact.* 11 (2012) 152. doi:10.1186/1475-2859-11-152.
S. Kianpour, A. Ebrahiminezhad, M. Mohkam, A.M. Tamaddon, A. Dehshahri, R. Heidari, Y.
2. Ghasemi, Physicochemical and biological characteristics of the nanostructured polysaccharide-iron hydrogel produced by microorganism *Klebsiella oxytoca*, *J. Basic Microbiol.* 57 (2017) 132–140. doi:10.1002/jobm.201600417.
3. S. V. Stolyar, D.A. Balaev, V.P. Ladygina, A.A. Dubrovskiy, A.A. Krasikov, S.I. Popkov, O.A. Bayukov, Y. V. Knyazev, R.N. Yaroslavtsev, M.N. Volochaev, R.S. Iskhakov, K.G. Dobretsov, E. V. Morozov, O. V. Falaleev, E. V. Inzhevatin, O.A. Kolenchukova, I.A. Chizhova, Bacterial Ferrihydrite Nanoparticles: Preparation, Magnetic Properties, and Application in Medicine, *J. Supercond. Nov. Magn.* 31 (2018) 2297–2304. doi:10.1007/s10948-018-4700-1.
4. S.V. Stolyar, O.A.Kolenchukova, A.V. Boldyreva, N.S. Kudryasheva, Y.V. Gerasimova, A.A. Krasikov, R.N. Yaroslavtsev; O.A. Bayukov, V.P. Ladygina, E.A. Birukova, Biogenic Ferrihydrite Nanoparticles: Synthesis, Properties In Vitro and In Vivo Testing and the Concentration Effect. *Biomedicines* 2021, 9, 323. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9030323>
5. S.V. Stolyar, V.P. Ladygina, A.V. Boldyreva, et al. Synthesis, Properties, and in vivo Testing of Biogenic Ferrihydrite Nanoparticles. *Bull. Russ. Acad. Sci. Phys.* 84, 2020, 1366–1369. <https://doi.org/10.3103/S106287382011026X>.

ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ РЯСКИ МАЛОЙ В БИОТЕСТИРОВАНИИ НАНОЧАСТИЦ ФЕРРИГИДРИТА

М.А. Субботин^{*}, Е.С. Костюкова, Е.Я. Мучкина[†]

ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет»,
Красноярск, Россия

Пигментный состав растений является наиболее высокоинформативным показателем, который может характеризовать состояние фотосинтетического аппарата растений. Определяет их физиологическое состояние и отражает их изменения, происходящие в процессе роста и развития [1]. Сумма и отношение хлорофиллов а и b играет не менее важную роль при характеристике работы фотосинтетического аппарата. Это соотношение в норме стабильно и очень чутко реагирует на изменения различных факторов среды.

В настоящий период в достаточной степени представлены сведения по реакции растительных организмов на действие ряда факторов. Возрастающие объёмы применения наноматериалов и наночастиц в различных отраслях деятельности, пока не имеют однозначной оценки их воздействия на живые организмы [2, 3, 4]. Целесообразно изучение эффекта наночастиц на ряд показателей растительных объектов как автотрофных организмов, например, по реакции стандартного тест-объекта *Lemna minor* L. [2, 5, 6, 7].

Цель работы – использование пигментного состава листецов ряски малой как показателя действия наночастиц ферригидрита. В работе использованы наночастицы ферригидрита, предоставленные д. физ.-мат. наук Ю. Л. Гуревичем (ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск).

Двадцать розеток *Lemna minor* L. помещали в пробирки объёмом 50 мл с различной концентрации суспензии наночастиц на 4 часа. Культивационной средой являлась 2 % среда Штейнберга [5]. Концентрацию хлорофилла а и b определяли спектрофотометрическим методом.

Изучение суммы хлорофиллов а и b показало, что при малых концентрациях суспензии наночастиц в среде наблюдалась меньшая сумма хлорофиллов по сравнению с контролем. Так, в варианте 0,2 % суспензии наночастиц, концентрация хлорофиллов была ниже контроля на 48 %, а при 0,4 % – на 39 %. При дальнейшем увеличении концентрации наночастиц выявлено стимулирующее действие, например, при концентрации суспензии 0,6 % отмечено увеличение суммы хлорофиллов на 25 % по сравнению с контролем, при 0,8 % – на 70 %, а при 1 % – на 62 %.

Установлена так же реакция ряски малой на действие наночастиц ферригидрита по соотношению хлорофиллов а и b (рисунок 1).

В контроле соотношение хлорофиллов а и b составило – 0,74. В варианте суспензии наночастиц 0,2 % наблюдалось выравнивание содержания хлоро-

^{*} msubbotin@sfu-kras.ru

[†] © Субботин М.А., Костюкова Е.С., Мучкина Е.Я., 2021

филлов а и в. При более высоких концентрациях наночастиц отмечены близкие к контролю значения соотношения хлорофиллов.

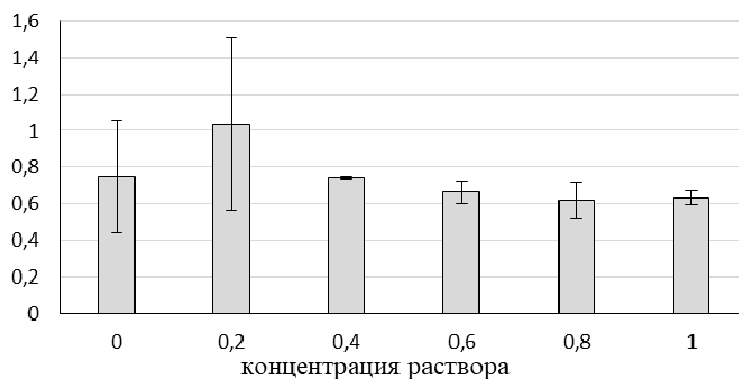


Рис. 1. Отношение концентраций хлорофилла а и в в листецах *Lemna minor*, в присутствии биогенных наночастиц ферригидрита

Таким образом, проявление эффекта наночастиц биогенного ферригидрита неоднозначно, при малых концентрациях наночастиц уменьшалось суммарное содержание хлорофиллов, при высоких – увеличивалось. В то же время на соотношение хлорофиллов а и в в присутствии наночастиц ферригидрита не отмечено значимого действия.

Список литературы

1. Кузнецов В. В. Физиология растений в 2 т. Том 1: учебник для академического бакалавриата / Г. А. Дмитриева. – 4-е изд., перераб. и доп. – Москва: Издательство Юрайт. 2019. 437 с.
2. Гармашова М. К., Мучкина Е. Я., Субботин М. А. Реакция тест-объектов (дафнии, хлорелла, кресс-салат) на действие биогенных наночастиц ферригидрита // Вестник КРАСГАУ. 2018. № 5. С.280-285.
3. Биогенные наночастицы на основе железа как фактор экологической безопасности при производстве сырья для зерноперерабатывающей промышленности / С. В. Хижняк [и др.] // Вестник КРАСГАУ. 2012. № 5. С.420-423.
4. Биогенные наночастицы на основе железа как нейтрализатор токсичности углеводов / С. В. Хижняк [и др.] // Вестник КРАСГАУ. 2011. № 9. С.157-160
5. ISO/DIS 20079. Water quality – Determination of the toxic effect of water constituents and waste water to duckweed (*Lemna minor*) – Duckweed growth inhibition test. Reference number ISO 20079:2005(E).
6. Muchkina E. Ya., Subbotin M. A., Garmashova M. K. The effect of nanoparticles of biogenic ferrihydrite on the development of *Lepidium sativum* L. // Conference Series Earth and Environmental Science. 2019. P.42035.
7. Subbotin M. A., Muchkina E. Ya. The effect of nanoparticles of biogenic ferrihydrite on the *Lemna minor* L. growth // International Scientific Conference on Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies, AGRITECH-II 2019. Vol. 421.P. 52006.

РАЗВИТИЕ ЭПИДЕМИИ КОРОНАВИРУСА: МОДЕЛЬ ФАЗОВОГО ПЕРЕХОДА

В.Г. Суховольский*, А.В. Ковалев†

Федеральный исследовательский центр КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия

Существует большое число моделей развития инфекционных заболеваний, в которых с помощью систем дифференциальных уравнений (непрерывное время) или разностных уравнений (дискретное время) описывается динамика групп населения с разными характеристиками по отношению к инфекции. В простейшей SIR-модели, используемой уже в течение почти 100 лет, вся популяция делится на три группы: Susceptible (S), Infected (I), Removed (R) [1].

Модель SIR и производные от нее модели можно характеризовать как беспороговые. Согласно этим моделям эпидемия может начаться после того, как заболеет один пациент. Однако такое состояние популяции будет крайне неустойчивым, и эпидемии в этом случае будут возникать очень часто. В альтернативном подходе к моделированию эпидемии рассматривается возможность существования порога числа заболевших, по достижению которого начинается эпидемия. Тогда важным показателем риска эпидемии будет величина критической пороговой численности заболевших. Пороговую модель эпидемии будем рассматривать как аналог таких процессов в физических системах, как фазовый переход первого рода.

Введем понятие функции $F(x)$ – состояния системы. Функцию $F(x)$ определим как величину, обратную функции плотности распределения $f(x)$ значений x в течение длительного периода T , достаточного для того, чтобы все возможные состояния системы могли реализоваться. Если вероятность реализации некоторого состояния $x(t)$ за период T мала, то значение функции $F(x)$ будет велико. Если в течение периода T состояние $x(t)$ реализуется достаточно часто, то значение $F(x)$ мало. Функцию $F(x)$ можно классифицировать в зависимости от числа локальных минимумов и максимумов. Функцию $F(x)$ с одним глобальным минимумом $F(x_1)$ можно характеризовать как функцию с одним устойчивым состоянием x_1 . Функцию с двумя локальными минимумами $F(x_1)$ и $F(x_2)$ и одним локальным максимумом $F(x_r)$ между локальными минимумами можно характеризовать как бистабильную функцию с двумя возможными состояниями. Если значение $F(x_r)$ велико, это означает, что состояние x_r встречается очень редко и система перескакивает из состояния x_1 в x_2 и обратно. Поведение системы такого рода хорошо известно для физических систем и носит название *фазового перехода первого рода* (Ландау, Лифшиц, 1964).

На первом этапе анализа эпидемии рассматривался феномен существования критической плотности заболевших, при достижении которой начиналась

* soukhovolsky@yandex.ru

† © Суховольский В.Г., Ковалев А.В., 2021

экспоненциальная стадия эпидемии. Для этого проводился расчет функции состояния для планеты в целом и для таких стран, как Россия и США (рис. 1).

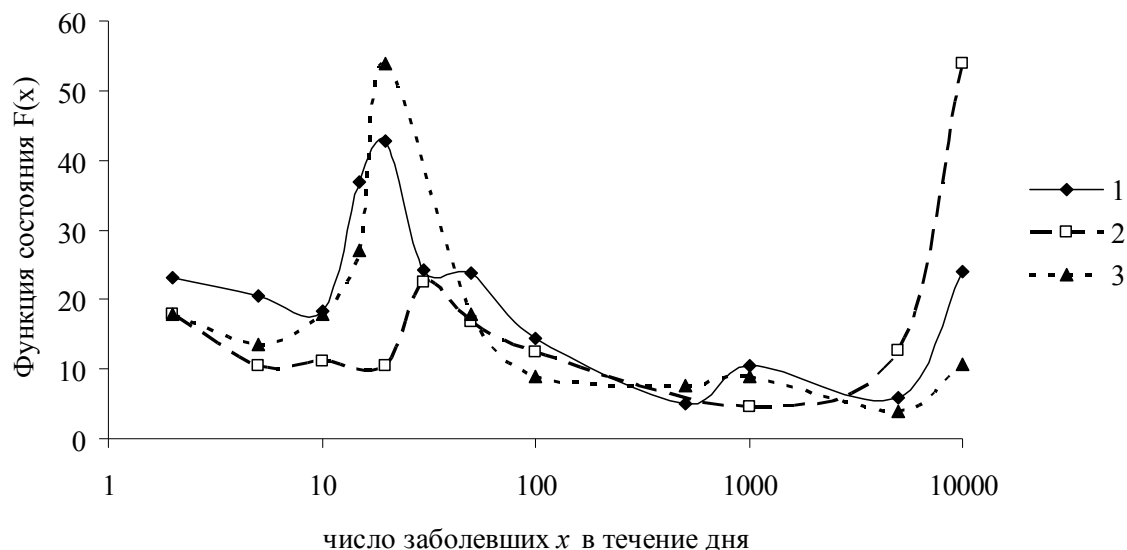


Рис. 1. Функция состояния $F(x)$ для США (1), планеты в целом (2) и России (3) по данным с начала января по середину апреля 2020 г.

Как видно из рис. 1, критическая численность ежедневно заболевших в США, России и среднем по планете близка к 20–30 пациентам. Если критическое число заболевших существует, то после достижения на территории этого критического значения должен наблюдаться скачок численности ежедневно заболевших и переход в экспоненциальную стадию заболевания. Для разных территорий этот скачок происходит в разное время.

Для моделирования распространения эпидемии по территории разных стран и планеты в целом рассматривалась модель фазовых переходов второго рода, а для описания динамики развития эпидемии после перехода в состояние с x_2 была предложена ADL-модель [2, 3, 4]. Все модели были верифицированы по данным с начала эпидемии по конец лета 2021 г. для большого числа стран.

Список литературы

1. Kermack W. O., McKendrick A., Contribution to the Mathematical Theory of Epidemics // Proceedings of the Royal Society. 1927. V. 115. No. A771. P. 700–721.
2. Soukhovosky V., Kovalev A., Pitt A., Kessel B. A new modelling of the COVID 19 pandemic// Chaos, Solitons & Fractals (IF 3.764) Pub Date: 2020-06-20, DOI: 10.1016/j.chaos.2020.110039.
3. Суховольский В.Г., Ковалев А.В. Моделирование эпидемии коронавируса как фазового перехода// ЖОБ. 2020. Том 81, № 5, с. 362–373.
4. Soukhovosky V., Kovalev A., Pitt A., Shulman K., Tarasova O., Kessel B. The Cyclicity of coronavirus cases: “Waves” and the “weekend effect”// Chaos Solitons & Fractals 2021. DOI: 10.1016/j.chaos.2021.110718.

ВЛИЯНИЕ ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ НА РАЗВИТИЕ ВСПЫШЕК МАССОВОГО РАЗМНОЖЕНИЯ ЛЕСНЫХ НАСЕКОМЫХ В ТАЕЖНЫХ ЛЕСАХ

В.Г.Суховольский^{1*}, А.В. Ковалев², О.В.Тарасова^{3†}

¹Институт леса им.В.Н.Сукачева,

Красноярск, Россия

ФИЦ КНЦ СО РАН,

Красноярск, Россия

¹Сибирский федеральный университет,

Красноярск, Россия

Вспышки массового размножения таких видов, как сибирский шелкопряд *Dendrolimus sibiricus* Tschetv., черный пихтовый усач *Monochamus urussovii* Fisch., непарный шелкопряд *Lymantria dispar* L., сосновая пяденица *Bupalus piniarius* L. в таежных лесах Сибири начинаются с очагов площадями в единицы га и достигают площадей в сотни тысяч га, что ведет к значительным повреждениям лесов.

Развитие вспышек определяется совокупностью факторов: геофизических (солнечной активностью), погодных (температурой и осадками в течение сезона), трофических (состоянием корма), численностью популяций вредителей, физиологических (состоянием особей вредителей и устойчивостью древесных растений к нападению вредителей). Для сохранения лесов важно оценить риски вспышек и заблаговременно определить моменты начала вспышек и зоны, в пределах которых начинаются вспышки. Для решения этой задачи ведется мониторинг состояния лесной экосистемы. При этом для оценки многих показателей (текущей плотности популяции, физиологического состояния особей вредителей, состояния корма и т.п.) требуется проведение наземных обследований.

Однако вести наземный мониторинг по всем сибирским таежным лесам, занимающим территории в миллионы га, технически невозможно. В связи с этим в качестве индикаторов возможных вспышек рассматриваются такие характеристики, как текущие геофизические и погодные условия, для оценки которых возможно использовать данные дистанционного зондирования. К сожалению, по данным дистанционного зондирования удастся оценить изменения состояния лесов только после значительных повреждений их насекомыми [1, 2], что бессмысленно с точки зрения предсказания будущих вспышек.

К тому же внешние факторы можно рассматривать как необходимые, но недостаточные условия развития вспышек массового размножения. Так, повышение солнечной активности, сухая и теплая погода не обязательно могут привести к возникновению вспышек, поэтому оценка риска вспышек по изменению этих показателей ненадежна. Следует также заметить, что солнечная активность синхронно изменяется по всей территории планеты, а синхронность из-

* soukhovolsky@yandex.ru

† © Суховольский В.Г., Ковалев А.В., Тарасова О.В., 2021

менений погодных условий на территории Средней Сибири характеризуется пространственной корреляцией в сотни километров [3], тогда как вспышки на их начальном этапе локализуются на территориях в десятки га. Таким образом, на подавляющей части территорий с сухой и теплой погодой в течение сезона никаких вспышек массового размножения вредителей не происходит. В этих условиях определить по погодным показателям дату и место начала вспышки крайне затруднительно.

В настоящей работе рассмотрена возможность использовать для оценки возможности возникновения вспышек массового размножения некоторой пространственно-временной «пирамиды» необходимых условий, включающих геофизические и погодные факторы и восприимчивость деревьев к изменению погодных условий, оцениваемую с использованием данных дистанционного зондирования. Такой подход позволяет резко уменьшить площади зон потенциального риска возникновения вспышек и дает возможность сократить объем наземных обследований.

Для оценки возможного влияния климатических изменений на частоту и географические зоны вспышек рассмотрена имитационная модель изменения восприимчивости деревьев к нападению насекомых при различных сценариях многолетних изменений температуры воздуха и спектра колебаний температуры в течение сезона.

Список литературы

1. Kharuk V.I., Ranson K.J., Fedotova E.B. Spatial pattern of Siberian silkmoth outbreak and taiga mortality// *Scandinavian Journal of Forest Research*. 2007. 22(6): 531-536. DOI: 10.1080/02827580701763656
2. Safonova A., Tabik S., Alcaraz-Segura D., Rubtsov A., Maglinets Y., Herrera F. Detection of Fir Trees (*Abies sibirica*) Damaged by the Bark Beetle in Unmanned Aerial Vehicle Images with Deep Learning// *Remote Sensing*. 2019. v. 11. p.643 -662.
3. Исаев А.С., Пальникова Е.Н., Суховольский В.Г., Тарасова О.В. Динамика численности лесных насекомых-филлофагов: модели и прогнозы. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2015. 276 с.

ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ГУСЕНИЦ ЛЕСНЫХ НАСЕКОМЫХ МЕТОДАМИ ДИЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

**В.Г.Суховольский^{1,2*}, А.В.Ковалев²,
О.В.Тарасова³, В.В. Мартемьянов⁴, Ю.Б.Аханаев^{4†}**

¹*Институт леса им. В.Н.Сукачева СО РАН,
Красноярск, Россия*

²*ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия*

³*Сибирский федеральный университет,
Красноярск, Россия*

⁴*ИСиЭЖ СО РАН,
Новосибирск, Россия*

Характеристики физиологического состояния гусениц лесных насекомых во многом определяют плодовитость особей, интенсивность повреждения насекомыми кормовых деревьев, возможности воздействия повреждающих факторов (химических соединений, бактерий, вирусов) в ходе мероприятий по контролю численности насекомых-вредителей. Однако число показателей, которые можно использовать для оценки состояния особей насекомых (особенно в полевых условиях), достаточно мало. Чаще всего для этих целей используют такой показатель, как масса гусениц. Однако такой показатель крайне ненадежен. Оценка состояния особей методом дозированного выкармливания неэкспрессна и достаточно трудоемка. В полевых условиях достаточно трудно использовать для оценки состояния особей и биохимические показатели особей.

Достаточно давно для оценки состояния особей предлагалась использовать характеристики гемолимфы насекомых – тканевой жидкости в теле насекомых [1]. Подобно крови у позвоночных животных, гемолимфа образована жидким межклеточным веществом (плазмой) и находящимися в ней клетками – гемоцитами [2]. Суммарный объем гемоцитов, циркулирующих в теле насекомого, достигает 10 % от общего объема гемолимфы. Гемолимфа осуществляет транспортировку питательных веществ от стенок пищеварительного канала ко всем органам. Вторая важная функция гемолимфы связана с её участием в защите насекомых от инфекционных заболеваний и заражения паразитами. В выполнении данной защитной функции участвуют белки плазмы, гемоциты, способные к фагоцитозу, и клетки, образующие гемоцитарные капсулы вокруг многоклеточных паразитов [2].

Однако оценка состояния особи по составу гемоцитов (по аналогии с анализами состава крови млекопитающих) в полевых условиях крайне затруднительна, а при камеральных измерениях состав гемоцитов насекомых сильно изменяется и перестает отражать физиологическое состояние особей.

* soukhovolsky@yandex.ru

† © Суховольский В.Г., Ковалев А.В., Тарасова О.В., Мартемьянов В.В., Аханаев Ю.Б., 2021

В настоящей работе описана методика оценки состояния гусениц непарного шелкопряда *Lymantria dispar* L. в очагах массового размножения в березовых колках на территории Барабинского района Новосибирской области с сильно изъятой насекомыми листвой березы *Betula pendula* и гусениц этого же вида в слабо поврежденных насаждениях.

Для оценки состояния гемолимфы использовались методы диэлектрической спектроскопии. Диэлектрические параметры гемолимфы (сопротивление и емкость в широком диапазоне частот) позволяют характеризовать емкость мембран гемоцитов и проводимость тканей [3, 4].

При прохождении электрического тока его часть течет через межклеточную среду, которую можно представлять в виде некоторого сопротивления R_1 (или проводимости $G_1=1/R_1$), а часть тока течет через мембраны гемоцитов с сопротивлением R_3 (или проводимостью $G_3=1/R_3$) и емкостью C_0 . Зависимость электрических характеристик от частоты пропускаемого электрического тока характеризуется импеданс-годаграфами, представляющими собой кривые, характеризующие связь омической и емкостной проводимости на различных частотах (рис. 1).

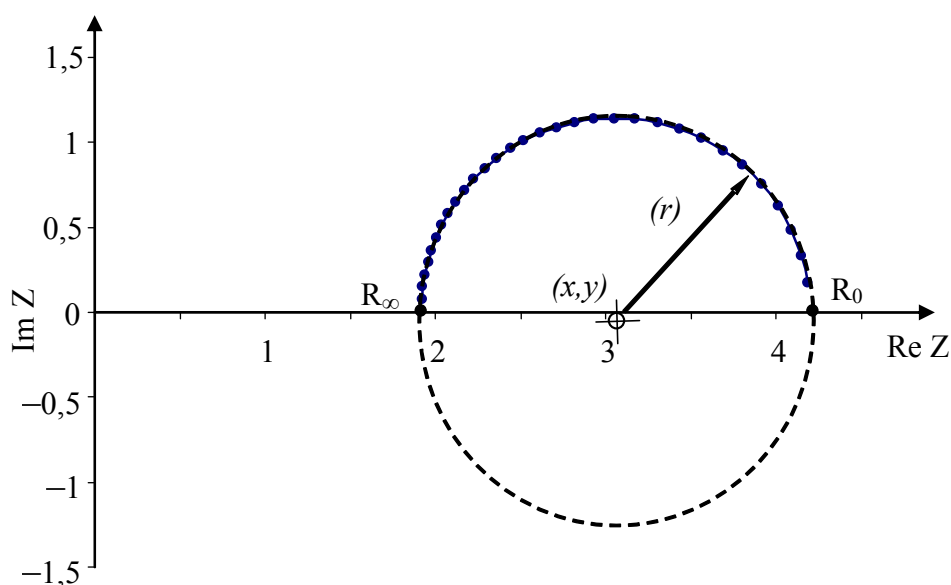


Рис. 1. Кривая импеданс-годаграфа гемолимфы

Измерения диэлектрических характеристик гемолимфы производились с использованием оригинального полевого диэлектрического фурье-спектрометра [5, 6]. Длительность измерений одного образца не превышала 3 с. Диэлектрические характеристики рассчитывались в автоматическом режиме.

Образцы гемолимфы брались из тела гусениц с помощью капиллярной канюли. Диэлектрические характеристики (импеданс-годаграф) образца гемолимфы объемом менее 0.001 см^3 измерялись в капиллярной кювете в двух режимах: в режиме однократного измерения характеристик всего образца гемолимфы и в режиме последовательности 5000 измерений гемолимфы, движущейся в кювете под воздействием микронасоса. При первом режиме измерений

рассматривались характеристики R_0 и R_b образца, при втором режиме измерений рассматривалась функция плотности распределения величин R_b .

На рис. 2 приведены типичные функции плотности распределения характеристик R_b гемолимфы особи в очаге массового размножения (кривая 1) и особи вне очага (кривая 2).

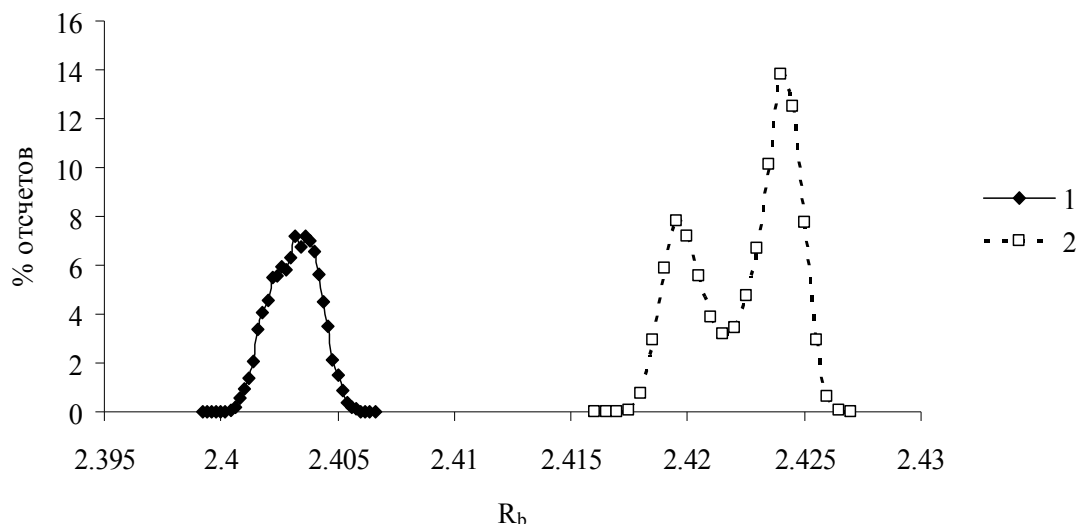


Рис. 2. Типичные функции плотности распределения характеристик R_b гемолимфы особи в очаге массового размножения (кривая 1) и особи вне очага (кривая 2)

Таким образом, существует связь между характеристиками уровня повреждения деревьев в местообитаниях и диэлектрическими свойствами гемолимфы особей, размещающихся в этих местообитаниях.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 19-04-00197) и РНФ (грант № 21-46-07005).

Список литературы

1. Надзор, учет и прогноз массовых размножений хвое- и листогрызущих насекомых. М.: Лесная промышленность. 1965. 525 с.
2. Тыщенко В. П. Физиология насекомых. М.: Высш. шк. 1986. 303с.
3. Гусев Ю.А. Основы диэлектрической спектроскопии. Казань: Изд-во КГУ. 2008. 112 с.
4. Schanne O., Ruiz P., Ceretti E., Impedance measurements in biological cells. N.Y.: John Wiley & Sons. 1978. 430 p.
5. Ковалев А.В., Суховольский В.Г. Диэлектрический спектрометр для экспрессной оценки состояния растений//Мониторинг и биологические методы контроля вредителей и патогенов древесных растений: от теории к практике. Красноярск: ИЛ СО РАН. 2016. С. 105–106.
6. Суховольский В.Г., Воронин В.И., Осколков В.А., Ковалев, А.В. Экспресс-оценка состояния древесных растений по диэлектрическим характеристикам тканей ствола// Лесной журнал, 2021, № 2. с. 70 – 85.

ЦИФРОВОЙ АНАЛИЗ ХАРАКТЕРИСТИК ПАРКОВОГО И ЖИВОПИСНОГО ПЕЙЗАЖЕЙ

В.Г.Суховольский^{1,2*}, А.В.Ковалев², О.В.Тарасова^{3†}

¹Институт леса им. В.Н.Сукачева СО РАН

²ФИЦ КНЦ СО РАН,

Красноярск, Россия

³Сибирский федеральный университет,

Красноярск, Россия

Парки – специфический художественный объект. Еще в эпоху Возрождения сформировались разнообразные садовые стили, впоследствии ставшие классическими. Регулярный стиль в оформлении садов по праву считается самым консервативным. Он олицетворяет собой строгость и геометричность форм. Можно сказать, что регулярный парк можно характеризовать наличием дальнего пространственного порядка. Пейзажный (английский) стиль садового оформления наиболее приближен к естественному природному ландшафту и может характеризоваться наличием ближнего порядка. По своему характеру он противоположен регулярному стилю. Здесь правит полная асимметрия, и даже некоторая небрежность в расположении элементов. Такой парк можно представить как своеобразную картинную галерею независимых пейзажей, подобных произведениям пейзажной живописи. Совершенно независимо от западного паркового стиля развивались восточные парковые объекты (китайский и японский), однако и для парков этого типа можно говорить о наличии дальнего и ближнего порядков.

Можно говорить о близости восприятия парков с ближним пространственным порядком и пейзажа на картине. О близости живописного пейзажа и вида парка указывает большое число картин разных авторов, на которых отображены парковые зоны.

Видом парка, как и живописным пейзажем можно восхищаться или напротив, считать эти виды неудачными. В этом отношении можно говорить, что красота парка (как и красота живописного пейзажа) – понятие субъективное. Однако с развитием цифрового представления в искусстве возникает вопрос – существуют ли какие-то объективные показатели, позволяющие нам оценить **в цифрах** художественные достоинства объектов паркового искусства и живописной пейзажной картины?

Обычно, когда пытаются ввести какие-то количественные показатели, используют те или иные математические методы. Действительно, существуют несколько точек пересечения живописи и математики: теория перспективы, представление о золотом сечении в теории композиции пейзажа (Раушенбах, 1980, 1986, 2001; Livio, 2002). В настоящей работе рассмотрена возможность исполь-

* soukhovolsky@yandex.ru

† © Суховольский В.Г., Ковалев А.В., Тарасова О.В., 2021

зования математических подходов для описания эстетических характеристик как парков, так и пейзажной живописи.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Красноярского краевого фонда науки (грант КФН-771).

**РАЗРАБОТКА БИОЛОГИЧЕСКОГО МОДУЛЯ
НА ОСНОВЕ ИММОБИЛИЗОВАННОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ
ФЕРМЕНТАТИВНОЙ СИСТЕМЫ:
NAD(P)H: FMN-ОКСИДОРЕДУКТАЗА-ЛЮЦИФЕРАЗА
ДЛЯ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ СЕНСОРОВ**

И.Г. Торгашина^{1*}, Е.Н. Есимбекова², В.А. Кратасюк^{1†}

¹*ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет»,
Красноярск, Россия*

²*Институт биофизики СО РАН,
Красноярск, Россия*

Биолюминесцентные ферментативные системы на основе бактериальных люцифераз являются уникальным инструментом для анализа многих аналитов в окружающей среде, а также для исследовательских работ в различных областях. Цель настоящего исследования – создание биологического модуля биолюминесцентного биосенсора на основе иммобилизованной в крахмальном геле биолюминесцентной ферментной системы. Такой датчик подходит для оценки экологического риска и количественного измерения интегрального уровня токсичности, вызванного химическими угрозами. Биологический модуль для биосенсоров на основе ферментов включал совместно иммобилизованную в высушенный крахмальный гель биферментную систему: NAD(P)H: FMN-оксидоредуктаза и люцифераза и субстраты (альдегид и NADH). Для создания активного и чувствительного биологического модуля исследованы характеристики биферментной системы NAD(P)H: FMN – оксидоредуктаза и люцифераза, иммобилизованной совместно с NADH и альдегидами разной длины углеводородной цепи. В качестве субстратов люциферазы были выбраны такие альдегиды, как деканаль (C₁₀) и тетрадеканаль (C₁₄). Выход активности биферментной системы NAD(P)H: FMN – оксидоредуктаза и люцифераза содержащей в составе модуля C₁₀ и C₁₄ составило 11 % и 18 % соответственно. Чувствительность биологического модуля, состоящего из биферментной системы, иммобилизованной вместе с NADH и C₁₄, к сульфату меди, используемому в качестве модельного токсиканта, на порядок выше, чем у ферментной системы, иммобилизованной вместе с NADH и C₁₀. Таким образом, для обеспечения высокой активности и чувствительности биолюминесцентного сенсора к действию токсичных веществ целесообразно использовать C₁₄ в составе биологического модуля. Увеличить чувствительность биологического модуля к токсикантам можно за счет уменьшения в нем концентрации ферментов. Значение IC₅₀ для сульфата меди составило 1,25 мг/л и было достигнуто при содержании 0,2 мкг люциферазы и 0,6*10⁻⁴ единиц активности NAD(P)H: FMN – оксидоредуктазы в модуле. Созданный биологический модуль сохранял активность и чувствительность к токсическим веществам в течение 2 месяцев хранения при 4 °С.

* torira@mail.ru

† © Торгашина И.Г., Есимбекова Е.Н., Кратасюк В.А., 2021

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, Правительства Красноярского края и Красноярского краевого фонда науки в рамках научного проекта № 20-44-242001.

СНИЖЕНИЕ ФИТОТОКСИЧНОСТИ СЛАБОЗАСОЛЕННЫХ ПОЧВ ОРГАНИЧЕСКИМИ ДОБАВКАМИ

Н.Э. Тотубаева^{1*}, А.М. Максатбекова¹, В.А. Терехова^{2†}

¹*Кыргызско-Турецкий университет «Манас»*

Кыргызская Республика, Бишкек

²*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
Москва, Россия*

Кыргызская Республика горная страна, окруженная пустынями, с резким континентальным климатом, обладающая значительными площадями засоленных почв, характеризующихся от слабощелочных до щелочных значениями pH (7,2 – 8,9). В земледельческой зоне насчитывается более 500 тыс. га засоленных и около 450 тыс. га солонцеватых почв, значительная часть которых приходится на орошаемую пашню (Жумабеков, 2018). Засоленные почвы приводят к значительному снижению урожайности сельскохозяйственных культур, что отражается на благополучии местного населения, 50 % которого занято в сельском хозяйстве и всего лишь 7 % или около 1,2 млн.га земель считаются пахотными (Практическое руководство..., 2018).

Предложены различные методы мелиорации слабозасоленных почв, в частности используются азотные и фосфорные удобрения, которые зачастую плохо усваиваются и отрицательно влияют на окружающую среду (Ladha et al. 1998). Ученые всего мира столкнулись с этой тревожной ситуацией и пытаются преодолеть ее путем поиска альтернативных источников, которые являются экономически эффективными и не будут обладать негативным влиянием на окружающую среду (Hemida Abd-Alla et al., 2014). Проблема остается весьма актуальной, требует дополнительных исследований и предложения новых методов улучшения состояния почв, прежде всего для снижения их фитотоксичности.

Материалом для наших исследований токсичности послужили почвы Чуйской области, которые относятся к Северо-Кыргызской провинции – одному из наиболее засоленных регионов страны.

Изучаемые почвы относятся к слабозасоленным, с низким содержанием гумуса (1,30 %). Агрохимические показатели изучаемых почв приведены в таблице 1.

Цель работы заключалась в оценке улучшения агрохимических показателей слабозасоленных почв с помощью органических добавок методом экспрессного фитотестирования.

В качестве почвоулучшителя использовали компост. Оценивали эффект сухого компоста в дозах 30 т/га; 45 т/га и 75 т/га и водный экстракт компоста. В

* nurzat.totubaeva@manas.edu.kg

† © Тотубаева Н.Э., Максатбекова А.М., Терехова В.А., 2021

качестве стандартных тест-культур применяли редьку (*Brassica rapa* L.) и овес (*Avena sativa* L.).

Сухой компост вносили в почву в соотношении 9:1; 6:1; 3:1. Использование сухого компоста во всех испытанных дозах не дали существенного улучшения развития растений (рис. 1).

Таблица 1

Агрохимические показатели изучаемых почв

рН	8,20
Гумус (%)	1,30
Азот общий (%)	0,062
Фосфор общий (%)	0,131
Калий общий (%)	1,56
Емкость поглощения (мг-экв)	14,0
Поглощенный Na (мг-экв)	0,17



Рис. 1. Рост тест-культур в слабозасоленной почве (Чуйская обл., Кыргызстан) с добавлением сухого компоста на 25-е сутки: а-редька *B. rapa*, б-овес *A. sativa*

В образцах с сухим компостом семена *B. rapa* не дали всходов, а рост культуры *A. sativa* был заметно угнетен по сравнению с контролем. Таким образом, положительного влияния сухого компоста при добавлении в почву не было отмечено на растениях.

В тоже время водные экстракты компоста заметно стимулировали развитие тест-культур (рис. 2).



Рис. 2. Рост тест-культур в слабозасоленной почве (Чуйская обл., Кыргызстан) с добавлением водного экстракта компоста на 25-е сутки:
а-редька *B. rapa*, б-овес *A. sativa*

Положительный фитозэффект экстрактов наблюдался во всех вариантах, однако, наилучшее развитие растений отмечено при добавлении 20 % водного экстракта компоста.

Таким образом, с помощью фитотестирования удалось сравнить фитозэффекты двух вариантов добавок к слабозасоленным почвам. Выявлено оптимальное воздействие при добавлении 20 % водного экстракта компоста, которое было выражено в увеличении длины корня и стебля растений. Использование же сухого компоста в качестве мелиоранта слабозасоленных почв не дало положительных результатов.

Исследование выполнено в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова "Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды"

Список литературы

1. Жумабеков Э.Ж., Саипов Б.С., Ызаканов Т.Ж. Засоленные почвы Кыргызстана и пути из мелиорации//Вестник Кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина.2018.№ 2(47).с.114-121
2. Изучение и подбор солеустойчивых сельскохозяйственных культур для возделывания на засоленных почвах/ Практическое руководство для фермеров опубликовано Продовольственной и сельскохозяйственной организацией Объединенных Наций и Общественным фондом "Центр обучения, консультации и инновации".2018.-23с.

3. Ladha J.K., Padre A.T., Punzalan G.C., Castillo E., Singh U., Reddy C.K. Nondestructive estimation of shoot nitrogen in different rice genotypes// *Agron J*, 90 (1998), pp. 33-40
4. Hemida Abd-Alla Mohamed, Abdel-Wahab Elsadek El-Enany, Nivien Allam Nafady, David Mamdouh Khalaf, Fatthy Mohamed Morsy Synergistic interaction of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* and arbuscular mycorrhizal fungi as a plant growth promoting biofertilizers for faba bean (*Vicia faba* L.) in alkaline soil// *Microbiological Research*. 2014. V.169. pp. 49– 58

ELUCIDATING ALUMINIUM RESISTANCE FOR ENHANCED CROP PRODUCTION ON ACIDIC SOIL

Bhumi Nath Tripathi^{*}, Vijetna Singh and Tulika[†]

*Department of Biotechnology, Indira Gandhi National Tribal University
Amarkantak, 484887, Madhya Pradesh, India*

Wheat is one of the most important staple cereal crops that cultivates world-wide due to its highly nutritious value and versatility in adaption to a wide range of agro climatic conditions. Increasing wheat production without agricultural expansion requires increase in wheat production on existing agricultural lands. But most wheat growing regions experience several soils constraints including soil acidity which has become a major problem for crop production. Acid soils cover 30-40 % of total world arable soil and further being acidified due to excessive use of ammonium containing fertilizers and acid rain. In acidic soil, aluminum (Al) toxicity has been considered as the major limiting factor for plant growth. The present study demonstrates an antioxidant defense system against Al-induced oxidative damage and a role of external malate detoxification in providing Al-resistance in an Al resistant genotype of wheat, Raj 3077. Al dependent growth inhibition was higher in Raj 4120 (Al-sensitive) in comparison to Raj 3077. Oxidative damage indicators such as lipid peroxidation and H₂O₂ content were measured in the roots of both genotypes. However, these parameters were higher in the shoots of Raj 4120 indicating presence of oxidative stress in there. Antioxidant enzymes such as SOD (EC 1.15.1.9), CAT (EC 1.11.1.6) and APX (EC 1.11.1.11) played important roles in providing resistance to the Raj 3077 against Al-induced oxidative stress. Inefficient activation of the antioxidant enzymes in the roots of Raj 4120 suggested that a severe oxidative damage was occurred in root and a higher amount of translocated toxic Al ions to shoot consequently caused Al stress there. Interestingly, a higher CAT activity was found higher in the shoot of Raj 4120 than Raj 3077, but it seemed not to be enough to combat with Al-induced reactive oxygen species. Raj 3077 showed higher malate efflux and higher *ALMT* gene expression than Raj 4120. Further, root length of Raj 3077 seedlings was particularly affected in the presence of anion channel inhibitor, niflumic acid suggested that malate detoxification is required for providing Al-resistance in Raj 3077 in the root region. Thus, both Al induced antioxidant defensive and external malate detoxification systems provide strength to combat with Al toxicity in Raj 3077.

^{*} bhum Nath Tripathi@hotmail.com

[†] © Tripathi Bhumi Nath, Singh Vijetna and Tulika, 2021

ТС1-ПОДОБНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ В ГЕНОМЕ МЕДУЗЫ *AURELIA AURITA*

Ю.Н. Улупова^{*†}

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

Мобильные генетические элементы (МГЭ) – нуклеотидные последовательности, способные к перемещению в геноме, были обнаружены у всех изученных организмов. Различные МГЭ значительно различаются по длине нуклеотидной последовательности и по своим свойствам. МГЭ характеризуются способностью к перемещениям внутри генома, увеличению численности, могут влиять на работу генов и индуцировать нестабильность генома, не способны существовать автономно. Известно, что различные воздействия как природного, так и антропогенного происхождения оказывают влияние на физиологические и биохимические процессы, протекающие в организмах [1]. Существуют доказательства того, что температура, ультрафиолетовое излучение, pH, электромагнитные поля, различные химические соединения, инфекции, гамма-излучение могут активировать мобильные генетические элементы и вызывать инсерционный мутагенез, в результате чего могут появляться мутации, как вредные, так и полезные для организма и популяции в целом. В связи с этим существует предположение, что мобильные генетические элементы участвуют в адаптации популяции к различным стрессорам и играют значительную роль в эволюции генома [2].

Классификация МГЭ основана на различиях в их структуре и механизмах перемещения в геноме. Принято выделять два класса мобильных элементов, отличающихся по строению и способу перемещения. Элементы первого класса (ретротранспозоны) перемещаются с помощью обратной транскриптазы, т. е. используют в качестве посредника молекулу РНК. Такой механизм называется «копирование-вставка». Ретротранспозоны обычно имеют прямые длинные концевые повторы. Второй класс элементов объединяет представителей, которые перемещаются в геноме как элементы ДНК и называются транспозонами. Все они имеют короткие инвертированные повторы на концах и кодируют белок транспозазу.

Суперсемейство ДНК-транспозонов *Tc1/mariner* включает элементы протяженностью от 1 до 3 тысяч пар нуклеотидов (п.н.). Последовательности элементов *Tc1/mariner* фланкированы концевыми инвертированными повторами (КИП) длиной 28-30 п.н. В центральной части расположен ген, кодирующий фермент транспозазу, который распознает КИП ДНК-транспозона. Этот фермент осуществляет как вырезание (эксцизию) МГЭ из последовательности генома, так и встраивание (инсерцию) в этот или другой локус генома. Для транспозазы *Tc1/mariner* характерно наличие DDE/D каталитического домена,

* yuliya-shustrova@mail.ru

† © Улупова Ю.Н., 2021

который обеспечивает вырезание и вставку МГЭ [3]. На данный момент элементы *Tc1/mariner* обнаружены у животных, грибов и растений. Несмотря на эволюционное разнообразие элементов, все они сходны по длине и размеру открытой рамки считывания, кодирующей транспозазу (1020-1050 п.н.).

В данной работе были исследованы геномные последовательности ушастой медузы *Aurelia aurita*, которые на момент исследования были представлены в NCBI. Ушастая медуза – это вид сцифоидных из отряда дискоидеидеи (Semaestomeae). Данный вид обитает в прибрежных водах морей тропического и умеренного поясов, в том числе и в Чёрном море. *A. aurita* это пелагический эврибионтный вид, который выдерживает существенные колебания как температур, так и солёности воды. С помощью программы BLAST, которая позволяет сравнивать исследуемые аминокислотные последовательности с известными МГЭ, размещёнными в базе данных NCBI, нами был проведен анализ аминокислотных последовательностей медузы *A. aurita* на наличие мобильных генетических элементов семейства *Tc1*, относящегося к суперсемейству *Tc1/mariner*. Для этого семейства характерен каталитический домен DD34E. В результате нами было обнаружено 4 последовательности, имеющие высокую гомологию с *Tc1*-подобными ДНК транспозонами.

Таблица 1

Tc1*-подобные транспозоны медузы *Aurelia Aurita

Организм	Название транспозона	Общая длина транспозона (п.н.)	Длина КИП (п.н.)	Длина транспозазы (а.о.)	Общее количество копий	Количество полноразмерных копий	Каталитический домен
<i>Aurelia aurita</i>	<i>ITm-1_AAur</i>	4322	90/90	359	9	1	D106D34E
	<i>ITm-2_AAur</i>	2152	26/26	358	30	5	E104D34E
	<i>ITm-3_AAur</i>	4614	229/230	370	42	1	N105D34E
	<i>ITm-4_AAur</i>	963	—	320	8	1	E106D34E

У одного из них, *ITm-1_AAur*, каталитический домен имел характерный паттерн – DD34E. У других трех элементов (*ITm-2_AAur*, *ITm-3_AAur*, *ITm-4_AAur*) первый D (аспартат) в каталитической триаде был замещен на E (глутамат), N (аспарагин) и E соответственно. Полноразмерные копии транспозонов *Tc1* присутствовали у трех элементов в единственном числе. У *ITm-2_AAur* присутствовало 5 полноразмерных копий. Общее количество копий обнаруженных элементов колебалось от 8 до 42, что может свидетельствовать о низкой транспозиционной активности данных элементов в геноме *A. aurita*.

Полученные результаты планируется использовать для исследования генетического разнообразия черноморских популяций *A. aurita*.

Список литературы

1. Юрченко Н.Н., Коваленко Л.В., Захаров И.К. Мобильные генетические элементы: нестабильность генов и геномов. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2011;15(2):261-270.
2. Piacentini L., Fanti L., Specchia V. et al. Transposons, environmental changes, and heritable induced phenotypic variability // *Chromosoma*. 2014. V. 123. P. 345–354.
3. Tellier M, Claeys Bouuaert C, Chalmers R. *Mariner* and the *ITm* superfamily of transposons // *Microbiol Spectrum*. 2015. V. 3. doi: 10.1128/microbiolspec.MDNA3-0033-2014

СПЕКТРАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИТОВ МИЦЕЛИАЛЬНОГО ПОЧВЕННОГО ГРИБА *TRICHODERMA HARZIANUM*

Е.В. Федосеева^{1*}, С.В. Пацаева^{2†},
Д.А. Хунджуа², В.А. Терехова^{2,3‡§}

¹Российский научно-исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова,
Москва, Россия

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

³Институт проблем экологии и эволюции Российской академии наук,
Москва, Россия

Грибы, являясь неотъемлемым компонентом наземных и водных экосистем, контролируют широкий спектр биосферных функций, включая наиболее важную – разложение органического вещества (Hawksworth, 2001; Grinhut et al., 2007). Грибы можно найти практически повсюду в окружающей среде: и в почвенных, и водных экосистемах (Kanzler et al., 2007; Терехова, 2007). Грибы аскомицеты, такие как *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Fusarium* и некоторые другие почвенного происхождения, наиболее распространены в водных экосистемах. Мицелиальные грибы могут помочь в оценке качества окружающей среды, позволяя определять экологический статус экосистем и динамику трансформации органического вещества. Среди мицелиальных грибов можно выделить группы патогенных грибов (например, представители родов *Aspergillus*, *Alternaria*, *Fusarium*) и грибов-антагонистов фитопатогенов (например, представители родов *Trichoderma* и *Cladosporium*).

К наиболее точным методам обнаружения грибов и их метаболитов относятся требующие специальное оборудование и знания лабораторные методы: культуральные, молекулярно-генетические, хроматография и ЭПР-, ЯМР-спектроскопия. Флуоресцентная спектроскопия является одной из перспективных методик бесконтактных исследований микроорганизмов. Вхатта Флуоресценция используется для мониторинга биохимических и физиологических процессов, для обнаружения биогенных флуорофоров без применения красителей, дифференцировки микробных систем, регистрации стрессовых реакций клеток микроорганизмов (Вх, Асс, Под). Флуоресцентные измерения, проведенные на грибных структурах, могут быть полезны для оценки грибной биомассы, эндо- и экзометаболитов и связанной с ними вирулентности.

Цель работы заключалась в выявлении особенностей метаболизма мицелиальной культуры антагониста фитопатогенов *Trichoderma harzianum* при раз-

* elenfedoseeva@gmail.com

† spatsaeva@mail.ru

‡ veraterekhova@gmail.com

§ © Федосеева Е.В., Пацаева С.В., Хунджуа Д.А., Терехова В.А., 2021

витии в водной среде методами прикладной спектроскопии. Для изучения механизмов действия тяжелых металлов на клетки микроорганизмов интересно применение флуоресценции грибных флуорофоров: белковой природы, меланинов, NAD(P)H и флавинов (Ass, Pan). Исследования проводили на грибной культуре *Trichoderma harzianum* Rifai (из коллекции кафедры биологии почв факультета почвоведения МГУ). Гриб выращивали при 22 °С на жидкой среде Чапека. Перед спектральными измерениями культуральную жидкость декантировали и фильтровали через бумажные фильтры «белая лента» для удаления частиц мицелия. Соли цинка и меди в дозах по 10 ПДК каждого металла (ПДК для вод водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового назначения) вносили в жидкую среду Чапека непосредственно перед посевом грибных культур. Спектры излучения флуоресценции измеряли с помощью люминесцентного спектрометра Solar CM2203 на нескольких длинах волн возбуждающего излучения (280, 310, 370 нм). Для построения трехмерных спектров флуоресценции (EEM spectral images) были измерены спектры эмиссии при возбуждении длинами волн с шагом 10 нм в диапазоне от 250 до 650 нм.

Типичные спектры флуоресценции всех культуральных жидкостей исследованных грибов при возбуждении длинами волн 250-290 нм состоят из трех перекрывающихся полос: УФ-полоса с максимумом при 300-350 нм, диагностируемая как флуоресценция белков; широкая полоса с максимумом при 400-500 нм, сходная с флуоресценцией НАД(Ф)Н или меланинов; и полоса с максимумом при 520-560 нм, напоминающая флуоресценцию флавиновых соединений (таблица 1 и рис. 1а). Тот факт, что длина волны излучения для возбуждения 280, 310 или 370 нм для *T. harzianum* одинакова, может указывать на присутствие NAD (P) H с более специфической структурой, чем для грибов, синтезирующих меланин (рис. 1б). Было обнаружено, что интенсивность флуоресценции белка при 350 нм, возбуждаемого при 280 нм, для *T. harzianum* хорошо коррелирует с количеством конидий, подсчитываемых под микроскопом.

Таблица 1

Диагностируемые флуорофоры гриба *Trichoderma harzianum*

Длина волны испускания λ_{em} , нм	Длина волны возбуждения λ_{ex} , нм	Группы флуорофоров	Ссылки
330-350	250-290	Белковые соединения	Peleato et al., 2017; Assawajaruwan et al., 2017
405-450	300-370	НАД(Ф)Н	Pan, 2015; Assawajaruwan et al., 2017
510-530	250-470	Флавины и флавопротеины	Pan, 2015; Assawajaruwan et al., 2017

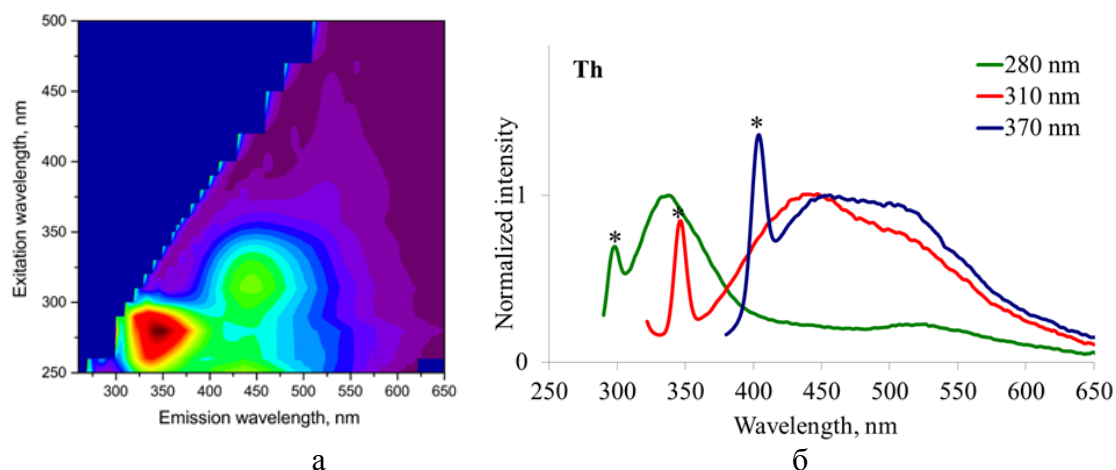


Рис. 1. а) Матрица возбуждения-излучения (Excitation-emission matrix – EEM) *Trichoderma harzianum*; б) Спектры излучения флуоресценции образцов *Trichoderma harzianum* (Th), выращенных на жидкой среде. Спектры излучения флуоресценции измеряли при возбуждении при 280, 310 или 370 нм, а затем нормировали по интенсивности излучения в максимуме. Звездочкой указано положение полосы комбинационного рассеяния света на воде

Результаты измерений флуоресценции показали, что присутствие цинка и меди оказывало угнетающий эффект на прирост биомассы гриба. Это выразилось в изменении интенсивности белковой флуоресценции, а именно УФ-полосы с максимумом испускания при 300-350 нм. Медь активно снижает интенсивность белковой флуоресценции *T. harzianum*. Степень снижения прироста биомассы и интенсивности белковой флуоресценции зависит от физиологического состояния грибных культур.

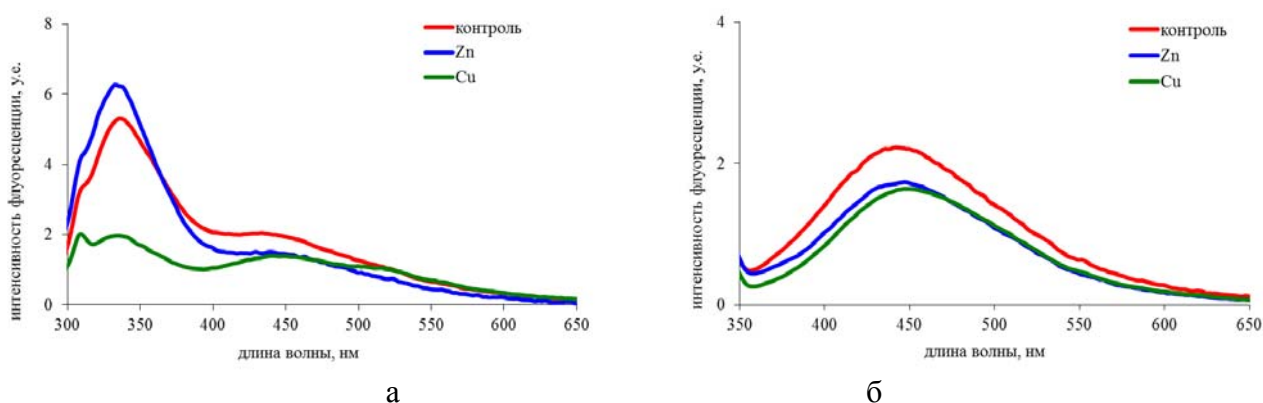


Рис. 2. Спектры испускания флуоресценции *Trichoderma harzianum*, культивируемой на жидких средах с внесением тяжелых металлов, при возбуждении на 280 нм (а) и 310 нм (б)

Таким образом, с помощью флуоресцентной спектроскопии выявлены особенности метаболизма мицелиальной грибной культуры. При определенных условиях в присутствии тяжелых металлов в водной среде выявлены изменения в спектрах белков и флуорофоров.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта (грантов) РФФИ № 19-05-00056 (спектральные измерения).

Список литературы

1. Assawajaruwan S. On-line monitoring of relevant fluorophores of yeast cultivations due to glucose addition during the diauxic growth / S. Assawajaruwan, P. Eckard, B. Hitzmann // *Process Biochemistry*. 2017. № 58. P.51-59.
2. Bhatta H. Use of fluorescence spectroscopy to differentiate yeast and bacterial cells / H. Bhatta, E.M. Goldys, R.P. Learmonth // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2006. № 71. P.121–126.
3. Harding M.W. Can filamentous fungi form biofilms? / M.W. Harding, L. Marques, R.J. Howard, M.E. Olson // *Trends in Microbiology*. 2009. V.17, № 11. P.475-480.
4. Pan, 2015
5. Peleato, Legge, and Andrews 2017;
6. Podrazky O. Monitoring the growth and stress responses of yeast cells by two-dimensional fluorescence spectroscopy: first results / O. Podrazky, G. Kuncova, A. Krasowska, K. Sigler // *Folia Microbiologica*. 2003. № 48. P.189–192.
7. Терехова В.А. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. – М.:Наука, 2007. – 215 с.
8. Hawksworth, 2001;
9. Grinhut et al., 2007
10. Kanzler et al., 2007

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПРИ ОБЛУЧЕНИИ «IN VIVO» И «IN VITRO» В ДОЗЕ 1,5 МГР

А.С. Федотова^{1*}, Г.В. Макарская², С.В. Тарских^{3†}

¹*ФГБОУ ВО Красноярский государственный аграрный университет*

Красноярск, Россия

²*Институт вычислительного моделирования –
обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН,*

Красноярск, Россия

³*ФИЦ КНЦ СО РАН,*

Красноярск, Россия

В настоящее время существуют различные позиции ученых по оценке влияния малых доз ионизирующего излучения на организм животных. По данным научного комитета по атомной энергии при ООН к малым дозам ионизирующего излучения относят дозы менее 250 мГр [1]. Существует концепция беспорогового действия радиации, сущность которой заключается в том, что радиация в любой дозе, отличной от нуля, приводит к росту числа злокачественных новообразований и генетических нарушений. Некоторые ученые указывают на отсутствие, какого либо, влияния малых доз на здоровье, продуктивность животных. Ряд ученых считают, что биота в процессе эволюции адаптируется и ионизирующее излучение в малых дозах оказывает стимулирующее действие на организм. С 1980 г. существует термин радиационный гормезис – благоприятное воздействие малых доз облучения на организм.

В оценке малых уровней ионизирующих излучений необходимы экспериментальные исследования и развитие теоретических представлений о механизмах действия малых доз радиации на всех уровнях организации организма.

Установлено, что процессы генерации активных форм кислорода (АФК) клетками организма являются чувствительными к воздействию даже слабых доз ионизирующего излучения [2, 3]. Высокочувствительные хемилюминесцентные методы адекватно отражают состояние свободнорадикальных процессов [4], это позволяет выявить их незначительные изменения при различных физиологических состояниях. В настоящее время хемилюминесцентные методы широко используются для мониторинга антиоксидантных и прооксидантных свойств биологических систем [4, 5]. Существуют работы по оценке степени воздействия малых доз облучения на кинетику генерации свободных форм кислорода в периферической крови овец [6]. Работы по сравнению хемилюминесцентной кинетики генерации АФК клетками периферической крови при действии малых доз радиации при воздействии малых доз облучения «in vivo» и «in vitro» отсутствуют.

* krasfas@mail.ru

† © Федотова А.С., Макарская Г.В., Тарских С.В., 2021

Цель работы – оценка степени корреляционной зависимости между кинетикой продукции АФК в периферической крови сельскохозяйственных животных, при поглощенной дозе 1,5 мГр «in vivo» и «in vitro».

Материалом для исследований являлась периферическая кровь молочных коров, содержащихся на территории с повышенным радиационным фоном за счет увеличения концентрации техногенных радионуклидов в объектах окружающей среды, облучение «in vivo», поглощенная доза составила 1,55 мГр/год. Для облучения «in vitro» в дозе 1,5 мГр, обирались пробы крови у коров, содержащихся под воздействием естественного облучения, характерного для Красноярского края (доза 0,93 мГр/год). Облучение проб крови «in vitro» осуществляли на установке «УПО-Интер», укомплектованной источником Cs-137. Оценку кинетики генерации активных форм кислорода выполняли хемилюминесцентным методом по В.М. Земскову с соавторами [7] в модификации Г.В. Макарской с соавторами [8]. Хемилюминесцентный анализ выполняли на 36-канальном аппаратурно-программном комплексе «Хемилюминометр 3604 – ПЭВМ». Статистическая обработка цифрового материала, проведена методом вариационной статистики с помощью прикладных программ Microsoft Office Excel 2007. Корреляционную зависимость устанавливали по величине достоверности аппроксимации в программе Microsoft Office Excel 2007 Различия параметров ХЛ считали достоверными при $P \leq 0,05$.

В результате хемилюминесцентного анализа установлено что суммарное количество первичных и вторичных радикалов при облучении «in vivo», спонтанно генерирующихся в крови, достоверно не отличалось от количества АФК, генерирующихся при облучении «in vitro» (рис 1). При инициации фагоцитарной активности клеток крови введением частиц латекса суммарная продукция АФК во всех пробах увеличивалась, наиболее ярко этот процесс проходит в пробах венозной крови при облучении «in vitro».

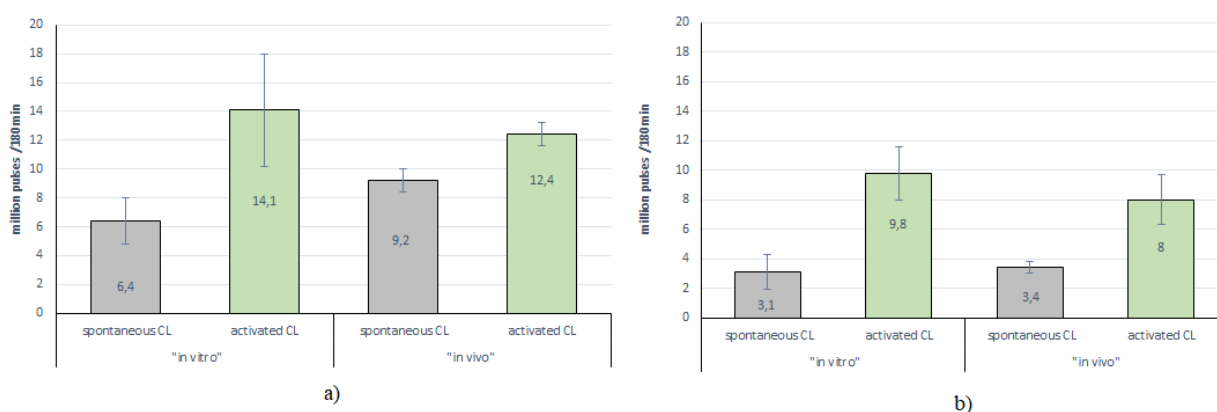


Рис. 1. Светосумма первичных (а), вторичных (б) радикалов кислорода при спонтанной и антигенактивированной хемилюминесценции

В результате биометрической обработки данных с использованием статистического пакета программы Excel установлена тесная линейная корреляцион-

ная связь между спонтанной ($r = 0,93$) и активированной ($r = 0,98$) генерацией первичных радикалов в венозной крови коров при облучении «in vivo» в дозе 1,5 мГр/год и облучением «in vitro» в дозе 1,5 мГр.

Установлена умеренная ($r = 0,76$) линейная корреляционная связь между спонтанной генерацией вторичных радикалов в венозной крови коров при облучении «in vivo» в дозе 1,5 мГр/год и облучением «in vitro» в дозе 1,5 мГр. Выявлена тесная корреляционная связь ($r = 0,97$) между активированной генерацией вторичных радикалов в венозной крови коров при облучении «in vivo» в дозе 1,5 мГр/год и облучением «in vitro» в дозе 1,5 мГр.

В результате работы установлено что кинетика генерации первичных и вторичных радикалов в пробах в периферической крови крупного рогатого скота, при воздействии малых доз облучения 1,5 мГр/год и облучении «in vitro» 1,5 мГр идентична. В клетках периферической крови развивается одинаковый кислородный эффект. Идентичное течение процесса генерации АФК, одинаковое их количество, позволяет проводить экстраполяцию данных кинетики генерации АФК при облучении крови «in vitro» в малых дозах на кинетику образования АФК в крови животных при облучении в диапазоне малых доз. Наличие корреляционной связи между генерацией АФК в периферической крови при облучении «in vivo» в дозе 1,5 мГр/год и облучением «in vitro» в дозе 1,5 мГр, дает возможность использовать облучение образцов крови «in vitro» в качестве модели естественных процессов.

Список литературы

1. Ионизирующее излучение: источники и биологические эффекты: доклад на Генеральной Ассамблее ООН. – 1988. – Т1.- 882с.
2. Protas A F 1996 The activity of antioxidant enzymes and the level of free radical processes in neurons nucleus of cells under low radiation doses. *Bio polymers and a cell* Vol.12 (3) 47-53
3. Alesina M U 1999 The formation of radio biological effects under chronic internal and external radiation in low doses of experimental animals. *International magazine of radiation medicine* 2 92-99
4. Vladimirov U A, Proskurina E V 2009 Free radicals and cell chemiluminescence. *The success of biological chemistry* Vol. 49 341-388 p
5. Sozarukova M.M., Polimova A.M., Proskurina E.V., Vladimirov U.A. 2016 The changes in the kinetics of chemiluminescent plasma as an action of system oxidation stress. *Biophysics* Vol.61 (2) 337-344 p
6. Fedotova A S, Makarskaya G V, Tarskikh S V, Turitcyna E G and Kolesnikov V A. An impact of low doses radiation on the kinetics of reactive oxygen species generation in sheep peripheral blood. 2019 IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 412 052016.
7. Zemskov V.M 1988 The studying of functional condition of human phagocytes (oxygen metabolism and cells mobility): method. recommendations M.: *The institute of Immunology* M3 USSR 20p

8. *Еремина И.Ю., Макарская Г.В., Тарских С.В.* Возрастные особенности кислородного метаболизма клеток крови крупного рогатого скота //Вестник КрасГАУ – 2010. – вып. 11. – С.128-135.

МАГНИТНЫЕ ПОКРЫТИЯ ПЕРЕХОДНЫХ МЕТАЛЛОВ, СИНТЕЗИРОВАННЫЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АРАБИНОГАЛАКТАНА

Е.В. Черемискина^{1*}, Р.Н. Ярославцев^{1,2}, С.В. Столяр^{1,2},
Л.А. Чеканова², И.Г. Важенина², Р.С. Исаков^{2†}

¹ Красноярский научный центр СО РАН,
Красноярск, Россия

² Институт физики им. Л.В. Киренского ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия

Метод химического осаждения является наиболее простым и экономичным способом нанесения металлических покрытий. Эти покрытия демонстрируют высокую твердость и коррозионную стойкость [1-2]. Процесс химического осаждения является автокаталитическим, восстановление металлических ионов в растворе осуществляется за счет окисления восстанавливающего агента. В данной работе при получении ферромагнитных металлических покрытий 3-d металлов в качестве восстановителя использовали полисахарид арабиногалактан.

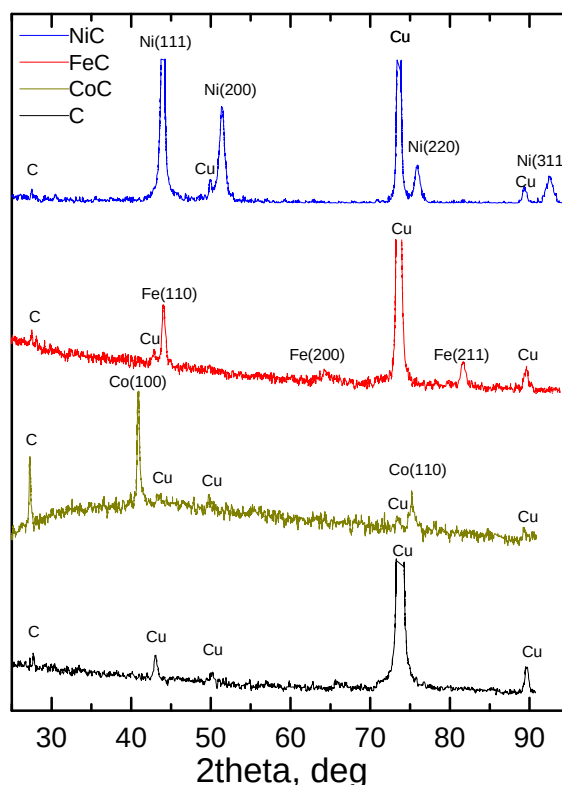


Рис. 1. Рентгенограммы покрытий Fe-C, Co-C, Ni-C на медной подложке, а также медной фольги после обработки в щелочном растворе арабиногалактана

* elenacheremiskina@yandex.ru

† © Черемискина Е.В., Ярославцев Р.Н., Столяр С.В., Чеканова Л.А., Важенина И.Г., Исаков Р.С., 2021

Для получения ферромагнитных покрытий использовались водные растворы сульфата кобальта, никеля и железа. В качестве восстановителя использовали арабиногалактан, выделенный из лиственницы. Цитрат натрия и ЭДТА использовали в качестве комплексообразователя и стабилизатора. Осаждение проводили при температуре 80 °С. Образцы исследовались методами электронной микроскопии, ферромагнитного резонанса, рентгеновской дифракции и магнитометрии. Исследования проводились на оборудовании центра коллективного пользования Красноярского научного центра СО РАН.

На рисунке 1 представлены рентгенограммы и их расшифровки полученных образцов: Ni-C, Fe-C, Co-C. На рентгенограммах присутствуют как отражения, соответствующие ферромагнитным металлам (ГЦК-Ni, ГПУ-Co, ОЦК-Fe), так и отражения, соответствующие медной подложке. Результаты рентгенофазового анализа позволили определить постоянную решетки изучаемых сплавов. Полученные значения соответствуют табличным для чистых Ni, Fe, Co, свидетельствуя о отсутствии углерода в кристаллической решетке металла. Отражений, характерных для карбидов 3-d металлов не обнаружено. На рентгенограммах наряду с отражениями от плоскостей металлов регистрировались отражения малой интенсивности при $2\Theta=27^\circ$ (смотри рис. 1). Данное отражение обусловлено отражениями от плотноупакованных плоскостей графитовой фазы. Это свидетельствует о том, что углерод осаждается в виде графита.

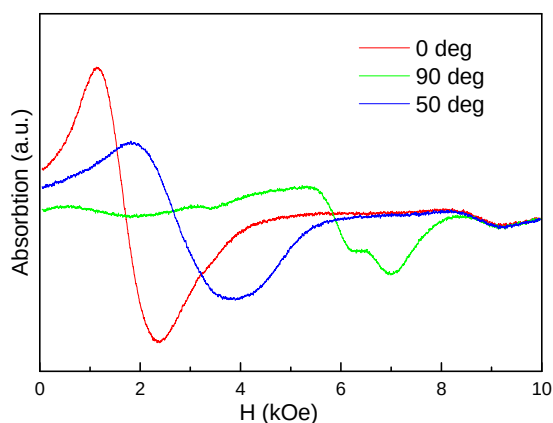


Рис. 2. Спектры ферромагнитного резонанса покрытия Ni

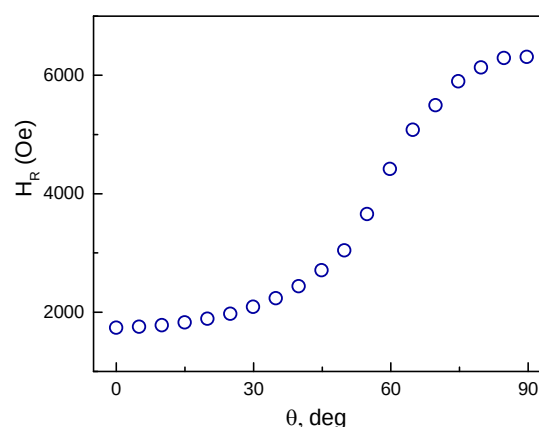


Рис. 3. Угловая зависимость резонансного поля ФМР

Для выявления морфологических особенностей покрытий, и изучения их магнитных свойств был использован метод ферромагнитного резонанса. На рис. 3 представлена зависимость резонансного поля ФМР от угла между направлением приложенного магнитного поля и плоскостью металлического покрытия Ni (угол изменяется от 0° – поле приложено в плоскости покрытия до 90° – поле приложено вдоль нормали к плоскости). Угловая зависимость является характерной для планарного магнитного покрытия. Резонансное поле при параллельной ориентации составило 1700 Э, а при перпендикулярной ориентации 6300 Э.

Список литературы

1. J. Sudagar, J. Lian, W. Sha, J. Alloys Compd. 571 (2013) 183–204.
2. R.C. Agarwala, V. Agarwala, Sadhana. 28 (2003) 475–493.

МАТЕРИАЛЫ К ОЦЕНКЕ СПОСОБНОСТИ К САМООЧИЩЕНИЮ АНТРОПОГЕННО НАРУШЕННЫХ УЧАСТКОВ РЕК ХМАО–ЮГРЫ

Е.А. Шорникова^{1*}, М.М. Арсланова^{2†}

¹*Сургутский государственный университет,*

Сургут, Россия

²*ПАО «Сургутнефтегаз»,*

Сургут, Россия

Речная сеть Ханты-Мансийского автономного округа – Югры представлена водотоками бассейна Средней и Нижней Оби. Равнинный характер территории, незначительные уклоны, слабый дренаж, обилие осадков и неглубокое залегание от поверхности водоупорных пород обуславливают наличие большого количества озер и чрезвычайную заболоченность водосборов [1-3]. Широкое распространение болот и торфяно-болотных озер на водоразделах формирует особый гидрохимический тип таежных рек с преобладанием в составе главных ионов гидрокарбонатов и кальция, высоким содержанием аллохтонной органики, высокой цветностью, кислыми значениями pH [4].

Интенсивная антропогенная трансформация площадей водосборов обусловлена прогрессирующими темпами освоения нефтегазовых месторождений Западно-Сибирской нефтегазоносной провинции. В Югре осуществляют производственную деятельность крупнейшие производители углеводородного сырья «Сургутнефтегаз», «Роснефть», «Лукойл», «Салым Петролеум Девелопмент Н.В.» и др. в результате в регионе сформировалась высокая плотность техногенных объектов, представленных кустовыми площадками скважин, шламовыми амбарами, нефте- и газопроводами и прочей индустриальной инфраструктурой [5]. в сочетании с экстремальными природно-климатическими факторами (длительный ледостав, низкая температура воды, большую часть года препятствующая протеканию процессов самоочищения, дефицит растворенного кислорода) в водотоках происходит накопление органических соединений как автохтонной, так и аллохтонной природы, в том числе техногенного происхождения [6].

В последние годы внимание исследователей сосредоточено на процессах биodeградации нефтяных углеводородов, поступающих в ландшафты как в результате аварийных ситуаций на нефтепромыслах, так и в штатном режиме эксплуатации объектов нефтегазодобычи [7-8]. Сложность таких исследований заключается, прежде всего, в невозможности осуществлять эксперимент непосредственно на нарушенных водных объектах вследствие их труднодоступности и удаленности, а также неблагоприятного режима экологических факторов большую часть года. Лабораторные или пилотные эксперименты не всегда способны воссоздать сочетание всех факторов и условий, которые формируются в

* shornikova_ea@surgu.ru

† © Шорникова Е.А., Арсланова М.М., 2021

природных экосистемах. На сегодняшний день на рынке представлены многочисленные технологии, предназначенные для восстановления и рекультивации нефтезагрязненных территорий и акваторий, однако их использование на севере Западной Сибири ограничено, так как в суровых климатических условиях они оказываются недостаточно эффективными.

К тому же при внесении углеводородокисляющей микрофлоры в акваландшафты следует учитывать исходную структуру микробного сообщества и собственный потенциал водного объекта к самоочищению.

Результаты многолетних исследований структуры микробного сообщества водных объектов ХМАО–Югры в границах лицензионных участках нефтегазовых месторождений были опубликованы ранее [9-10].

Для оценки способности водотоков к самоочищению был использован коэффициент минерализации K_m , который рассчитывается по соотношению значений численности бактерий, потребляющих аммонийный азот и полимерные субстраты (БПН), и сапрофитных гетеротрофных бактерий (СБ) [11]:

$$K_m = N_{\text{БПН}} / N_{\text{СБ}},$$

где N_i – численность бактерий соответствующей эколого-трофической группы.

В таблице представлены значения коэффициентов минерализации, полученные для водотоков в границах лицензионных участков нефтегазовых месторождений Сургутского и Октябрьского районов ХМАО–Югры в период полуводья 2003-2006 и 2018-2019 гг.

Таблица

Коэффициенты минерализации органических веществ

2003-2006 гг.		2018-2019 гг.	
Водоток	K_m	Водоток	K_m
р. Малая Моховая	0	р. Вынга	0
р. Калинина	0	р. Быстрый Кульеган	0
пр. Глухая	0	р. Минчимкина	0
р. Большой Юган	0	р. Тапъяун	0
р. Ик-Ях	0,15	р. Комарья	0
р. Пим	0,22	р. Пим	0
р. Почекуйка	0,25	р. Кавык	0
р. Аношкина	0,28	р. Якъявин	0,08
р. Почекуйка	0,37	р. Вирсиявин	0,10
р. Кемчаяха	0,63	р. Курнисоим	0,11
р. Сортымъеган	0,71	р. Малый Атлым	0,21
р. Большая Моховая	0,78	р. Обь	0,22

2003-2006 гг.		2018-2019 гг.	
Водоток	K_m	Водоток	K_m
р. Сортымъеган	0,89	р. Большая Леушинская	0,35
р. Ик-Ях	0,89	р. Хомпа	0,82
р. Пим	0,92	р. Большая Карымкарская	0,87
р. Пим	1,13	р. Малая Карымкарская	1,71
р. Быстрый Кульеган	1,40	р. Малая Леушинская	2,10
р. Минчимкина	2,07	р. Большой Охтач	2,10
р. Большая Моховая	2,35	р. Овыньеган	16,40
р. Ай-Пим	15,50		

Таким образом, в периоды 2003-2006 и 2018-2019 гг. нами были получены близкие результаты коэффициентов самоочищения водотоков в границах территорий нефтедобычи. Так, в 2003-2006 гг. низким потенциалом к самоочищению с коэффициентом минерализации менее 1 характеризовалось 75 % исследованных участков рек, в том числе в 25 % проб нитрифицирующая микрофлора отсутствовала. В 2018-2019 гг. 79 % водотоков продемонстрировали низкую интенсивность процессов самоочищения, доля проб, в которых нитрифицирующие бактерии не были выявлены, составила 37 %. Это свидетельствует о накоплении в водотоках трудно минерализуемых промежуточных продуктов деструкции органического вещества [6].

Высокая численность бактерий группы БПН (и, значит, высокие значения K_m) свидетельствуют о значительном содержании полуразложившихся органических субстратов, вовлеченных в процесс аммонификации. Такой результат был получен для пяти рек в оба периода исследований, с наибольшим значением K_m в пробах р. Ай-Пим (Сургутский район) и р. Овыньеган (Октябрьский район). Это может быть обусловлено сформировавшимся гидрохимическим режимом рек, на фоне которого в отсутствие аварийных ситуаций на нефтепромысловых объектах деструкция органического вещества преобладает над его продукцией, что обеспечивает сохранение определенного уровня трофности водного объекта и экологического равновесия водных экосистем [12].

Список литературы

1. Ресурсы поверхностных вод СССР. Алтай и Западная Сибирь. Средняя Обь. Под ред. Н.А. Паниной. Том 15. Вып. 2. Л.: Гидрометеиздат, 1972. 45 с.
2. Физико-географическое районирование Тюменской области. Под ред. Н.А. Гвоздецкого. М.: Изд-во МГУ, 1973. 248 с.
3. Болота Западной Сибири, их строение и гидрологический режим. Под ред. К.Е. Иванова, С.М. Новикова. Л.: Гидрометеиздат, 1976. 448 с.
4. Воронков П.П. Гидрохимия местного стока Европейской территории СССР (основы гидрохимического картирования). Л.: Гидрометеиздат, 1970. 188 с.

5. Rusak S.N., Shornikova E.A., Kurilenko M.I. and Homenushko T.I. Transboundary aspects of river water pollution and water quality estimation of the Middle Ob river. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2019. Vol. 400, is. 1: 3rd International Conference of the Siberian Environmental Change Network (SecNet): Siberia in a global context. Building a large scale northern infrastructure to understand environmental change in the pan-Arctic Region and its wider impacts 2018. Salekhard, Russian Federation, September 26-30, 2018. 012018. 6 p.
6. Шорникова Е.А. Процессы самоочищения водотоков Сургутского района. Биоресурсы и природопользование в Ханты-Мансийском автономном округе: проблемы и решения: Мат. Открытой окружной конф. (2-3 июня 2006 г., г. Сургут). Сургут, 2006. С. 88-90.
7. Salmanov M.A., Talybly A.G., Gasanov G.F. Biodestruction of oil pollution in the water areas of the marine oil fields. Hydrobiological Journal. 2014. Vol. 50, № 4. P. 67-71.
8. Belovezhets L.A., Makarova L.E., Tretyakova M.S., Markova Y.A., Dudareva L.V., Semenova N.V. Possible pathways for destruction of polyaromatic hydrocarbons by some oil-degrading bacteria isolated from plant endosphere and rhizosphere. Applied Biochemistry and Microbiology. 2017. Vol. 53 № 1. P. 68-72.
9. Shornikova E.A Microbiological Indication of River Ecosystem Conditions at the Oil Fields in the Middle Ob` Area. Contemporary Problems of Ecology. 2008. Vol. 1. № 3. P. 328-334.
10. Shornikova E.A., Arslanova M.M. The experience of application of microbiological indicators in monitoring procedures of aquatic ecosystems in the Middle Ob basin. E3S Web of Conferences. 2020. Vol. 210. 07013.
11. Микроорганизмы в экосистемах Приамурья / Л.М. Кондратьева, Л.А. Гаретова, Е.Л. Имранова, О.А. Кириенко, Л.М. Чухлебowa, Е.А. Каретникова. Владивосток: Дальнаука, 2000. 198 с.
12. Шорникова Е.А. Диагностика состояния экосистем водотоков на лицензионных участках нефтяных месторождений Среднего Приобья. Электронный научный журнал «Нефтегазовое дело», 2007. http://www.ogbus.ru/authors/Shornikova/Shornikova_1.pdf

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО БИОТЕСТА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ ЛОШАДЕЙ

**В.Д. Шумихина^{1*}, О.В. Колесник²,
Л.В. Степанова¹, О.А. Коленчукова^{1,3}, В.А. Кратасюк^{1,2},
А.С. Федотова⁴, А.В. Коломейцев⁴, А.В. Макаров^{1†}**

¹ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет»,
Красноярск, Россия;

²ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр
Сибирского отделения Российской академии наук» обособленное подразделение
Институт биофизики СО РАН,
Красноярск, Россия;

³ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр
Сибирского отделения Российской академии наук» обособленное подразделение
Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера,
Красноярск, Россия;

⁴ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет»,
Красноярск, Россия.

Физиолого-клинические показатели (температура, частота пульса и дыхания) являются объективными, простыми и легкодоступными методами исследования функционального состояния спортивных лошадей как во время покоя, так в процессе и после различной по напряжению мышечной работы [1].

Однако официальные руководства (Правила по конному спорту и пособия по иппологии, выпущенные в различных странах) и руководства, выпущенные национальными федерациями конного спорта для оценки состояния спортивных лошадей после соревнований, приводят разноречивые данные о нормах клинических показателей. Это не позволяет считать их надежными для использования в практике конного спорта и требует уточнения [2].

В настоящее время является актуальной разработка и внедрение интегральных методов скрининг-тестирования спортивных лошадей. Использование неинвазивного метода, такой как тестирование слюны, с применением биосенсорной биотехнологии (биолюминесцентной ферментативной системы) [3] имеет новизну и представляет практическую значимость для конного спорта.

Цель работы: выявление возможности использования биолюминесцентного биотеста для определения физической нагрузки спортивных лошадей.

Исследована слюна спортивных лошадей тракененской породы (n=20) и рысаков (n=20) до и после тренировок с низкой, средней и тяжелой интенсивностью (февраль-июнь 2018-2021 г.г.). Перед тестированием слюну центрифугировали при частоте 5000 об/мин (центрифуга Eppendorf Centrifuge 5810 r

* shumikhina_97@mail.ru

† © Шумихина В.Д., Колесник О.В., Степанова Л.В., Коленчукова О.А., Кратасюк В.А., Федотова А.С., Коломейцев А.В., Макаров А.В., 2021

(Eppendorf, Германия)) и использовали супернатант, разбавленный в 60 раз калий-фосфатным буфером.

Концентрация лактата в образцах слюны измеряли фотометрическим методом (спектрофотометр UV-1800 (Shimadzu, Япония)), показатель кислотно-основного состояния (рН) определяли при помощи потенциометрии (рН-метр МАРК-901 (Взор, Россия)).

Функциональные показатели организма лошадей в тренинге определяли по частоте сердечных сокращений (ЧСС) и количеству дыхательных движений (КДД).

Биолюминесцентное тестирование слюны проводили на бактериальной биферной системе NADH:FMN-оксидоредуктазы+люцифераза (ИБФ СО РАН, Красноярск). В качестве интегрального показателя использовали величину остаточного свечения (Т, %), вычисляемое как отношение средних максимальных интенсивностей свечения экспериментального измерения (слюна) к контрольному измерению, умноженного на 100 %.

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 10 (StatSoft Inc., США) с подсчетом медианы (Me) и интерквартильных разбросов (C₂₅-C₇₅ перцентили). Различия между показателями зависимых переменных оценивали по непараметрическому критерию Вилкоксона, корреляционную связь – по критерию Спирмена. Уровень статистической значимости $p \leq 0,05$.

Результаты тестирования функционального состояния показали, что спортивные лошади находились в хорошей физической подготовленности. В состоянии покоя (до тренировок) ЧСС и КДД лошадей находились в норме и составляли 41,0 [30,0 – 53,1] уд/мин и 17,0 [13,5 – 35,6] дых/мин соответственно. С каждым последующим повышением интенсивности нагрузки величины ЧСС и КДД достоверно возрастали на 10 уд/мин ($p=0,004$) и 16 дых/мин ($p=0,0001$) соответственно, что свидетельствовало о преодолении физических нагрузок.

Показатель рН слюны лошадей до тренировки составлял 7,8 [7,0 – 8,0] и достоверно не изменялся после физических нагрузок. Концентрация лактата в слюне лошадей до тренировок составляла 5, [3,4 – 6,8] мг/моль и существенно не изменялась после физических нагрузок, что свидетельствовало о насыщении организма кислородом во время тренинга. Компенсация лактацитоза не вызывало нарушение кислотно-щелочного баланса в слюне. Также выявлено, что показатель рН коррелировал с повышением КДД ($r=-0,7$). Следовательно, спортивные лошади имели хорошую физическую подготовленность.

Результаты биолюминесцентного тестирования показали, что наибольшее ингибирование свечения оказывала слюна после физической нагрузки низкой или средней интенсивности (рис. 1). Выявлено достоверное снижение величины остаточного свечения для низкой или средней интенсивности по отношению к показателю до тренировки ($p=0,04$), но нет достоверного различия между величинами остаточного свечения для низкой и средней интенсивностей. При высокой интенсивности величина остаточного свечения сопоставима с показателем до тренировки и коррелировала с повышением ЧСС после тренировки ($r=-0,6$).

Ингибирование биolumинесцентного свечения слюной лошадей после нагрузок низкой и средней интенсивности не может быть обусловлено изменением рН слюны, т.к. показатели рН слюны и биolumинесцентной тест-системы были сопоставимы или изменением лактата в слюне, т.к. его содержание не изменялось с повышением интенсивности нагрузок.

Влияние других биохимических показателей слюны на биolumинесцентного свечение, такого как каталаза, содержание которой быстро изменяется при физических нагрузках, планируется проанализировать в дальнейших исследованиях.

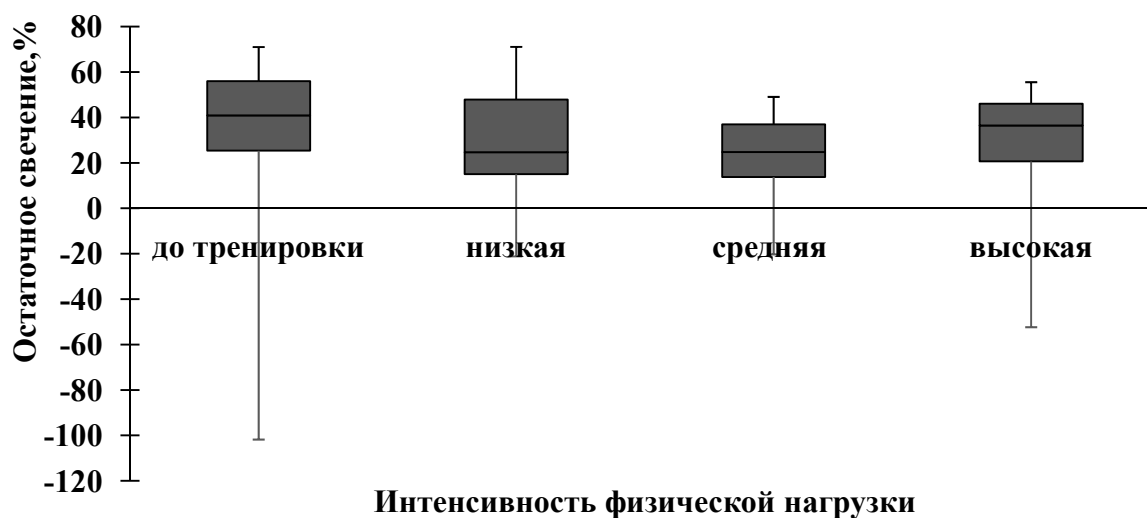


Рис. 1. Изменение остаточного свечения биolumинесцентного биотеста при тестировании слюны лошадей после физических нагрузок разной интенсивности

Выводы

1. По величине ингибирования биolumинесцентного свечения слюной спортивных лошадей можно выявить действующую физическую нагрузку, но без определения ее интенсивности.
2. На чувствительность биolumинесцентного биотеста не влияло изменения рН слюны и содержание в ней лактата после физических нагрузок.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Красноярского краевого фонда науки в рамках научного проекта № 19-416-240001.

Список литературы

1. Кабасова И. А., Петрушко Н. П. Оценка функционального состояния и степени тренированности спортивных лошадей при применении различных систем тренинга. Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. 2018. Том 21, № 2. С. 306-312.

2. Costa E. D., Dai F., Lebelt D., Scholz P., Barbieri S., Canali E., Zanella A. J., Minero M. Welfare assessment of horses: The AWIN approach. *Animal welfare*. 2016. Vol. 25, № 4. P. 481-488.

3. Kratasyuk V., Esimbekova E. Applications of luminous bacteria enzymes in toxicology. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*. 2015. Vol.18, № 10. P. 952–959.

БИОТЕСТИРОВАНИЕ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ КОМПЛЕКСОВ В ВОДНОЙ И ПОЧВЕННОЙ СРЕДЕ

О.С. Якименко^{1*}, В.А. Терехова^{1,2},
А.Р. Зиганшина¹, И.Г. Панова^{3†}

¹Факультет почвоведения МГУ имени М.В.Ломоносова,
Москва, Россия,

²Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН,
Москва, Россия

³Химический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова,
Москва, Россия

В настоящее время разработаны и апробируются разнообразные структурообразователи для почв и грунтов на основе коммерчески доступных синтетических и природных полимеров [1, 2]. При обработке почвы полимерной рецептурой на ее поверхности образуется почвенно-полимерный композит, устойчивый к ветровой и водной эрозии и, в то же время, проницаемый для воздуха и влаги и не препятствующий росту растительности. Влияние различных полиэлектролитов (ПЭ) на водно-физические свойства почвы в настоящее время довольно широко изучается [3,4]. Однако, экологическая безопасность таких рецептур практически не исследована. Имеются данные об антимикробной и фунгицидной активности катионных ПЭ, что вызывает определенные опасения и вносит ограничения для их использования для нужд сельского хозяйства и в природоохранных технологиях. Цель исследования – изучить влияние трёх видов полиэлектролитов: поликатиона полидиаллилдиметиламмоний хлорида (ПДАДМАХ); анионного биополимера лигногумата (ЛГ), стимулятора роста растений на гуминовой основе и положительно заряженного поликомплекса (ИПЭК), полученного смешением ПДАДМАХ и ЛГ, на экотоксичность почв в модельных экспериментах. В серии биотестов определяли экотоксичность ПЭ по отношению к тест-культурам разной таксономической принадлежности как при непосредственном воздействии, так и после взаимодействия с почвой.

Токсичность оценивали с использованием набора стандартных тест-культур: биолюминесцентного штамма бактерий *Escherichia coli*, инфузорий *Paramecium caudatum*, половых клеток млекопитающих (сперматозоиды быка *in vitro*) и трех видов высших растений *Sinapis alba*, *Raphanus sativum* и *Triticum durum*. Отклики тест-культур оценивали (1) в водной матрице при непосредственном контакте тест-культур с ПЭ и (2) после взаимодействия полимера с почвенной матрицей (пахотный горизонт каштановой почвы). Для оценки непосредственного воздействия ПЭ на тест культуры, ПЭ вводили в культуральную среду в диапазоне концентраций $0.5 - 5.0 \times 10^4$ мг/л и оценивали токсичность с применением соответствующих протоколов.

* iakim@soil.msu.ru

† © Якименко О.С., Терехова В.А., Зиганшина А.Р., Панова И.Г., 2021

Экотоксичность ПЭ после взаимодействия с почвой оценивали в почвенных вытяжках (элюатное тестирование) и непосредственно в смесях почва-ПЭ (аппликатный метод). Вытяжки (1:4) готовили из модельных смесей почва-ПЭ, имитирующих состав почвенно-полимерного композита и содержащих 1, 2 и 4 г ПЭ/кг почвы. Биотестирование проводили в отношении бактерий, половых клеток млекопитающих и высших растений. В тех же смесях оценивали хроническую фитотоксичность аппликатным методом.

При непосредственном контакте в водной матрице ПДАДМАХ и ИПЭК были высокотоксичны для бактерий и инфузорий во всех испытанных концентрациях и менее токсичны для клеток млекопитающих. Высшие растения были менее чувствительны к полимерам с прогрессивным снижением токсичности в ряду ПДАДМАХ > ИПЭК > ЛГ. В целом токсичность катионных полимеров в водных растворах снижалась в зависимости от сложности организменной структуры биосенсора в ряду бактерии > инфузории > клетки млекопитающих *in vitro* > высшие растения.

После взаимодействия с почвой токсичность ПДАДМАХ и ИПЭК значительно снизилась. Вытяжки из почвы с внесёнными ПЭ в дозах 2 и 4 г/кг не оказывали негативного влияния на бактерии и проростки редиса (Таблица 1).

Таблица 1

**Результаты биотестирования вытяжек
из каштановой почвы с внесением ПДАДМАХ и ИПЭК**

Вариант	ПЭ, г/кг	Результаты биотестирования					
		Бактерии, It (%)	Заключение	Клетки тепло- кровных, It (%)	Заклучение	Редис, It (%)	Заклучение
Контроль	0	0	нетоксично	108,3	нетоксично	0,00	нетоксично
ПДАДМАХ	2	0	нетоксично	102,1	нетоксично	0,00	нетоксично
	4	0	нетоксично	147,5	токсично	4,20	нетоксично
ИПЭК	2	5,99	нетоксично	116,7	нетоксично	0,00	нетоксично
	4	0	нетоксично	110,4	нетоксично	0,00	нетоксично

В хроническом фитотесте при проращивании растений непосредственно на смесях почва-ПЭ также не выявлено статистически значимого влияния обоих полимеров на длину побегов, которая варьировала в пределах 80-120 % относительно контроля. ИПЭК и ПДАДМАХ при внесении в почву в количестве 1-4 % от массы почвы не оказывали значимых эффектов на ранних стадиях онтогенеза растений горчицы.

Выводы. В водной матрице при непосредственном контакте с тест-культурами катионные полимеры ПДАДМАХ и ИПЭК показали высокую токсичность по отношению к бактериям и инфузориям во всех испытанных концентрациях, но меньшую токсичность для клеток млекопитающих *in vitro*. Анионный ЛГ не токсичен или слабо токсичен для одноклеточных микроорганизмов. Выс-

шие растения были более устойчивы к катионным полимерам; обусловленная полимерами токсичность снижалась в ряду ПДАДМАХ > ИПЭК > ЛГ.

В элюатах из почвенно-полимерных смесей токсичность наблюдалась только для культур бактерий, но не в тестах на цитотоксичность и фитотоксичность.

При аппликатном тестировании почвенно-полимерных смесей ПДАДМАХ и ИПЭК не показали значительных токсических эффектов на ранних этапах онтогенеза растений. Причем стимулирующий эффект на рост растений наблюдался при прорастании семян под полимерно-почвенной коркой, скорее всего, за счет улучшения гидрофизических свойств почвы.

Таким образом, в экологически значимых концентрациях полимера, обычно используемых для образования противоэрозионной полимерно-почвенной пленки, никаких токсических эффектов в фитотестах не зарегистрировано. Токсичность ПДАДМАХ и ИПЭК в водном растворе снижалась от более просто устроенных тест-культур – бактерий и инфузорий к более сложным – клеткам млекопитающих и высшим растениям. Катионные полимеры, внесенные в почвенную матрицу, связываются с органическими и минеральными компонентами почвы, что снижает токсичность поликатиона.

Благодарности. Исследование выполнено при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова «Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды». Почвенные анализы выполнены по госзаданию № 121040800154-8.

Список литературы

1. Zezin, A. B., Mikheikin, S. V., Rogacheva, V. B., Zansokhova, M. F., Sybachin, A. V., Yaroslavov, A. A. Polymeric stabilizers for protection of soil and ground against wind and water erosion. *Advances in colloid and interface science*. 2015. Vol. 226. P. 17-23.
2. Panova, I. G., Demidov, V. V., Shulga, P. S., Ilyasov, L. O., Butilkina, M. A., Yaroslavov, A. A. Interpolyelectrolyte complexes as effective structure-forming agents for Chernozem soil. *Land Degradation & Development*, 2021. Vol. 32. № 2. P. 1022-1033.
3. Панова И. Г., Хайдапова, Д. Д., Ильясов, Л. О., Киушов, А. А., Умарова, А. Б., Сыбачин, А. В., Ярославов, А. А. Полиэлектrolитные комплексы гуматов калия и поли (диаллилдиметиламмоний хлорида) для закрепления песчаного грунта. *Высокомолекулярные соединения. Серия Б*. 2019. Т. 61. № 6. С. 411-416.
4. Демидов В. В., Панова, И. Г., Шульга, П. С., Ильясов, Л. О., Ярославов, А. А.. Противоэрозионные свойства чернозема, обработанного полиэлектролитными комплексами на основе гуматов калия // *Фундаментальные концепции физики почв: развитие, современные приложения и перспективы*. 2019. С. 503-507.