

Научный журнал

Основан в 2010 г.
Выходит 6 раз в год

Учредитель
Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки
Федеральный исследовательский центр
«Коми научный центр УрО РАН»

ИЗВЕСТИЯ

КОМИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА
УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

№ 5 (51) Серия «ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЯ» 2021

Главный редактор:

академик *А.М. Асхабов*

Зам. главного редактора – чл.-корр. РАН *В.Н. Лаженцев*

Ответственный секретарь – к.х.н. *А.Я. Полле*

Редакционная коллегия серии «Экспериментальная биология и экология»:

чл.-корр. РАН *В.Н. Анисимов*, чл.-корр. РАН *И.Н. Болотов*, д.б.н. *М.Ф. Борисенков*,
д.б.н. *С.А. Гераскин*, д.м.н. *А.Н. Гребенюк*, д.б.н. *А.В. Грибанов*, д.б.н. *Т.К. Головкин*,
д.б.н. *О.В. Ермакова*, д.б.н. *В.Г. Зайнуллин*, д.б.н. *Н.Г. Колосова*, д.б.н. *А.Г. Кудяшева*,
д.б.н. *Ф.В. Минибаева*, д.б.н. *Л.В. Морозова*,
чл.-корр. РАН *А.А. Москалев* (ответственный редактор серии), д.б.н. *А.Н. Осипов*,
д.б.н. *Е.Г. Пасюкова*, д.б.н. *В.Н. Позолотина*, д.б.н. *В.Н. Попов*, д.б.н. *С.В. Попов*,
д.б.н. *Е.А. Пряхин*, д.б.н. *А.В. Рубанович*, д.б.н. *Л.В. Соколова*, д.техн.н. *Д.А. Субетто*,
д.б.н. *А.В. Трапезников*, д.б.н. *Р.Г. Фархутдинов*, д.б.н. *Б.Ю. Филиппов*,
д.б.н. *Е.К. Хлесткина*, д.б.н. *Л.С. Щеголева*

Редакционный совет:

акад. *В.В. Алексеев*, чл.-корр. РАН *В.Н. Анфилов*,
чл.-корр. РАН *А.А. Барях*, д.м.н. *Е.Р. Бойко*, акад. *В.И. Бердышев*, акад. *В.Н. Большаков*,
д.э.н. *Н.М. Большаков*, проф. *Т.М. Бречко*, д.б.н. *М.В. Гецен*, акад. *А.Д. Гвишиани*,
д.б.н. *С.В. Дёгтева*, д.э.н. *В.А. Ильин*, акад. *В.А. Коротеев*, чл.-корр. РАН *С.В. Кривовичев*,
чл.-корр. РАН *А.В. Кучин*, чл.-корр. РАН *Ю.Б. Марин*, акад. *В.П. Матвеев*, акад. *Г.А. Месяц*,
к.г.-м.н. *А.М. Плякин*, чл.-корр. РАН *В.Н. Пучков*, чл.-корр. РАН *И.М. Рощевская*,
акад. *М.П. Рощевский*, д.х.н. *С.А. Рубцова*, д.и.н. *Э.А. Савельева*, чл.-корр. РАН *А.Ф. Титов*,
акад. *В.Н. Чарушин*, д.техн.н. *Ю.Я. Чукарев*, д.б.н. *Е.В. Шамрикова*,
акад. *В.С. Шацкий*, д.б.н. *Д.Н. Шамаков*, д.техн.н. *Н.Д. Цахада*

Адрес редакции:

167982, Республика Коми, ГСП-2, Сыктывкар,
ул. Коммунистическая, 24
Коми научный центр УрО РАН, каб. 317.
Тел. (8212) 24-47-79, факс (8212) 24-22-64
E-mail: journal@frc.komisc.ru
www.izvestia.komisc.ru

Подписной индекс в каталоге «Почта России» 52047

*Журнал включен в перечень
рецензируемых научных изданий ВАК*

ISSN 1994-5655

Зарегистрирован Федеральной службой по надзору
за соблюдением законодательства в сфере массо-
вых коммуникаций и охране культурного наследия.
Свид. о регистрации средств массовой информа-
ции ПИ № ФС 77- 26969 от 11 января 2007 г.

© Федеральное государственное бюджетное учреждение
науки Федеральный исследовательский центр
«Коми научный центр УрО РАН», 2021

Science Journal
Founded in 2010
Published 6 times a year

Established by
Federal State Budgetary
Institution of Science
Federal Research Centre
«Komi Science Centre, Ural Branch, RAS»

PROCEEDINGS

OF THE KOMI SCIENCE CENTRE
URAL BRANCH
RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES

№ 5 (51)

«EXPERIMENTAL BIOLOGY AND ECOLOGY» series

2021

Editor-in-chief:

academician *A.M. Askhabov*

Deputy editor-in-chief – RAS corresp. member *V.N. Lazhentsev*

Executive Secretary – Cand. Sci. (Chemistry) *A.Ya. Polle*

Editorial Board «Experimental Biology and Ecology»:

RAS corresp. member *V.N. Anisimov*, RAS corresp. member *I.N. Bolotov*,
Dr. Sci. (Biol.) *M.F. Borisenkov*, Dr. Sci. (Biol.) *S.A. Gerashin*, Dr. Sci. (Med.) *A.N. Grebenyuk*,
Dr. Sci. (Biol.) *A.V. Griбанov*, Dr. Sci. (Biol.) *T.K. Golovko*, Dr. Sci. (Biol.) *O.V. Ermakova*,
Dr. Sci. (Biol.) *V.G. Zainullin*, Dr. Sci. (Biol.) *N.G. Kolosova*, Dr. Sci. (Biol.) *A.G. Kudyasheva*,
Dr. Sci. (Biol.) *F.V. Minibaeva*, Dr. Sci. (Biol.) *L.V. Morozova*,
RAS corresp. member *A.A. Moskalev* (Executive Editor), Dr. Sci. (Biol.) *A.N. Osipov*,
Dr. Sci. (Biol.) *E.G. Pasyukova*, Dr. Sci. (Biol.) *V.N. Pozolotina*, Dr. Sci. (Biol.) *V.N. Popov*,
Dr. Sci. (Biol.) *S.V. Popov*, Dr. Sci. (Biol.) *E.A. Pryakhin*, Dr. Sci. (Biol.) *A.V. Rubanovich*,
Dr. Sci. (Biol.) *L.V. Sokolova*, Dr. Sci. (Tech.) *D.A. Subetto*, Dr. Sci. (Biol.) *A.V. Trapeznikov*,
Dr. Sci. (Biol.) *R.G. Farkhutdinov*, Dr. Sci. (Biol.) *B.Yu. Filippov*, Dr. Sci. (Biol.) *E.K. Khlestkina*,
Dr. Sci. (Biol.) *L.S. Shchegoleva*

Editorial Council:

acad. *V.V. Alekseev*, RAS corresp. member *V.N. Anfilogov*, RAS corresp. member *A.A. Baryakh*,
Dr. Sci. (Med.) *E.R. Bojko*, acad. *V.I. Berdyshev*, acad. *V.N. Bolshakov*,
Dr. Sci. (Econ.) *N.M. Bolshakov*, Prof. *T.M. Brechko*, Dr. Sci. (Biol.) *M.V. Getsen*,
acad. *A.D. Gvishiani*, Dr. Sci. (Biol.) *S.V. Degteva*, Dr. Sci. (Econ.) *V.A. Ilyin*, acad. *V.A. Koroteev*,
RAS corresp. member *S.V. Krivovichev*, RAS corresp. member *A.V. Kuchin*,
RAS corresp. member *Yu.B. Marin*, acad. *V.P. Matveenکو*, acad. *G.A. Mesyats*,
Cand. Sci. (Geol.&Mineral.) *A.M. Plyakin*, RAS corresp. member *V.N. Puchkov*,
RAS corresp. member *I.M. Roshchevskaya*, acad. *M.P. Roshchevsky*, Dr. Sci. (Chem.) *S.A. Rubtsova*,
Dr. Sci. (Hist.) *E.A. Savelyeva*, RAS corresp. member *A.F. Titov*, acad. *V.N. Charushin*,
Dr. Sci. (Tech.) *Yu.Ya. Chukreev*, Dr. Sci. (Biol.) *E.V. Shamrikova*, acad. *V.S. Shatsky*,
Dr. Sci. (Biol.) *D.N. Shmakov*, Dr. Sci. (Tech.) *N.D. Tskhadaya*

Editorial Office:

Office 317, Komi Science Centre,
Ural Branch, RAS
24, Kommunisticheskaya st., GSP-2,
Syktyvkar 167982, Komi Republic
Tel. +78212 244779 Fax +78212 242264
E-mail: journal@frc.komisc.ru
www.izvestia.komisc.ru

The “Russian Post” catalogue subscription index 52047

ISSN 1994-5655

Registered by the Russian Federal Surveillance Service for
Compliance with the Law in Mass Communications and
Cultural Heritage Protection. The certificate of mass media
registration - ПИ № ФС 77-26969 dated 11 January, 2007

*The journal is included in the list of peer-reviewed
scientific publications
of the Higher Attestation Commission
of the Russian Federation*

© Federal State Budgetary Institution
of Science Federal Research Centre
“Komi Science Centre, Ural Branch, RAS”, 2021

СО Д Е Р Ж А Н И Е

С.В. Дёгтева, А.А. Ермаков Схема развития и размещения особо охраняемых природных территорий Республики Коми.....	5–12
А.В. Ермакова, А.Г. Кудяшева Изменчивость гематологических показателей у разных видов лабораторных мышей.....	13–19
Н.Н. Старобор, О.В. Раскоша Репродуктивные показатели мышей линии <i>Af</i> после хронического гамма-облучения в малых дозах.....	20–28
Р.Р. Рафиков, Д.М. Шадрин Разнообразие гаплотипов гена <i>COI</i> горбуши <i>Oncorhynchus gorbuscha</i> (Walbaum, 1792) бассейна реки Печоры.....	29–34
О.В. Раскоша, Н.Н. Старобор, Л.А. Башлыкова Оценка биологической безопасности графеновых наноструктур <i>in vivo</i> : обзор литературы.....	35–45
Е.М. Лаптева, Ю.В. Холопов, О.В. Шахтарова, Н.Н. Бондаренко, С.Н. Кострова Почвы и почвенный покров в зоне влияния аэротехногенных выбросов целлюлозно-бумажного производства.....	46–60
И.Г. Широких, Н.А. Боков, Я.И. Назарова Влияние источников азота в питательной среде на рост и целлюлазную активность стрептомицетов	61–65
Л.М. Шапошникова, Н.Г. Рачкова, О.В. Раскоша Аккумуляция урана и радия-226 дикорастущими растениями и их фиторемедиационный потенциал.....	66–71
А.А. Шубаков, В.В. Володин, С.О. Володина, В.В. Мартынов Ступенчатый отбор высокопродуктивных по целлюлазной активности колоний гриба <i>Trichoderma viride</i>	72–77
Т.И. Ширшова, И.В. Бешлей, К.Г. Уфимцев Растения семейства гвоздичные (Caryophyllaceae) – распространение, содержание биологически активных веществ, биологические свойства	78–87
Л.В. Пилип, Н.В. Сырчина, Т.Я. Ашихмина Промышленные свиногомпы как источники загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами	88–91
Н.В. Сырчина, Т.Я. Ашихмина, Г.Я. Кантор, С.Г. Скугорева Перспективы использования глауконитсодержащих хвостов обогащения фосфоритов для снижения подвижности никеля в почвах.....	92–96
И.А. Соловьев, Е.В. Щеголева, М.В. Шапошников, А.А. Москалев Взаимосвязь инкрементов продолжительности жизни и массы тела <i>Drosophila melanogaster</i> с дифференциальной экспрессией генов циркадных ритмов в условиях культивирования с повышенным содержанием белка.....	97–103
Д.О. Корнилов, М.А. Тряпицын, Д.Ю. Гребнев <i>mTor</i> : сигнализация, регуляция, влияние на метаболизм, роль в регуляции продолжительности жизни и опухолевого роста.....	104–115

C O N T E N T S

S.V. Degteva, A.A. Ermakov Scheme of development and placement of nature protected areas of the Komi republic	5–12
A.V. Ermakova, A.G. Kudyasheva Variability of hematological parameters in different species of laboratory mice	13–19
N.N. Starobor, O.V. Raskosha Reproductive parameters in <i>Af</i> mice after chronic low-dose gamma radiation.....	20–28
R.R. Rafikov, D.M. Shadrin Haplotypes diversity of the <i>coi</i> gene of the pink salmon <i>Oncorhynchus gorbusha</i> (Walbaum, 1792) in the pechora river basin.....	29–34
O.V. Raskosha, N.N. Starobor, L.A. Bashlykova Assessment of biological safety of graphene nanostructures <i>in vivo</i> : literature review.....	35–45
E.M. Lapteva, YU.V. Kholopov, O.V. Shakhtarova, N.N. Bondarenko, S.N. Kostrova Soils and soil cover in the zone of influence of airborne industrial emissions from pulp and paper production	46–60
I.G. Shirokikh, N.A. Bokov, YA.I. Nazarova Impact of nitrogen sources in the nutrient medium on the growth and cellulase activity of streptomycetes	61–65
L.M. Shaposhnikova, N.G. Rachkova, O.V. Raskosha Uranium and radium accumulation by wild plants and their phytoremediation potential	66–71
A.A. Shubakov, V.V. Volodin, S.O. Volodina, V.V. Martynov Step-by-step selection of highly productive cellulase activity colonies fungus <i>Trichoderma viride</i>	72–77
T.I. Shirshova, I.V. Beshley, K.G. Ufimtsev Plants of the carnation family (caryophyllaceae) - distribution, content of biologically active substances, biological properties.....	78–87
L.V. Pilip, N.V. Syrchina, T.YA. Ashikhmina Industrial pig farms as sources of environmental pollution with heavy metals	88–91
N.B. Syrchina, T.YA. Ashikhmina, G.YA. Kantor, S.G. Skugoreva Prospects for using glauconite-containing tails after enrichment of phosphorites to reduce nickel mobility in soils.....	92–96
I.A. Solovev, E.V. Shchegoleva, M.V. Shaposhnikov, A.A. Moskalev <i>Drosophila</i> body mass on <i>ad libitum</i> medium correlates with lifespan increments observed as the phenotypes of circadian rhythm genes overexpression in the fat body.....	97–103
D.O. Kornilov, M.A. Tryapitsyn, D.YU. Grebnev mTOR: signaling, regulation, effect on metabolism, role in the regulation of life expectancy and tumor growth.....	104–115

Серия «ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЯ»

УДК 574:502.72 (470.13)
DOI 10.19110/1994-5655-2021-5-5-12

С.В. ДЁГТЕВА*, А.А. ЕРМАКОВ**

СХЕМА РАЗВИТИЯ И РАЗМЕЩЕНИЯ ОСОБО ОХРАНЯЕМЫХ ПРИРОДНЫХ ТЕРРИТОРИЙ РЕСПУБЛИКИ КОМИ

**Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
г. Сыктывкар*

***ГБУ РК «Центр по ООПТ»,
г. Сыктывкар*

degteva@ib.komisc.ru

S.V. DEGTEVA*, A.A. ERMAKOV**

SCHEME OF DEVELOPMENT AND PLACEMENT OF NATURE PROTECTED AREAS OF THE KOMI REPUBLIC

**Institute of Biology, Federal Research Centre
Komi Science Centre, Ural Branch, RAS,
Syktyvkar*

***Center for Nature Protected Areas, State
Budgetary Institution of the Komi Republic,
Syktyvkar*

Аннотация

В статье приведены сведения о современном состоянии и перспективах развития сети особо охраняемых природных территорий Республики Коми. Охарактеризована перспективная схема развития и размещения ООПТ Республики Коми, базирующаяся на основе анализа пробелов и учитывающая интересы социально-экономического развития региона и сопредельных субъектов Российской Федерации. Реализация схемы, предполагающей создание 26 заказников и памятников природы регионального значения, будет способствовать формированию репрезентативной, эффективно управляемой системы особо охраняемых природных территорий, связанных в экологический каркас.

Ключевые слова:

Особо охраняемые природные территории, Республика Коми

Abstract

The paper provides information on the current state and prospects of development of the network of Nature Protected Areas of the Komi Republic. At the initiative of scientists, public organizations, and the local population, with the support of the state authorities of the region and the Russian Federation, an extensive system of Nature Protected Areas was created. It includes 4 reserves of federal subordination, 228 nature reserves (zakazniks) and nature monuments of regional significance and 2 protected objects of local significance. The analysis showed that there are significant gaps in the network of Nature Protected Areas. In 2019–2021 a promising scheme for the development and placement of Nature Protected Areas of the Komi Republic was developed, based on the analysis of gaps and taking into account the interests of socio-economic development of the region and adjacent subjects of the Russian Federation. The paper gives characteristics of the scheme. The implementation of the scheme, which involves the creation of 26 nature reserves (zakazniks) and nature monuments of regional significance, will contribute to the formation of a representative, effectively managed system of Nature Protected Areas linked into an ecological framework.

Keywords:

Nature Protected Areas, Komi Republic

Введение

Залог поддержания экологического равновесия и сохранения биологического разнообразия на международном, национальном и региональном уровнях – создание сетей особо охраняемых природных территорий (далее – ООПТ), объединенных в единый каркас. Важность координации усилий ученых, общественных природоохранных организаций, органов государственной власти в решении этих задач признана сегодня во всем мире [1, 2], нашла отражение в Экологической доктрине Российской Федерации. Республика Коми, расположенная на европейском северо-востоке России, имеет значительные достижения в данной сфере. В статье рассмотрена история создания региональной системы ООПТ, охарактеризованы имеющиеся в ней пробелы и пути их восполнения.

История формирования региональной сети ООПТ

История создания системы ООПТ в Республике Коми охватывает период более 90 лет. 4 мая 1930 г. постановлением ВЦИК и СНК РСФСР был учрежден Печорский (ныне – Печоро-Илычский) заповедник. С начала 1960-х гг. в регионе целенаправленно формировали каркас из особо охраняемых природных комплексов и объектов [3, 4]. Определяющую роль в этом играли исследования специалистов Коми филиала Академии наук СССР (ныне – Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук»).

При организации сети ООПТ были сформулированы следующие основополагающие принципы:

- сохранение в неизменном состоянии уникальных природных комплексов и объектов, которые в настоящее время под воздействием антропогенного пресса сокращают свою площадь;
- сохранение в естественном состоянии типичных для различных географических подзон природных комплексов и объектов, которым грозят уничтожение и деградация;
- принятие мер к сохранению генофонда растений и животных, находящихся под угрозой исчезновения;
- удовлетворение рекреационных потребностей людей.

К середине 1970-х гг. на основе рекомендаций Комиссии по охране природы, созданной при Коми филиале АН СССР, были учреждены четыре ландшафтных заказника и 14 заказников для охраны сосны сибирской (кедра) – *Pinus sibirica* Du Tour, объявлены памятниками природы более 20 уникальных природных образований [5–8].

Наиболее интенсивно сеть ООПТ формировали с конца 1970-х до середины 1990-х гг. За этот период времени на основе предложений ученых и органов местного самоуправления Правительство региона приняло порядка 15 постановлений по вопросам создания и функционирования заказников и памятников природы. Кроме того, рядом законодательных актов утверждены положения об охраняемых природных объектах и территориях. К 1993 г. регио-

нальная система ООПТ включала 287, к 2000 г. – 302 объекта [7–11]. Два из них – Печоро-Илычский заповедник и национальный парк «Югыд ва», имели федеральное значение, остальные, относящиеся к категориям заказников и памятников природы, – республиканское.

В 2002 г. в Республике Коми началась реорганизация системы ООПТ с целью приведения ее в соответствие с положениями Федерального закона № 33-ФЗ «Об особо охраняемых природных территориях». Были упразднены объекты, границы которых полностью или частично совпадали с территориями других резерватов (преимущественно заказники и памятники природы, расположенные в пределах действующих границ Национального парка «Югыд ва» и Печоро-Илычского заповедника). Большинство из них относилось к категории геологический памятник природы. В результате общее число ООПТ значительно снизилось (с 302 до 240). При этом их общая площадь не изменилась [8, 12].

Одновременно специалисты Института биологии и Института геологии Коми НЦ УрО РАН при финансовой поддержке Минприроды Республики Коми, а с 2009 г. – и проекта ПРООН/ГЭФ «Укрепление системы особо охраняемых природных территорий Республики Коми в целях сохранения биоразнообразия первичных лесов в районе верховьев реки Печора», приступили к натурной инвентаризации заказников и памятников природы регионального значения.

На начало 2014 г., после упразднения ряда ООПТ, которые полностью или частично накладывались на другие резерваты, и создания в 2012 г. государственного природного ландшафта «Каргоортский», в республике насчитывалась 241 ООПТ [12]. В период 2015–2019 гг., согласно стратегии развития сети ООПТ Республики Коми до 2030 г., утвержденной приказом Минприроды Республики Коми, были организованы четыре заказника регионального (республиканского) подчинения и упразднены шесть заказников и пять памятников природы. Еще один памятник природы – «Воркутинский» – переведен из разряда ООПТ республиканского значения в разряд ООПТ местного значения. Постановлением Правительства Российской Федерации от 07.12.2019 № 1607 учрежден национальный парк «Койгородский». В 2020 г. упразднены памятники природы «Река Лымва» и «Озеро Ертом-Вад», которые полностью располагались в границах государственных природных заказников регионального (республиканского) значения. В 2021 г. водный памятник природы республиканского значения «Параськины озера» был реорганизован с увеличением площади и приданием статуса федерального заказника; водный памятник природы «Река Сюзью» преобразован в комплексный заказник с включением в его территорию комплексного заказника «Чутынский», который после реорганизации упразднен.

Сегодня регион располагает одной из наиболее разветвленных сетей ООПТ среди других субъектов Российской Федерации, входящих в состав Северо-Западного федерального округа. В республике функционируют четыре ООПТ федерального значения – Печоро-Илычский государственный при-

Таблица 1

Категории особо охраняемых природных территорий Республики Коми (на 01.10.2021 г.)

Table 1

Categories of Nature Protected Areas of the Komi Republic (as of 01.10.2021)

Категория ООПТ, профиль/охраняемые объекты	Число ООПТ	Площадь, га
ООПТ федерального значения		
Заповедник	1	721 322.00
Национальный парк	2	1 950 833.032
Заказник	1	17 109.5735
Итого:	4	2 689 264.6055
ООПТ регионального значения		
Заказники, в том числе:	180	2776746.58
комплексные (ландшафтные)	41	1436775.87
гидрологические (болотные)	93	382884.97
гидрологические	1	13
геологические	1	374.00
биологические, в том числе:	44	956698.74
<i>собственно биологические</i>	1	138 545.00
<i>ботанические</i>	19	29 997.90
<i>ихтиологические</i>	10	765 423.96
<i>лесные</i>	7	14 104.88
<i>кедровые</i>	6	8127.00
<i>луговые</i>	1	500.00
Памятники природы, в том числе:	48	5094.10
болотные	8	694.00
водные	5	352.00
геологические	17	692.4
ботанические, в том числе:	18	3 355.70
<i>собственно ботанические</i>	5	299.00
<i>лесные</i>	1	85.00
<i>кедровые</i>	10	2938.70
<i>луговые</i>	2	33.00
ООПТ местного значения		
Заказник, комплексный	1	130.674
Памятник природы, ботанический	1	90.6388
ИТОГО	234	5471326.5983

родный заповедник, национальный парк «Югыд ва», национальный парк «Койгородский» и федеральный заказник «Параськины озера», а также 228 резерватов регионального значения (180 заказников и 48 памятников природы). Кроме того, учреждены две ООПТ местного значения (табл. 1). Совокупная площадь ООПТ составляет порядка 5 471 326.6 га, или 13.1 % от общей площади республики.

Своеобразными экологическими коридорами, интегрирующими охраняемые территории в единый каркас, служат водоохранные зоны вдоль водотоков, защитные полосы лесов вдоль линейных сооружений и водных объектов, нерестоохраняемые полосы лесов, где запрещены рубки. Их общая площадь в республике составляет 2 985 400 га.

Итоги GAP-анализа региональной сети ООПТ

Созданная в республике сеть ООПТ имеет большое число сильных сторон и преимуществ, но проведенный GAP-анализ выявил в ней существенные пробелы. Так, оценка репрезентативности и полноты системы ООПТ Республики Коми по отношению к физико-географическим регионам суши показала, что в настоящее время в равнинной части тундровой зоны республики под охрану взяты толь-

ко азональные природные комплексы и объекты. Крайне малочисленны объекты природно-заповедного фонда в лесотундре и тундрово-арктических горных областях (Полярный Урал). В таежной области преобладают резерваты, расположенные в северной и средней подзонах тайги. При этом в южной подзоне тайги число и площадь ООПТ незначительные (табл. 2).

На ООПТ не представлены шесть из 32 типов ландшафтов [13], встречающихся в Республике Коми (18.8 % от их общего числа). Среди них: пологоувалистые тундровые равнины Предуралья; массивы плоскобугристых болот; пологоувалистые лесотундровые равнины Предуралья и Кряжа Чернышева; низменные моренные лесотундровые равнины; безлесные тундровые ложины и долины мелких рек в крайнесеверной тайге; наиболее высокие участки Тимана, приуроченные к выходам метаморфических пород. В республике слабо обеспечены территориальной охраной низинные болота, плоскобугристые болота тундры и лесотундры – пробел в существующей системе ООПТ [14]. Нет охраняемых эталонных болотных экосистем в подзоне южной тайги. Из 12 малонарушенных лесных территорий, расположенных в Республике Коми [15], в состав ООПТ входят лишь три; все они сосредоточены на объек-

Таблица 2

Полнота системы ООПТ Республики Коми для различных физико-географических широтных зон и горных территорий с различными типами высотной поясности (на 01.10.2021)

Table 2

Completeness of the system of Nature Protected Areas of the Komi Republic for various physical and geographical latitudinal zones and mountainous territories with different types of altitude zones (as of 01.10.2021)

Широтные зоны и горные области (по Рихтеру, 1964)	Число ООПТ	Общая площадь ООПТ, га	Доля от площади природно-заповедного фонда Республики Коми, %	Примечание
Широтные зоны равнинных территорий				
Южная тундра	3	135.974	0.002	Представлены только азональными природными комплексами и объектами
Лесотундра	5	4 679.000	0.086	
Северная лесотундра	2	1 554.000	0.028	
Южная лесотундра	3	3 125.00	0.057	Представлены только азональными природными комплексами и объектами
Тайга	209	2608261.526	47.671	
Крайнесеверная тайга	26 (24 полностью, 2 частично)	421 958.400 (приведена площадь ООПТ, полностью расположенных в крайнесеверной подзоне тайги)	7.712 (приведена доля площади ООПТ, полностью расположенных в крайнесеверной подзоне тайги)	2 ООПТ (заказники «Пижемский» и «Сынинский») частично расположены в северной подзоне тайги
Северная тайга	41 (37 полностью, 4 частично)	1 581 410.074 (приведена площадь ООПТ, полностью и частично расположенных в северной подзоне тайги)	28.904 (приведена доля площади ООПТ, полностью и частично расположенных в северной подзоне тайги)	2 ООПТ (заказники «Пижемский» и «Сынинский») частично расположены в крайнесеверной подзоне тайги, 2 ООПТ (заказники «Ильчский», Удорский») частично расположены в средней подзоне тайги
Средняя тайга	145 (143 + 2 частично в северной тайге)	548 085.020 (приведена площадь ООПТ, полностью расположенных в средней подзоне тайги)	10.017 (приведена доля площади ООПТ, полностью расположенных в средней подзоне тайги)	2 ООПТ (заказники «Ильчский», Удорский») частично расположены в северной подзоне тайги
Южная тайга	2	56808.032	1.038	
Группы горных областей с разными типами высотной поясности				
Тундрово-арктические	5	7540.639	0.138	
Горнотундрово-таежные	11 (9 полностью, 2 частично в средней тайге)	2 850 709.460	52.103	2 ООПТ (заказники «Участок р. Печора» и «Уньинский») частично расположены в средней подзоне тайги
ИТОГО	234	5471326.598	100.00	

тах федерального значения. Около 15 % редких видов, занесенных в Красную книгу Республики Коми [16], не встречаются в границах ООПТ (табл. 3).

Среди особо охраняемых объектов геологического наследия практически отсутствуют вещественно-минеральные (или породно-минеральные) объекты ледникового и водно-ледникового рельефа, подземные источники, слабо представлены места геологических открытий и пионерских горных промыслов. Необходимо продолжить работы по сохранению палеобиосферно-стратиграфических объектов [7].

В результате реализации проекта ПРООН/ГЭФ «Укрепление системы особо охраняемых природных территорий Республики Коми в целях сохране-

ния биоразнообразия первичных лесов в районе верховьев реки Печора» специалистами Института биологии и Института геологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Регионального некоммерческого фонда «Серебряная тайга» для совершенствования системы ООПТ были сформулированы предложения о создании 29 ООПТ регионального значения, в том числе: девяти комплексных заказников, 12 биологических заказников, двух гидрологических заказников и шести геологических памятников природы. Они были включены в «Стратегический план развития системы ООПТ Республики Коми», утвержденный Министерством природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Коми в 2014 г. За пери-

Таблица 3

Распределение по категориям охраны редких видов грибов, растений и животных, не встречающихся на ООПТ Республики Коми

Table 3

Distribution by categories of protection of rare species of fungi, plants and animals not found in the NPAs of the Komi Republic

Таксономическая группа	Категория охраны						Всего таксонов
	0	1	2	3	4	5	
Царство Грибы							13
Настоящие грибы	–	–	–	5	3	–	8
Лишайники	2	2	–	–	1	–	5
Царство Растения							54
Водоросли	–	–	–	5	–	–	5
Мохообразные	–	–	2	8	2	–	12
Сосудистые	–	1	5	20	11	–	37
Царство Животные							12
Беспозвоночные	–	–	1	4	1	–	6
Рыбы	–	–	–	1	–	–	1
Амфибии	–	–	–	–	–	–	0
Птицы	–	–	1	3	–	–	4
Млекопитающие	–	–	–	1	–	–	1
Всего таксонов	3	7	24	38	7	0	79

Примечание: категории охраны приведены в соответствии с Красной книгой Республики Коми (2019); прочерк – виды данной категории отсутствуют.

Note: the categories of protection are listed in accordance with the Red Book of the Komi Republic (2019); dash – there are no species of this category.

од 2014–2019 гг., согласно данному документу, были учреждены комплексные заказники «Чернореченский», «Большая Лагорта», «Оченырда», «Большая Роговая». Их создание позволило частично восполнить пробелы в сохранении ландшафтов Полярного Урала, полосы притундровых лесов, увеличить площади охраняемых крупнобугристых болот.

Перспективы развития и размещения ООПТ республиканского значения

В сентябре 2018 г. был принят закон «Об особо охраняемых природных территориях республиканского и местного значения в Республике Коми». Этот документ предусматривает разработку схемы развития сети ООПТ, которая обеспечит соблюдение баланса экологических и экономических задач в целях устойчивого развития региона.

В 2019 г. Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Коми инициировало подготовку схемы развития и размещения особо охраняемых природных территорий республиканского значения (далее – схема). Этот документ в соответствии с требованиями постановления Правительства Республики Коми от 08.05.2019 № 221 «О мерах по реализации Закона Республики Коми "Об особо охраняемых природных территориях республиканского и местного значения в Республике Коми"» готовили специалисты Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, ГБУ РК «Центр по особо охраняемым природным территориям», Регионального некоммерческого фонда «Северная тайга».

При разработке схемы были определены следующие приоритеты:

– достижение репрезентативности системы ООПТ для сохранения максимального физико-географического, ландшафтного и биологического разнообразия Республики Коми;

– достижение полноты охвата системой ООПТ ценных природных территорий для гарантированного сохранения: ключевых мест обитания редких и находящихся под угрозой исчезновения объектов животного и растительного мира; геологических, минералогических и палеонтологических объектов; уникальных природных комплексов и объектов, в том числе одиночных природных объектов, представляющих собой особую научную, культурную и эстетическую ценность;

– обеспечение изучения и мониторинга естественного хода процессов в природных экосистемах региона.

В результате работ, выполненных в 2019–2021 гг., составлен уточненный список перспективных для организации ООПТ, сформулированы предложения о реорганизации (изменении статуса, увеличении площади) некоторых действующих резерватов, разработаны проекты положений, определяющие режим охраны и использования природных комплексов ООПТ. Схема учитывает наличие интересов третьих лиц и планы социально-экономического развития региона и муниципальных образований в Республике Коми.

При реализации предложений по организации особо охраняемых природных территорий регионального (республиканского) значения будут учреждены восемь комплексных (ландшафтных) заказников, три заказника гидрологического (болотного) профиля, 12 биологических заказников (восемь ботанических и четыре зоологических), а также три памятника природы для сохранения уникальных объектов геологического и палеонтологического наследия. При создании комплексного заказника «Водораздел рек Пыссы и Содзима» будут реорганизованы комплексные заказники «Пысский» и «Содзимский», которые полностью войдут в его состав.

При организации заказников и памятников природы, включенных в схему развития и размещения ООПТ республиканского значения до 2030 г., будет решена задача обеспечения территориальной охраной всех типов ландшафтов, представленных в Республике Коми. Ландшафты равнинных тундр Восточно-Европейского сектора Арктической зоны Российской Федерации будут сохраняться на территории комплексного заказника «Силоваяха», типичные ландшафты пологоувалистых лесотундровых равнин Предуралья и Кряжа Чернышева, низменных моренных лесотундровых равнин – в комплексных заказниках «Водораздел рек Большой Пятомбойю и Малый Пятомбойю», «Лесотундровый», «Тибейвиска». Существующий пробел в охране ландшафтов наиболее высоких участков Тимана устранил создание комплексного заказника «Очпарма».

Функцию сохранения плоскобугристых болот будут выполнять заказники «Плоскобугристые болота водораздела рек Сейда и Лёк-Воркута», «Силоваяха», «Водораздел рек Большой Пятомбойю и Малый Пятомбойю», «Лесотундровый», «Тибейвиска». Создание гидрологических заказников республиканского значения «Усть-Пожегский», «Атлас», «Занульский», «Русашор» будет способствовать сохранению переходных, низинных и ключевых болот юго-западной части республики.

Малонарушенные лесные территории будут обеспечены территориальной охраной в заказниках «Тобышский» (крайне северная подзона тайги), «Водораздел рек Пыссы и Содзима», «Карпогорский» (северная и частично средняя подзоны тайги). Это будет способствовать повышению эффективности охраны старовозрастных и девственных лесов (прежде всего, водораздельных ельников), развивающихся в режиме спонтанной динамики, не только на территории Республики Коми, но и в сопредельных районах Архангельской области.

В результате совершенствования существующей сети ООПТ будет существенно улучшена охрана *in situ* популяций редких видов животных, растений и грибов. Ключевые водно-болотные угодья, важные для миграции водоплавающих и околоводных птиц, войдут в состав биологического заказника «Сейда» и примыкающего к нему гидрологического (болотного) заказника «Плоскобугристые болота водораздела рек Сейда и Лёк-Воркута». В биологическом заказнике «Елецкий» будут сохраняться местообитания 18 видов насекомых, занесенных в Красную книгу Республики Коми [16] и включенных в Приложение 1 к ней. Среди них стрекоза бабка альпийская (*Somatochlora alpestris* (Selys, 1840)), которая на других объектах природно-заповедного фонда Республики Коми не встречается. Организация биологического заказника «Дзервад», комплексных заказников «Карпогорский», «Водораздел рек Пыссы и Содзима» будет способствовать сохранению локальных популяций северного оленя (*Rangifer tarandus* Linnaeus, 1758), в том числе совершающих трансграничные миграции.

Популяции редчайших в мире лишайников – лептогиума приручейного (*Leptogium rivulare* (Ach.) Mont.) и дендристостикты Райта (*Dendroscosticta*

wrightii (Tuck.) B. Moncada et Lüchling) будут обеспечены территориальной охраной на территориях целенаправленно созданных биологических заказников «Евтинский», «Дингульский лес», «Лехта». Сохранению многочисленных популяций лишайника бриории Фремонта – *Bryoria fremontii* (Tuck.) Brode et D. Hawksw., занесенного в Красную книгу Российской Федерации [17], будет способствовать учреждение комплексного заказника «Карпогорский», биологического заказника «Порубский». В заказнике «Порубский» будут взяты под охрану и другие редкие лишайники, имеющие в республике наивысшую категорию статуса редкости (уснея длиннейшая – *Usnea longissima* Ach., цетрелия оливковая – *Cetrelia olivetorum* (Nyl.) W.L. Culb. et C.F. Culb., гетеродермия красивая – *Heterodermia speciosa* (Wulfen) Trevis.), а также редкий вид грибов, не встречающийся на других ООПТ регионального значения (плутей умбровый – *Pluteus umbrosus* (Pers.) P. Kumm.).

Создание заказников ботанического профиля обеспечит более эффективную охрану *in situ* популяций редких видов сосудистых растений, которые в настоящее время не зарегистрированы на ООПТ региона: живокости Миддендорфа – *Delphinium middendorffii* Trautv., крупки ледниковой – *Draba glacialis* Adams, горечавки весенней – *Gentiana verna* L. (заказник «Каньон реки Ния-ю»), тонконога (келерии) Поле – *Koeleria pohleana* (Domin) Gontsch. (заказник «Кожвинский»), дремлика болотного – *Epipactis palustris* (L.) Crantz (заказник «Занульский»), гвоздики Фишера – *Dianthus fischeri* (заказник «Ужгинский»).

На территории проектируемого заказника «Русашор» высокой численностью характеризуется популяция телиптериса болотного (*Thelypteris palustris* Schott) – вида папоротников, который в Республике Коми является естественно редким (популяции находятся на северной границе ареала вида) и известен всего из нескольких местообитаний, расположенных в средней подзоне тайги. В заказнике «Каньон реки Ния-ю» отмечены наиболее крупные в регионе популяции тофиедьди краснеющей (*Tofieldia coccinea* Richards) и арники Ильина (*Arnica angustifolia* subsp. *iljinii* (Maguire) Iljin), насчитывающие по несколько тысяч особей. В заказнике «Ужгинский» выявлено лесное сообщество с доминированием коротконожки перистой (*Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv.).

Ключевые местообитания многочисленных редких представителей семейства орхидные, занесенных в Красную книгу Республики Коми [16], выявлены в заказниках «Сыктывкарский», «Занульский», «Русашор». Популяции венерина башмачка настоящего (*Cypripedium calceolus* L.) и башмачка пятнистого (*Cypripedium guttatum* Sw.), сохраняемые в заказнике «Сыктывкарский», – одни из крупнейших в республике.

В целях сохранения уникальных геологических и палеонтологических объектов будут организованы три памятника природы регионального значения: «Цильменский», «Риф Седью», «Обнажение Доманик».

По итогам инвентаризации объектов природно-заповедного фонда Республики Коми, завершённой в 2014 г., специалистами Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН определен ряд ООПТ регионального значения, которые предложено упразднить. В основе предложений по упразднению заказников и памятников природы лежали следующие причины:

- объекты изначально не обладали ценностью для охраны;
- в действующей сети ООПТ имеются аналогичные, но более ценные объекты;
- угрозы существованию объектов, имеющих статус ООПТ, изначально отсутствовали (рубки для низкобонитетных лесов) или утратили актуальность (мелиорация болот и заболоченных лесов);
- объекты утратили ценность для охраны по естественным причинам или в результате антропогенного воздействия.

Рекомендовано снять статус ООПТ с 24 объектов, среди которых 12 заказников (11 гидрологических (болотных) и один комплексный) и 12 памятников природы регионального значения (пять болотных, четыре кедровых, два ботанических, один водный). В настоящее время упразднение действующих ООПТ законодательством Российской Федерации не предусмотрено. Если положения ФЗ-33 «Об особо охраняемых природных территориях» в этой части будут отменены и реализованы управленческие решения об упразднении упомянутых ООПТ регионального значения, это не окажет существенного влияния на площадь природно-заповедного фонда республики.

Заключение

В Республике Коми, благодаря инициативе ученых, общественных организаций, местного населения, поддержанной органами государственной власти региона и Российской Федерации, создана разветвленная система ООПТ. В процессе реализации проекта ПРООН/ГЭФ «Укрепление системы особо охраняемых природных территорий Республики Коми в целях сохранения биоразнообразия первичных лесов в районе верховьев реки Печора» установлено, что она не в полной мере соответствует международным требованиям, предъявляемым к сетям ООПТ. Одним из основных итогов выполнения упомянутого международного проекта стал «Стратегический план развития системы ООПТ Республики Коми». Он был частично реализован в 2014–2019 гг. В сентябре 2018 г. был принят закон «Об особо охраняемых природных территориях республиканского и местного значения в Республике Коми», которым предусмотрено утверждение схемы развития региональной сети ООПТ. В 2019 г. Минприроды Республики Коми инициировало разработку схемы развития и размещения ООПТ до 2030 г. В процессе ее подготовки после детального анализа интересов третьих лиц и получения необходимых согласований составлен уточненный список ООПТ, перспективных для организации, сформулированы предложения о реорганизации (об изменении статуса, увеличении площади) некоторых действующих резерватов, разработаны проек-

ты положений, определяющие режим охраны и использования природных комплексов ООПТ. Предполагается создание 26 заказников и памятников природы регионального (республиканского) подчинения. При подготовке схемы учтены интересы социально-экономического развития региона и сопредельных субъектов Российской Федерации.

В результате реализации данной схемы будет достигнута цель гармонизации существующего в регионе природно-заповедного фонда, формирования репрезентативной, эффективно управляемой системы особо охраняемых природных территорий, связанных в экологический каркас. Наряду с устранением пробелов в сети ООПТ путем учреждения новых резерватов, актуальной задачей остается принятие действенных мер, направленных на совершенствование охраны и управления структурными звеньями природно-заповедного фонда, имеющими региональное и местное подчинение.

Авторы выражают благодарность ведущему инженеру Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН И.А. Романову, специалистам ГБУ РК «Центр по ООПТ» С.В. Борискину и В.В. Черепниной за помощь в обработке данных.

Литература

1. *Дурбанский аккорд*: Материалы Пятого Всемирного конгресса по особо охраняемым природным территориям. Перевод с английского. М., 2004. 272 с.
2. *Особо охраняемые природные территории России: современное состояние и проблемы развития*. М., 2009. 455 с.
3. *Гладкова И.Г., Гладков В.П.* Из истории охраны природы в Коми АССР // Природные ресурсы Ухтинского района Коми АССР. Их учет, использование и охрана. Сыктывкар, 1974. С. 40–48.
4. *Гладков В.П., Балибасов В.П.* Современное состояние природно-заповедного фонда Европейского Северо-Востока и предложения по его развитию. Сыктывкар, 1975. 47 с.
5. *Непомилуева Н.И.* Кедр сибирский (*Pinus sibirica* Du Tour) на Северо-Востоке Европейской части СССР. Л., 1974. 184 с.
6. *Таскаев А.И., Дёгтева С.В.* Система охраняемых природных территорий Республики Коми: история формирования и перспективы развития // Урал: наука, экология. Екатеринбург, 1999. С. 78–97.
7. *Геологическое наследие Республики Коми (Россия)*. Сыктывкар, 2008. 350 с.
8. *Особо охраняемые природные территории Республики Коми: итоги анализа пробелов и перспективы развития / С.В. Дёгтева, Е.Ю. Изъяров, Т.Н. Пыстина, А.Н. Королев, С.К. Кочанов, И.И. Полетаева, Л.Н. Тикушева*. Сыктывкар, 2011. 256 с.
9. *Кадастр охраняемых природных территорий Республики Коми*. Ч. I. Сыктывкар, 1993. 190 с.
10. *Кадастр охраняемых природных территорий Республики Коми*. Ч. II. Сыктывкар, 1995. 60 с.

11. Система ООПТ Республики Коми: современное состояние и пути совершенствования / С.В. Дёгтева, Е.Ю. Изъюров, Л.Я. Огородова, Т.Н. Пыстина // Тр. КарНЦ РАН. Сер. Биogeография. 2014. № 2. С. 147–154.
12. *Кадастр особо охраняемых природных территорий Республики Коми*. Сыктывкар, 2014. 428 с.
13. *Атлас Коми АССР*. М., 1964. 112 с.
14. Дёгтева С.В., Гончарова Н.Н. Проблемы охраны болот Республики Коми // Изв. Коми НЦ УрО РАН. 2012. № 2 (10). С. 29–35.
15. Ярошенко А.Ю., Потапов П.В., Турубанова С.А. Малонарушенные лесные территории Европейского Севера России. М., 2001. 75 с.
16. *Красная книга Республики Коми*: Третье издание, официальное. Сыктывкар, 2019. 768 с.
17. *Красная книга Российской Федерации* (растения и грибы). М., 2008. 855 с.
7. *Geologicheskoe nasledie Respubliki Komi (Rossiya)* [Geological heritage of the Komi Republic (Russia)]. Syktyvkar, 2008. 350 p.
8. *Osobo ohranyaemye prirodnye territorii Respubliki Komi: itogi analiza probelov i perspektivy razvitiya* [Nature Protected Areas of the Komi Republic: results of gap analysis and development prospects] / S.V. Degteva, E.YU. Izuyurov, T.N. Pystina, A.N. Korolev, S.K. Kochanov, I.I. Poletaeva, L.N. Tikusheva. Syktyvkar, 2011. 256 p.
9. *Kadastr ohranyaemykh prirodnykh territorij Respubliki Komi* [Cadastre of Nature Protected Areas of the Komi Republic]. Part I. Syktyvkar, 1993. 190 p.
10. *Kadastr ohranyaemykh prirodnykh territorij Respubliki Komi* [Cadastre of Nature Protected Areas of the Komi Republic]. Part II. Syktyvkar, 1995. 60 p.
11. Sistema OOPT Respubliki Komi: sovremennoe sostoyanie i puti soveshchenstvovaniya [NPA system of the Komi Republic: current state and ways of improvement] / S.V. Degteva, E.YU. Izuyurov, L.Ya. Ogorodovaya, T.N. Pystina // Trudy Karel'skogo Nauchnogo Centra RAN. Seriya Biogeografiya [Proc. of the Karelian Sci. Centre, RAS. Biogeography Series]. 2014. № 2. P. 147–154.
12. *Kadastr osobo ohranyaemykh prirodnykh territorij Respubliki Komi* [Cadastre of Nature Protected Areas of the Komi Republic]. Syktyvkar, 2014. 428 p.
13. *Atlas Komi ASSR* [Atlas of the Komi ASSR]. Moscow, 1964. 112 p.
14. Degteva S.V., Goncharova N.N. Problemy ohrany bolot Respubliki Komi [Problems of protection of swamps of the Komi Republic] // Izvestiya Komi Nauchnogo Centra UrO RAN [Proc. of the Komi Sci. Centre, Ural Branch, RAS]. 2012. № 2 (10). P. 29–35.
15. Yaroshenko A.Yu., Potapov P.V., Turubanova S.A. Malonarushennyye lesnyye territorii Evropeyskogo Severa Rossii [Intact forest territories of the European North of Russia]. Moscow, 2001. 75 p.
16. *Krasnaya kniga Respubliki Komi*: Tret'e izdanie, oficial'noe [The Red Book of the Komi Republic: 3rd edition, official]. Syktyvkar, 2019. 768 p.
17. *Krasnaya kniga Rossijskoj Federacii* (rasteniya i griby) [The Red Book of the Russian Federation: plants and fungi]. Moscow, 2008. 855 p.

References

1. *Durbanskij akkord: materialy Pyatogo vse-mirnogo kongressa po osobo ohranyaемым prirodnym territoriyam* [Durban Chord: Proceedings of the Fifth World Congress on Nature Protected Areas]. Moscow, 2004. 272 p.
2. *Osobo ohranyaemye prirodnye territorii Rossii: sovremennoe sostoyanie i problemy razvitiya* [Nature Protected Areas of Russia: current state and development problems]. Moscow, 2009. 455 p.
3. Gladkova I.G., Gladkov V.P. Iz istorii ohrany prirody v Komi ASSR [From the history of nature conservation in the Komi ASSR] // Prirodnye resursy Uhtinskogo rajona Komi ASSR. Ih uchët, ispol'zovanie i ohrana [Natural resources of the Ukhta region of the Komi ASSR. Their accounting, use and protection]. Syktyvkar, 1974. P. 40–48.
4. Gladkov V.P., Balibasov V.P. Sovremennoe sostoyanie prirodno-zapovednogo fonda Evropeyskogo Severo-Vostoka i predlozheniya po ego razvitiyu [The current state of the nature reserve fund of the European North-East and proposals for its development]. Syktyvkar, 1975. 47 p.
5. Nepomilueva N.I. Kedr sibirskij (Pinus sibirica Du Tour) na Severo-Vostoke Evropejskoj chasti SSSR [Siberian cedar (Pinus sibirica Du Tour) in the North-East of the European part of the USSR]. Leningrad, 1974. 184 p.
6. Taskaev A.I., Degteva S.V. Sistema ohranyaemykh prirodnykh territorij Respubliki Komi: istoriya formirovaniya i perspektivy razvitiya [System of Nature Protected Areas of the Komi Republic: the history of formation and development prospects] // Ural: nauka, ekologiya [The Urals: science, ecology]. Ekaterinburg, 1999. P. 78–97.

Статья поступила в редакцию 13.10.2021.

УДК 591.111.1:57.032:612.66

DOI 10.19110/1994-5655-2021-5-13-19

А.В. ЕРМАКОВА, А.Г. КУДЯШЕВА

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У РАЗНЫХ ВИДОВ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

*Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
г. Сыктывкар*

kud@ib.komisc.ru

A.V. ERMAKOVA, A.G. KUDYASHEVA

VARIABILITY OF HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN DIFFERENT SPECIES OF LABORATORY MICE

*Institute of Biology, Federal Research Centre
Komi Science Centre, Ural Branch, RAS,
Syktывkar*

Аннотация

Представлены клинические показатели крови в норме у лабораторных мышей (самцов) разного вида и возраста, находящихся в стандартных условиях вивария из Научной коллекции экспериментальных животных «УНУ» Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН. Определено содержание основных показателей у четырех видов мышей: беспородные мыши (1- и 5-месячные), CBA/lac (5-месячные), AF (6–11-месячные), DBA (16-месячные), относящихся к разным возрастным группам животных (неполовозрелые, половозрелые и старые). Установлены относительная стабильность и невысокая изменчивость гематологических показателей, особенно у линейных видов мышей, что позволяет рекомендовать их в выборе при проведении экспериментов и изучения закономерностей в медико-биологических исследованиях.

Ключевые слова:

гематология, лабораторные мыши, разные виды, возраст, изменчивость

Abstract

In scientific research, when conducting experiments, the so-called norms which are used to differentiate the state of health and pathology, are important. At the same time, the requirements for the quality of laboratory animals and their standardization as an object of research are increasing. These are mice of different species that are the main objects used in biomedical research in experiments when analyzing the age-related variability and toxicity of drugs of a chemical nature, modeling the effects of a physical nature, which allow us to obtain objective data. The study of hematological parameters of peripheral blood consisted in determining the clinical parameters of normal blood in laboratory mice (males) of various species and ages, being under standard vivarium conditions, obtained from the "Scientific Collection of Experimental Animals "UNU" (<http://www.ckp-rf.ru/usu/471933>) of the Institute of Biology, Federal Research Centre, Komi Science Centre, Ural Branch, RAS. The content of the main blood parameters was determined in four types of mice: outbred mice (1- and 5-months), CBA/lac (5 months), AF (6–11-months), DBA (16-months) belonging to different age groups of animals (immature, sexually mature and old animals). Relative stability and low variability of hematological parameters were established, especially in linear mice species. The data obtained supplement the understanding of the influence of the age and species of laboratory mice on the nature of the content and variability of individual blood elements. Laboratory animals of different species, lines and ages, bred in standard vivarium conditions, can be recommended when choosing them for con-

ducting experiments and studying patterns in biomedical research.

Введение

Отправным моментом для решения многих вопросов в научных исследованиях являются так называемые нормы, т.е. данные о строении и функциональной деятельности в здоровом организме, которые широко используются для дифференциации состояния здоровья и патологии [1]. Без четкого представления о норме не может успешно развиваться ни одна современная наука, связанная с изучением биологических последствий при действии различных факторов окружающей среды. Главное биологическое звено в системе эксперимента – это лабораторные животные. Во многих случаях от того, как подобраны лабораторные животные, от их качества (здоровья) зависят результаты напряженного исследования и медико-биологического эксперимента [2]. При этом повышаются требования к качеству лабораторных животных, к стандартизации их как объекта исследования. Из всех видов животных наиболее часто используются мыши разных линий или аутбредные или инбредные, которые являются основными объектами, используемыми в медико-биологических исследованиях и экспериментах при анализе возрастной изменчивости, токсичности препаратов химической природы и моделировании эффектов физической природы [3, 4], позволяющие получать объективные данные. Оценка возникающих сдвигов, их интерпретация и сравнение с биологической нормой в результате проведения доклинических исследований представляют основную задачу при анализе полученных результатов.

Гематология, как и прочие медико-биологические науки, не может успешно развиваться без четких представлений о норме. Решение задачи по созданию гематологической нормы в определенной степени поможет формированию общего понятия «норма» и изучению нормального состояния всех систем организма [1]. Общие клинические исследования крови, являясь одним из важнейших диагностических методов, тонко отражают реакцию кровеносных органов на воздействие на организм различных физиологических и патологических факторов [5]. Кровь объединяет работу многих физиологических систем организма, а именно обеспечивает его гомеостатический потенциал и способность противостоять экстремальным воздействиям. Функциональная система крови представляет собой иерархию подсистем регуляции: качественного и количественного составов клеток крови [6]. Для интерпретации и оценки данных необходимы знания не только четких границ гематологической нормы для того или иного вида животных, но и разделение их по возрасту и определение изменчивости гематологических показателей.

Цель данной работы – определение изменчивости показателей крови у интактных белых бес-

Keywords:

hematology, laboratory mice, different species, age, variability

породных лабораторных мышей и мышей линий CBA, AF, DBA, акцентируя при этом внимание на вид и возраст животных.

Материал и методы

В эксперименте были использованы 60 самцов интактных лабораторных мышей. Выбор пола животных обусловлен необходимостью получения стабильных результатов, исключая влияние циклических изменений, характерных для организма самок [7]. Животных содержали в индивидуальных клетках на полноценной диете со свободным доступом к воде и пище в виварии Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН УНУ «Научной коллекции экспериментальных животных» (<http://www.ckprf.ru/usu/471933>), соответствующих требованиям санитарно-эпидемиологических правил (СП 2.2.1. 3218-14) [8]. Мыши в зависимости от вида и возраста были разделены на пять вариантов (таблица): 1 группа – белые беспородные (1-месячные, неполовозрелые), 2 – белые беспородные (5-месячные, половозрелые), 3 – мыши линии CBA/лас (5-месячные, половозрелые), 4 – мыши линии AF (6–11-месячные, половозрелые), 5 группа – мыши линии DBA (16-месячные, относящиеся к группе старых животных). Мышей лишали корма на ночь перед взятием крови, вода оставалась в достаточном количестве. Из эксперимента их выводили путем верхней декантации с 10–11 ч утра с соблюдением требований Международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным для экстирпации органов [2], кровь на анализ брали сразу. Анализ гематологических показателей всех пяти групп разных видов лабораторных мышей проведен в один и тот же период времени (март-апрель, 2015 г.). Массу тела определяли непосредственно перед взятием крови. В пробах цельной крови с антикоагулянтом на автоматизированном гемоанализаторе MicroCC-20Plus (ветеринарная версия, High Tehcnology, Inc, США) определяли 13 основных показателей крови. Перед началом измерения на гемоанализаторе проводили калибровку прибора по стандартным растворам. Дифференциация и подсчет клеток крови в используемом анализаторе основаны на принципе кондуктометрии (колориметрии для измерения гемоглобина). Погрешность показателей крови в гемоанализаторе составляет: по эритроцитам – 1 %, гемоглобину – 2, гематокриту – 1, коэффициент вариации по лейкоцитам – от 1 до 3 %. Вариабельность (CV) исследуемых параметров крови на приборе, согласно паспорту прибора, по отдельным показателям составляла для лейкоцитов, эритроцитов не более 3 %, гемоглобина – 2, тромбоцитов – 5 % [9]. Оценивали влияние возраста и вида мышей на изменчивость отдельных форменных элементов крови. Результаты обрабатывали с применением вариационной статистики, дан-

Сравнительная характеристика гематологических показателей лабораторных мышей**Comparative characteristics of hematological parameters of laboratory mice**

Показатели/ Indicator	Беспородные мыши (1 мес.) n = 10 /outbred mice (1 month) n = 10	Беспородные мыши (5 мес.) n = 11 /outbred mice (5 month) n = 11	Мыши линии СВА/лас (5 мес.) n = 7 /CBA / lac mice (5months) n = 7	Мыши линии AF (6–11 мес.) n = 19 /AF mice (6–11 months) n = 19	Мыши линии DBA (16 мес.) n = 13 / Mice DBA (16 months) n = 13
	1 группа/ 1 group	2 группа/ 2 group	3 группа/ 3 group	4 группа/ 4 group	5 группа/ 5 group
Масса тела, г/ Body weight, g	11,9 ± 12,1	26,2 ± 31,2	22,9 ± 24,5	21,1 ± 33,5	22,4 ± 26,0
Лейкоциты / Leukocytes, 10 ⁹ /L	3,1 ± 0,7	6,7 ± 0,7 ^{от1}	11,1 ± 1,9	11,5 ± 1,1 ^{от1}	7,5 ± 1,7 ^{от1}
Эритроциты / Erythrocytes, 10 ¹² /L	8,5 ± 0,2	10,4 ± 0,2 ^{от1}	9,8 ± 0,2	9,3 ± 0,3	9,3 ± 0,5
Гранулоциты / Granulocytes, 10 ⁹ /L	0,4 ± 0,1	2,2 ± 0,59 ^{от1}	3,1 ± 1,3	2,4 ± 0,3	1,9 ± 0,9
Гранулоциты / Granulocytes, %	15,2 ± 1,8	34,0 ± 7,6 ^{от1}	15,2 ± 3,4 ^{от2}	22,0 ± 2,5	18,8 ± 3,5
Лимфоциты / Lymphocytes, 10 ⁹ /L	2,0 ± 0,2	3,3 ± 0,6	10,9 ± 2,4 ^{от1}	6,5 ± 0,7 ^{от1}	3,1 ± 0,5
Лимфоциты/ Lym- phocytes, %	63,3 ± 1,8	47,4 ± 5,5	66,8 ± 2,4 ^{от1}	56,7 ± 2,8	48,2 ± 3,7
Средние клетки/ Medium cells, 10 ⁹ /L	0,7 ± 0,1	1,2 ± 0,2 ^{от1}	1,4 ± 3,9	2,5 ± 0,45 ^{от1}	2,4 ± 0,5 ^{от4}
Средние клетки/ Medium cells, %	21,5 ± 1,5	18,6 ± 3,0 ^{от1}	18,0 ± 2,0	21,3 ± 1,7	33,0 ± 2,0 ^{от4}
Гемоглобин/ Hemoglobin, g/L	123,9 ± 2,7	140,7 ± 3,0 ^{от1}	178,0 ± 3,7 ^{от2}	140,0 ± 3,5	119,8 ± 6,9 ^{от4}
MCHC, g/L	233,3 ± 1,1	257,4 ± 7,0 ^{от1}	274,7 ± 5,2	257,5 ± 3,1	222,2 ± 2,9 ^{от4}
MCH, pg	14,7 ± 0,3	13,6 ± 0,3	18,2 ± 0,3	14,9 ± 0,5	12,9 ± 0,2 ^{от3}
Гематокрит/ Hematocrit, %	53,1 ± 1,1	55,1 ± 1,8	64,8 ± 0,8 ^{от2}	55,5 ± 1,8	53,9 ± 2,9
Тромбоциты/ Platelets, 10 ⁹ /L	696,9 ± 51,9	744,1 ± 19,1	520,2 ± 107,6	799,5 ± 50,8	1053,2 ± 99,4
Ср. объем тромбоцита/Avera ge platelet volume, fl	5,4 ± 0,04	5,5 ± 0,04	5,8 ± 0,2	5,9 ± 0,1	5,4 ± 0,07 ^{от4}
Тромбокрит / Thrombocrit, %	0,4 ± 0,03	0,4 ± 0,01	0,3 ± 0,06	0,45 ± 0,03	0,6 ± 0,05
P-LCR, %	4,7 ± 0,7	4,6 ± 0,6	5,9 ± 1,9	4,1 ± 0,5	2,0 ± 0,6 ^{от2}

Примечание: статистически значимые различия по t критерию Стьюдента для зависимых переменных величин в разных возрастных группах и у разных видов мышей при $p \leq 0,01$, $p \leq 0,05$: ^{от1} – отличие от 1 группы; ^{от2} – отличие от 2 группы; ^{от4} – отличие от 4 группы.

Note: statistically significant differences according to the Student's criterion for dependent variables in different age groups and in different types of mice at $p \leq 0,01$, $p \leq 0,05$: ^{from 1} – differences from group 1; ^{from 2} – differences from group 2; ^{from 4} – differences from group 4.

ные представлены в виде средних значений и их ошибок. Степень достоверности межгрупповых различий в разных возрастных группах и у разных видов мышей определяли по t критерию Стьюдента, статистически достоверными считались результаты при $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$. Все исследования проводили согласно «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации» (Приказ Министерства Российской Федерации от 2003 г.) и в соответствии с Правилами лабораторной практики (Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»), а также с учетом требований Международной Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным (1972 г.).

Результаты и обсуждение

Согласно данным литературы [2], в эксперименте (таблица) использованы три возрастные группы четырех видов лабораторных мышей: беспородные мыши (1-месячные), которые относятся к группе неполовозрелых, три следующие группы мышей (5-месячные, беспородные мыши, 5-месячные мыши линии СВА/Лас и 6–9-месячные мыши линии AF) – к группе половозрелых животных. Последняя группа мышей (DBA в возрасте 16 месяцев) составляет старшую возрастную группу. Масса тела мышей, по нашим данным (таблица), свидетельствует, что изменчивость в исследуемых возрастных группах не значительная, для взрослых мышей она может изменяться от 20 до 35 г, что согласуется с литературными данными [2, 10].

Если провести сопоставление возраста лабораторных мышей с возрастом человека, то исследования по данному вопросу достаточно противоречивы. Согласно современному обзору российских и зарубежных авторов [2,4,11], средняя продолжительность жизни мыши может составлять от 1 до 2,5 лет, для человека – 80 лет [4]. Однако следует учитывать, что такой подход является очень приблизительным и даже может быть вовсе неточным для животных с малой продолжительностью жизни (для грызунов), особенно на ранних сроках онтогенетического развития [12].

Для сравнительного анализа видов использовали гематологические параметры у четырех видов мышей. Как видно из таблицы, 1 группа – самые молодые животные, они отличаются по большинству показателей от групп половозрелых мышей этого же вида и других сравниваемых видов: есть различия в содержании форменных элементов крови у неполовозрелых молодых (1-месячных) и половозрелых (9-месячных) самцов беспородных мышей. У животных с достижением половозрелости достоверно растет количество эритроцитов при уменьшении среднего содержания гемоглобина в эритроците (MCV). При этом уровень гемоглобина и средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC) достоверно выше у последних.

Известно, что лейкоциты, циркулирующие в периферической крови, обуславливают оперативную защиту организма от чужеродных антигенных воздействий, количество их связано с уровнем резистентности организма [1,13]. Наши результаты показали, что у лабораторных мышей лейкоцитарный состав крови соответствует лимфоидному профилю крови [14], и содержание его является весьма лабильным показателем. Как видно из данных (см. таблицу), у 1 группы мышей (неполовозрелые беспородные) наблюдали снижение количества лейкоцитов, что является характерным для мышей раннего возраста и значительно отличалось от 2, 4 и 5 групп мышей ($p \leq 0,05$), у которых содержание лейкоцитов было близко к норме [2,13,15]. Низкий уровень лейкоцитов у неполовозрелых мышей свидетельствует о высокой уязвимости молодого организма, по сравнению с половозрелыми, и может отражать невысокий уровень и степень адаптации к различным воздействиям окружающей среды. Как правило, содержание лейкоцитов, гранулоцитов и средних клеток у них значительно ниже в среднем и колеблется от 1,7–2,3 до 5,5 раз (см. таблицу).

Изучение показателей красной крови во всех сравниваемых группах лабораторных мышей разного возраста и вида выявило не столь высокую изменчивость. Содержание эритроцитов, которые выполняют основную функцию – транспорт кислорода из легких к тканям и углекислоты от тканей в легкие, может быть достаточно лабильным. У молодых беспородных мышей этот показатель достоверно ниже (см. таблицу), чем у половозрелых этого же вида. Изменчивость его, по нашим данным, невысокая: уровень эритроцитов был в пределах от $8,5$ до $10,4 \times 10^9/\text{л}$, а значения гемоглобина изменялись несколько больше: от 119,8 до 178 г/л, начиная от 1 группы мышей (беспородные, 1-месячные) до 5 груп-

пы (старые мыши линии DBA, 16-месячные), что соответствует пределам нормы для лабораторных животных [2,6].

Гемоглобин относится к группе окрашенных белков – хромопротеидов, и функциональное значение его состоит в том, что он является молекулярной основой дыхательной функции крови [16]. Установлено, что уровень гемоглобина у 1-месячных беспородных мышей был значительно ниже, чем у половозрелых этого же вида, и ближе по своим значениям к группе старых животных (мыши линии DBA, 16-месячные), что свидетельствует о слабой дыхательной функции крови, как у месячных беспородных, так и у старых мышей линии DBA (см. таблицу). Это можно объяснить низким уровнем развития процессов адаптации на клеточном уровне у 1 группы мышей, что является характерным для молодого организма, а для старых животных (мыши линии DBA), наоборот, – сужением адаптивных реакций. С повышением возраста отмечали значимый рост содержания гемоглобина у 2 и 3 групп половозрелых мышей (5-месячные беспородные и 5-месячные мыши линии CBA/Lac), по сравнению с 1 группой (неполовозрелые, 1-месячные беспородные мыши) (см. таблицу). Эти значения по данному показателю были близки к норме для лабораторных животных. Однако мыши линии DBA, относящиеся по возрасту к старым животным (5 группа, 16-месячные), имели самое низкое содержание гемоглобина, достоверно значимое даже с предыдущей 4 группой (половозрелые мыши линии AF, см. таблицу), что свидетельствует о сужении адаптационных и регуляторных механизмов в клетках крови, характерных для животных в старости. Относительная устойчивость показателей красной крови у лабораторных мышей разных видов отмечена и в работах других исследователей [2,5].

Анализ значений гематокрита (см. таблицу) у сравниваемых групп мышей показывает невысокую изменчивость данного показателя, который варьирует от 53,1 до 64,8 %, что несколько выше нормы для лабораторных мышей (40–60 %). Количество тромбоцитов и их средний объем практически остаются по своим значениям на одном уровне во всех рассматриваемых пяти группах мышей, что свидетельствует о нормальном протекании процессов свертывания крови у интактных животных, характерных для здорового организма.

По данным литературы [17], достоинством линейных мышей, к которым можно отнести три последние группы (группы 3–5) и по возрасту – к половозрелым и старым животным, является то, что они в пределах одной линии гомозиготны и генетически однородны. Это обеспечивает воспроизводимость результатов и возможность их повторений в любой лаборатории и минимальную вариативность в ответ на экспериментальные воздействия, а также позволяет расходовать меньшее число животных для получения стандартной точности. Так, изменчивость в трех последних группах (см. таблицу) по таким показателям, как средний объем тромбоцитов – от 5,4 до 5,9 %, тромбоцит – от 0,4 до 0,6 %, уровень лейкоцитов колеблется незначительно – в пределах от 7,5 до $11,5 \times 10^9/\text{л}$.

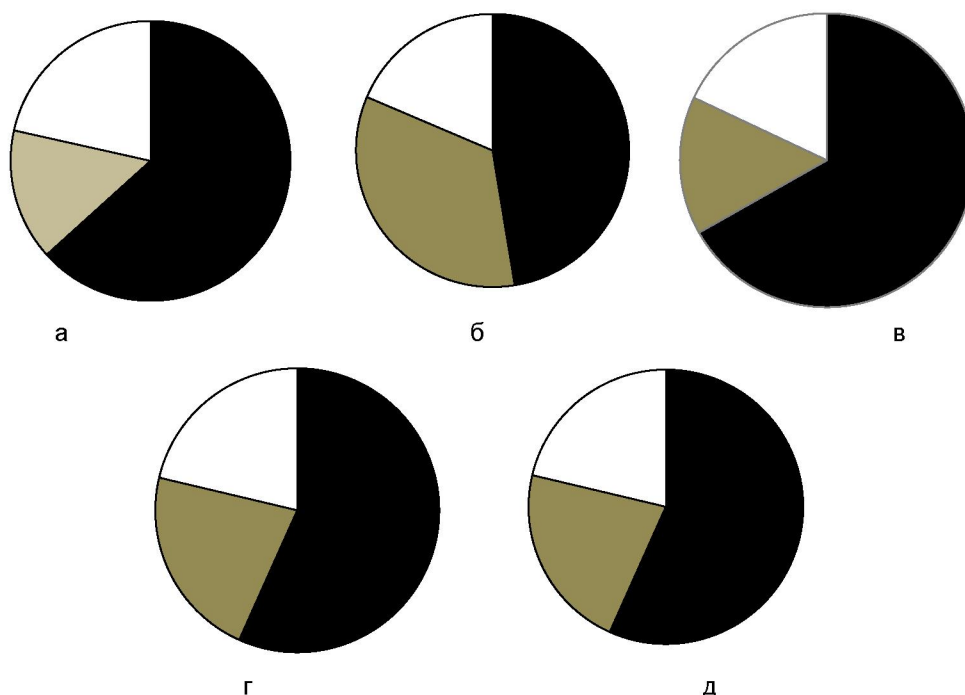


Рис. Показатели лейкоцитарной формулы разных видов лабораторных мышей:

а – беспородные мыши, 1-месячные; б – беспородные мыши, 5-месячные; в – CBA/lac, 5-месячные; г – AF, 6–11-месячные; д – DBA, 16-месячные.

Условные обозначения: белый – средние клетки; темно-серый – гранулоциты; черный – лимфоциты.

Fig. Indicators of the leukocyte blood count in males of different types of laboratory mice:

а – outbred mice, 1 month old; б – outbred mice, 5 months; в – CBA/lac, 5 months; г – AF, 6–11 months; д – DBA, 16 months.

Symbols: white – medium cells, dark gray – granulocytes, black – lymphocytes.

Лейкоциты играют важнейшую роль в организме – они обеспечивают защиту от различных вредных микроорганизмов, поглощая и обезвреживая чужеродные частицы. Лейкоцитарная формула крови дает представление только об относительных величинах, она имеет возрастные особенности, поэтому сдвиги ее должны оцениваться с позиций возрастной нормы [6]. По лейкоцитарной формуле крови 1, 3 и 4 группы мышей (рис. а, в, г) близки между собой (неполовозрелые беспородные мыши, половозрелые – линии CBA/lac и половозрелые мыши линии AF). Процентное содержание всех форм лейкоцитов у них одинаково по своим значениям и пропорциям. Отмечен общий признак: пул лимфоцитов самый высокий у 1 и 3 групп (неполовозрелые беспородные мыши и 5-месячные линии CBA/lac) (рис. а, в), у которых содержание лимфоцитов преобладало и составляло более 60 %. В остальных трех группах мышей (2, 4 и 5) этот показатель варьировал не очень сильно и имел значения в пределах от 47,4 до 56,7 %.

Содержание средних клеток, ответственных за неспецифический иммунный ответ и объединяющий моноциты, базофилы и эозинофилы, изменяется от 18 % у 5-месячных мышей линии CBA до 33 % у более старых (рис. б, г). У самой старшей возрастной группы (мыши линии DBA) (рис. д) содержание средних клеток, выполняющих защитную функцию, почти в 1,5 раза больше, чем у других сравниваемых групп животных. Количество гранулоцитов в среднем у всех групп мышей колеблется незначительно в пределах от 15,2 до 22 %. Лишь у 2

группы (беспородные мыши, 5-месячные) (рис. б) отмечали значимое повышение этого показателя в два раза по сравнению с 1-месячными мышами этого же вида.

Полученные данные свидетельствуют, что у половозрелых линейных мышей видов CBA/lac и AF в возрасте 5–11 месяцев отмечали проявление лимфоцитарно-эритроцитарного перекреста, что, вероятно, характеризует устойчивость и стабильность клеточного состава крови в этот период жизни мышей. Исходя из полученных показателей, можно полагать, что такая лейкоцитарная формула у всех сравниваемых видов лабораторных животных относительно стабильна и способствует защите организма от вредных факторов. В результате исследований выявлено, что большинство показателей крови данных видов лабораторных животных всех возрастных групп соответствовали, как правило, физиологической норме или были относительно близки показаниям, описанным ранее для лабораторных мышей [2,13]. Количество эритроцитов в крови у взрослых животных (белые мыши) в 1 мм³ крови колеблется от 8 до 11,0 [6].

Заключение

В работе были соблюдены основные стандарты, начиная от содержания животных и проведения анализа гематологических показателей. Исследования гематологических показателей у лабораторных мышей (самцов) разного вида и возраста показали их относительную стабильность и невысокую изменчивость. Установлены возрастные и ви-

довые различия в лейкоцитарной формуле и отдельных показателей крови лабораторных мышей. Подтверждено, что наиболее стабильны и менее изменчивы гематологические показатели у линейных видов мышей СВА/Лас, АF, DBA. В лейкоцитарной формуле наблюдали общие признаки и особенности в зависимости от возраста и вида животных. Для самых молодых (1-месячные) беспородных мышей отмечены отличия в отдельных показателях крови, что указывает на слабую, еще не развитую иммунную систему. Полученные данные расширяют и углубляют представления о влиянии возраста и вида лабораторных мышей на характер содержания и изменчивость отдельных форменных элементов крови разных видов лабораторных мышей, разводимых в Научной коллекции экспериментальных животных «УНУ» (<http://www.ckp-rf.ru/usu/> 471933) Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН. Лабораторных животных разных видов и возрастов, разводимых в стандартных условиях вивария, можно рекомендовать в выборе при проведении экспериментов и изучении закономерностей в медико-биологических исследованиях.

Работа выполнена в рамках темы НИР Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН «Механизмы биогенной миграции радионуклидов и закономерности возникновения отдаленных последствий, индуцированных у растений и животных в условиях хронического радиационного и химического воздействия», № ГР АААА-А18-1180111901 02-7.

Литература

1. Соколов В.Н., Грибова И.А. Гематологические показатели здорового человека. М.: Медицина, 1971. 104 с.
2. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных / Т.В. Абрашова, Я.А. Гушчин, М.А. Ковалева, А.В. Рыбакова и др; Под ред. В.Г. Макарова, М.Н. Макаровой. СПб.: Изд-во «ЛЕМА», 2013. 116 с.
3. Западнюк И.П., Западнюк И.В., Захария Е.А. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. 3-е изд. Киев: Вища школа, 1983. 383 с.
4. Соотношение возрастов основных лабораторных животных (мышей, крыс, хомячков и собак) и человека: актуальность для проблемы возрастной радиочувствительности и анализ опубликованных данных / А.Н. Котеров, Л.Н. Ушенкова, Э.С. Зубенкова, А.А. Байнсон, А.П. Бирюков // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2018. Т. 63. № 1. С.5–27. DOI: 10/12737/article-5a824a3908213.56647014
5. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. М.: Медицина, 2000. 544 с.
6. Амиров Д.Р., Тамимдаров Б.Ф., Шагеева А.Р. Клиническая гематология животных: Учебное пособие. Казань: Центр информационных технологий. КГАВМ, 2020. 134 с.
7. Влияние электромагнитного излучения промышленной частоты на гематологические по-

казатели периферической крови грызунов / В.С. Соловьев, А.Н. Жевновская, С.Н. Гашев, С.В. Соловьева // Принципы экологии. 2016. № 2 (18). С. 84–90.

8. Луговская С.А., Почтарь М.Е., Долгов В.В. Гематологические анализаторы. Интерпретация анализа крови: Методические рекомендации. М.–Тверь: ООО Изд-во «Триада», 2007. 112 с.
9. Лабораторные животные. М.: Наука, 1983. 417 с.
10. Flurkey K., Currer J.M., Harrison D.E. The mouse in aging research // The Mouse in Biomedical Research. 2nd Edition. Eds. J.G. Fox et al. American College Laboratory Animal Medicine. Burlington, MA: Elsevier. 2007. P.637– 672.
11. Dutta S., Sengupta P. Men and mice: relating their ages // Life Sci. 2016. Vol. 152. P. 244–248.
12. Вариабельность биохимических и гематологических показателей у лабораторных крыс в зависимости от линии и возраста / Т.В. Абрашова, А.П. Соколова, А.И. Селезнева, О.Э. Хуттунен, М.Н. Макарова, В.Г. Макаров // Международный вестник ветеринарии. 2010. № 2. С.55–60.
13. Никитин В.Н. Атлас клеток крови сельскохозяйственных и лабораторных животных. М.: Госиздат сельскохозяйственной литературы, 1949. 118 с.
14. Morton D.B., Abbot D., Barelay R. et al. Blood sampling in laboratory mammals and birds // Laboratory animals. 1993. Vol. 27. P. 1–22.
15. Иржак Л.И. Гемоглобин и их свойства. М.: Наука, 1975. 240 с.
16. Линии лабораторных животных для медико-биологических исследований / З.К. Бландова, В.А. Душкин, А.М. Малащенко, Е.Ф. Шмидт. М.: Наука, 1983. 191 с.
17. Оценка биологических эффектов электромагнитного поля радиочастотного диапазона низкой интенсивности на систему крови экспериментальных животных / Т.В. Шилкова, Д.З. Шибкова, Н.В. Ефимов, И.Д. Половик // Вестник Южно-Уральского государственного университета. 2011. № 7. С. 10–14.

References

1. Sokolov V.N., Gribova I.A. Gematologicheskiye pokazateli zdorovogo cheloveka [Hematological indicators of a healthy person]. Moscow: Medicine, 1971. 104 p.
2. Spravochnik. Fiziologicheskie, biohimicheskie i biometricheskie pokazateli normy eksperimental'nyh zhivotnyh [Handbook. Physiological, biochemical and biometric indicators of the norm of experimental animals] / T.V. Abrashova, Ya.A. Gushchin, M.A. Kovaleva, A.V. Rybakova et al; Eds. V.G. Makarov, M.N. Makarova. St. Petersburg: LEMA Publ., 2013. 116 p.
3. Zapadnyuk I.P., Zapadnyuk I.V., Zakhariya E.A. Laboratornye zhivotnye. Razvedenie, sodержanie, ispol'zovanie v eksperimente [Laboratory animals. Breeding, maintenance, use in

- the experiment]. 3rd edition. Kiev: Vyshcha shkola, 1983. 383 p.
4. Sootnoshenie vozrastov osnovnykh laboratornykh zhivotnykh (myshej, krysov, homyachkov i sobak) i cheloveka: aktual'nost' dlya problemy vozrastnoj radiochuvstvitel'nosti i analiz opublikovannykh dannyyh [The ratio of the ages of the main laboratory animals (mice, rats, hamsters and dogs) and man: relevance for the problem of age-related radiosensitivity and analysis of the published data] / A.N. Koterov, L.N. Ushenkova, E.S. Zubenkova, A.A. Vainson, A.P. Biryukov // *Medicinskaya radiologiya i radiacionnaya bezopasnost'* [Medical radiology and radiation safety]. 2018. Vol. 63. No. 1. P. 5–27. DOI: 10/12737/article-5a824a3908213.5 56647014
 5. Nazarenko G.I., Kishkun A.A. Klinicheskaya ocenka rezul'tatov laboratornykh issledovaniy [Clinical evaluation of laboratory research results]. Moscow: Medicine, 2000. 544 p.
 6. Amirov D.R., Tamimdarov B.F., Shageeva A.R. Klinicheskaya gematologiya zhivotnykh: Uchebnoe posobie [Clinical hematology of animals: textbook]. Kazan: Information Technology Center. Kazan State Academy of Veterinary Medicine, 2020. 134 p.
 7. Vliyaniye elektromagnitnogo izlucheniya promyshlennoy chastoty na gematologicheskie pokazateli perifericheskoy krovi gryzunov [Influence of electromagnetic radiation of industrial frequency on hematological parameters of peripheral blood of rodents] / V.S. Solovyev, A.N. Zhevnovskaya, S.N. Gashev, S.V. Solovyeva // *Principles of ecology*. 2016. No. 2 (18). P. 84–90.
 8. Lugovskaya S.A., Pochtar' M.E., Dolgov V.V. Gematologicheskie analizatory. Interpretatsiya analiza krovi: Metodicheskie rekomendatsii [Hematological analyzers. Interpretation of the blood test: Methodological recommendations]. Moscow–Tver: LLC “Triada” Publ., 2007. 112 p.
 9. Laboratornye zhivotnye [Laboratory animals]. Moscow: Nauka, 1983. 417 p.
 10. Flurkey K., Currer J.M., Harrison D.E. The mouse in aging research // *The Mouse in Biomedical Research*. 2nd edition. Eds. J.G. Fox et al. American College Laboratory Animal Medicine. Burlington, MA: Elsevier. 2007. P. 637–672.
 11. Dutta S., Sengupta P. Men and mice: relating their ages // *Life Sci*. 2016. Vol.152. P. 244–248.
 12. Variabel'nost' biohimicheskikh i gematologicheskikh pokazatelej u laboratornykh krysov v zavisimosti ot linii i vozrasta // *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii* [Variability of biochemical and hematological parameters in laboratory rats depending on the line and age] / T.V. Abrashova, A.P. Sokolova, A.I. Selezneva, O.E. Huttunen, M.N. Makarova, V.G. Makarov // *Int. J. of Veterinary Medicine*. 2010. No. 2. P. 55–60.
 13. Nikitin V.N. Atlas kletok krovi sel'skohozyajstvennykh i laboratornykh zhivotnykh. [Atlas of blood cells of agricultural and laboratory animals]. Moscow: State Publ. House of Agricultural Literature, 1949. 118 p.
 14. Morton D.B., Abbot D., Barelay R. et al. Blood sampling in laboratory mammals and birds // *Laboratory animals*. 1993. Vol. 27. P. 1–22.
 15. Irzhak L.I. Gemoglobin i ih svoystva [Hemoglobin and their properties]. Moscow: Nauka, 1975. 240 p.
 16. Linii laboratornykh zhivotnykh dlya medikobiologicheskikh issledovaniy [Lines of laboratory animals for medical and biological research] / Z.K. Blandova, V.A. Dushkin, A.M. Malashenko, E.F. Shmidt Moscow: Nauka, 1983. 191 p.
 17. Ocenka biologicheskikh effektivov elektromagnitnogo polya radiochastotnogo diapazona nizkoj intensivnosti na sistemu krovi eksperimental'nykh zhivotnykh [Evaluation of the biological effects of the electromagnetic field of the low-intensity radio frequency range on the blood system of experimental animals] / T.V. Shilkova, D.Z. Shibkova, N.V. Efimov, I.D. Polovik // *Bull. of the South Ural State Univ*. 2011. No. 7. P. 10–14.

Статья поступила в редакцию 30.08.2021.

УДК 599.323.4:591.16:612.014.482.4
DOI 10.19110/1994-5655-2021-5-20-28

Н.Н. СТАРОБОР, О.В. РАСКОША
РЕПРОДУКТИВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ
МЫШЕЙ ЛИНИИ АF
ПОСЛЕ ХРОНИЧЕСКОГО
ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ

*Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
г. Сыктывкар*

*starobor@ib.komisc.ru,
raskosha@ib.komisc.ru*

N.N. STAROBOR, O.V. RASKOSHA
REPRODUCTIVE PARAMETERS
IN AF MICE AFTER CHRONIC LOW-DOSE
GAMMA RADIATION

*Institute of Biology, Federal Research Centre
Komi Science Centre, Ural Branch, RAS,
Syktyvkar*

Аннотация

В статье представлены результаты изучения репродуктивных показателей мышей линии Af после хронического низкоинтенсивного гамма-облучения в суммарных накопленных дозах 10, 20 и 30 сГр. Обнаружены увеличение плодовитости у самок и повышение содержания сперматозоидов в эпидидимисах самцов после радиационного воздействия в диапазоне малых доз. У родителей, облученных в дозах 20 и 30 сГр, выявлено повышение ранней постнатальной смертности детенышей F₁, тем не менее, репродуктивный индекс, рассчитанный с учетом выживших детенышей в течение первого месяца жизни, подтверждает стимулирующее действие ионизирующего излучения в исследуемом диапазоне доз на плодовитость животных.

Ключевые слова:

ионизирующее излучение, малые дозы, мыши, семенники, плодовитость

Abstract

The results of the study of reproductive parameters in Af mice after chronic low-intensity γ -radiation at doses of 10, 20 and 30 cGy are presented. Males and females of the experimental groups were exposed to external γ -radiation (0.474×10^6 and 0.451×10^6 kBq²²⁶Ra) for 29, 56 and 84 days, at an average dose rate of 150 μ Sv/h. Immediately after the end of radiation exposure, pairs for animal reproduction were formed in the experimental and control groups. During the next three months, the number of females participating in reproduction, the number of litters and the number of cubs born were recorded in each group, and the early postnatal mortality of cubs (F₁) was also estimated. In addition, radiation effects in male germ cells were studied 4 months after the termination of radiation exposure. The obtained results showed an increase in the number of cubs per female (at doses of 10–30 cGy) and the number of cubs in the litter (at doses of 20 and 30 cGy). It should be noted that the number of cubs in litters increased in females fertilized in the first 2–3 days after the end of radiation exposure, while after fertilization of females 40 or more days after irradiation, no statistically significant differences with the control group were found. The effect of stimulation in the germ cells of males was manifested in an increased content of spermatozoa in the epididymis of animals after radiation exposure at a dose of 30 cGy. An increase in the early postnatal mortality of cubs (F₁) was detected in parents exposed to doses of 20 and 30 cGy, however, the reproductive index calculated taking into account the surviving cubs for the first month of life confirms the stimulating effect of ionizing radiation in the studied dose range on the fertility of animals.

Keywords:

ionizing radiation, low-doses, mice, testes, fertility

Введение

Оценка биологических эффектов действия ионизирующего излучения в малых дозах и прогнозирование последствий антропогенного воздействия на биоту уже многие годы не теряют своей актуальности в связи с увеличением числа территорий с повышенным радиационным фоном. В природных условиях на биологические объекты действует комплекс экологически значимых факторов, поэтому сложно выделить собственно эффект облучения. Кроме того, миграционная активность мелких млекопитающих также влияет на точность оценки дозовой нагрузки. Одним из выходов из подобной ситуации является проведение хронических экспериментов в лабораторных условиях с известной поглощенной объектом дозой.

Важным показателем благополучия организма в техногенно загрязненной среде является его способность к воспроизводству. Во многих работах показано, что наибольшую опасность представляют радиационно-индуцированные повреждения гамет, совместимые с их жизнеспособностью, которые могут передаваться потомству [1–6]. К настоящему времени имеется большое количество экспериментальных работ, где подробно описаны радиационно-индуцированные эффекты в органах репродуктивной системы, развивающиеся в ответ на однократное облучение, в том числе и в малых дозах [7–9]. Возможные особенности таких эффектов при длительном низкоинтенсивном радиационном воздействии в научной литературе представлены лишь в единичных исследованиях [10]. Следует отметить, что для большинства тканей однократное облучение в определенной дозе вызывает большее лучевое поражение, чем облучение в той же дозе, но осуществляемое в течение длительного временного периода. Семенники, по-видимому, являются единственным исключением из общего правила: суммарная доза облучения, полученная в несколько приемов, для них более, а не менее опасна, чем та же доза, полученная за один прием [11].

Цель работы – изучить показатели размножения мышей линии Af после хронического внешнего γ -облучения в суммарных накопленных дозах 10, 20 и 30 сГр. Для достижения цели были поставлены следующие задачи: 1) проанализировать репродуктивные показатели у самок, подвергнутых хроническому облучению в диапазоне малых доз; 2) оценить плодовитость у самок в зависимости от времени, прошедшего после окончания радиационного воздействия; 3) исследовать состояние сперматогенеза в отдаленный период после хронического γ -облучения самцов.

Материал и методы

В работе были использованы половозрелые мыши линии Af (самцы ($n = 50$) и самки ($n = 65$)) в

возрасте на начало эксперимента 2–3 месяца и массой тела 22–25 г и их потомки ($n=335$). Животных содержали в поликарбонатных клетках (размер 35×22×90 см, Tecniplast, Италия) в условиях климатического комфорта (температура $\approx 20\text{--}22^\circ\text{C}$ и влажность воздуха $50\pm 5\%$) со стандартным рационом питания на основе брикетированных кормов, со свободным доступом к воде и пище в УНУ «Научная коллекция экспериментальных животных» Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (<http://www.ckrf.ru/usu/471933/>). При работе руководствовались этическими правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г., подтверждена в 15.06.2006 г.), и требованиями международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным для экстирпации органов [12].

Путем случайной выборки мыши были разделены на контрольную и опытные группы. Животных опытных групп (самцы и самки) подвергали общему внешнему воздействию γ -излучения от двух источников ^{226}Ra , разнесенных на расстояние 2.5 м и содержащих 0.474×10^6 и 0.451×10^6 кБк ^{226}Ra в течение 29, 56 и 84 суток при средней мощности дозы 150 мкЗв/ч. В результате суммарные поглощенные дозы у животных опытных групп составили соответственно 10, 20 и 30 сГр. Суммарную поглощенную дозу облучения животных определяли по показаниям термолюминесцентных дозиметров (ДТУ-01) с детекторами ДТГ-4 (LiF) на дозиметрической установке ДВГ-02ТМ (НПП «Доза», Россия). Контролем служили мыши аналогичного возраста и пола, содержавшиеся при нормальном радиационном фоне (0.08–0.10 мкЗв/ч).

Сразу после окончания радиационного воздействия во всех опытных группах формировали пары для размножения животных. Мыши контрольной группы были посажены на размножение одновременно с опытными группами животных. В течение последующих трех месяцев после окончания облучения в каждой группе регистрировали число самок, участвующих в размножении, число пометов и количество рожденных детенышей, также оценивали раннюю постнатальную смертность детенышей (F_1). Вычисляли репродуктивный индекс – отношение числа выживших в течение первых 30 суток жизни детенышей к общему числу животных в группе, который характеризует потенциальную способность животных к увеличению их численности [13]. Кроме того, анализировали плодовитость самок, оплодотворенных самцами сначала в первые два–три дня, а потом через 40 и более суток после окончания радиационного воздействия. При выборе времени оплодотворения самок учитывали, что весь период сперматогенеза у самцов мышей длится в среднем 34–36 суток [14]. Поэтому в первые два–три дня оплодотворение самок происходило половыми клетками самцов, развивающимися в условиях постоянной радиационной нагрузки, а в отдаленный период (через 40 и более суток после окончания облучения) самки были оплодотворены самцами, у которых сперматогенез проходил в условиях нормального радиационного фона.

Пострадиационные эффекты в мужских половых клетках исследовали через четыре месяца после прекращения облучения и периода размножения животных. Предварительно взвешенных самцов подвергали декапитации, выделяли семенники и придатки (эпидидимисы). Абсолютную массу семенников оценивали с точностью до 1 мг с последующим расчетом относительной массы. Ткань семенников животных использовали для получения суспензии сперматогенных клеток, в которой после добавления 5 %-ной уксусной кислоты с генциан-виолеттом подсчитывали количество сперматогоний, сперматоцитов, сперматид и сперматозоидов [15]. Подсчет числа сперматозоидов, выделенных из эпидидимиса, проводили в суспензии, окрашенной 1 %-ным раствором эозина [16]. Количество сперматогенных клеток и эпидидимальных сперматозоидов определяли в камере Горяева с использованием светового микроскопа (Micros, Austria) при

чение плодовитости мышей позволило выявить статистически значимое повышение числа детенышей на самку (при всех дозах облучения) и числа детенышей в помете (при дозах 20 и 30 сГр). У самок, облученных в дозах 20 и 30 сГр, были зарегистрированы многоплодные пометы, состоящие из семи-девяти детенышей, тогда как у контрольных животных и животных, облученных в минимальной дозе (10 сГр), число детенышей, рожденных в одном помете, не превышало шести особей (рис. 1). Данные, полученные нами ранее на полевках-экономках из природных популяций, также показали увеличение числа пометов и общего количества рожденных детенышей у самок, обитающих на радиационно-загрязненном участке по сравнению с контрольными самками [19].

Результаты, полученные по плодовитости животных, проанализированные в зависимости от времени, прошедшего после окончания радиацион-

Таблица 1

Показатели размножения самок и доля погибших детенышей у мышей линии Af после хронического γ -облучения в малых дозах

Table 1

Reproduction rates of females and the proportion of dead cubs in Af mice after chronic low-dose γ -irradiation

Группа животных	Доля размножающихся самок, %	Число пометов на самку	Число детенышей в помете	Число детенышей на самку	Доля погибших детенышей, %	Репродуктивный индекс, усл. ед.
Контроль	76.2	1.1 \pm 0.2	4.1 \pm 0.3	4.3 \pm 0.5	6.7	0.4
10 сГр	87.5	1.4 \pm 0.3	4.7 \pm 0.3	6.5 \pm 0.9*	3.8	1.6
20 сГр	87.5	1.1 \pm 0.2	6.1 \pm 0.8*	6.9 \pm 0.4***	21.8*	1.4
30 сГр	78.3	1.1 \pm 0.1	6.0 \pm 0.4**	6.5 \pm 0.6**	12.8	1.8

Примечание: различия с контролем статистически значимы при * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Note: the differences with the control are statistically significant at * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.01$.

увеличении ок. $12.5 \times$ об. 40. Уровень нарушений в половых клетках самцов оценивали по частоте встречаемости аномальных головок сперматозоидов на воздушно-сухих мазках эпидидимальных сперматозоидов, окрашенных 1 %-ным раствором эозина (у каждого животного анализировали по 500 клеток) [17, 18]. Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего, а также в виде долевых показателей (%). Статистическую значимость различий между опытными и контрольными группами определяли с помощью критерия Стьюдента, для проверки равенства долей применяли угловую преобразователь Фишера.

Результаты и обсуждение

Результаты проведенного эксперимента показали, что доля размножающихся самок во всех опытных группах была в пределах контрольных значений, при этом после облучения в дозах 10 и 20 сГр отмечена тенденция к увеличению на 11 % числа самок, вступивших в размножение, по сравнению с не облученными самками (табл. 1). Изу-

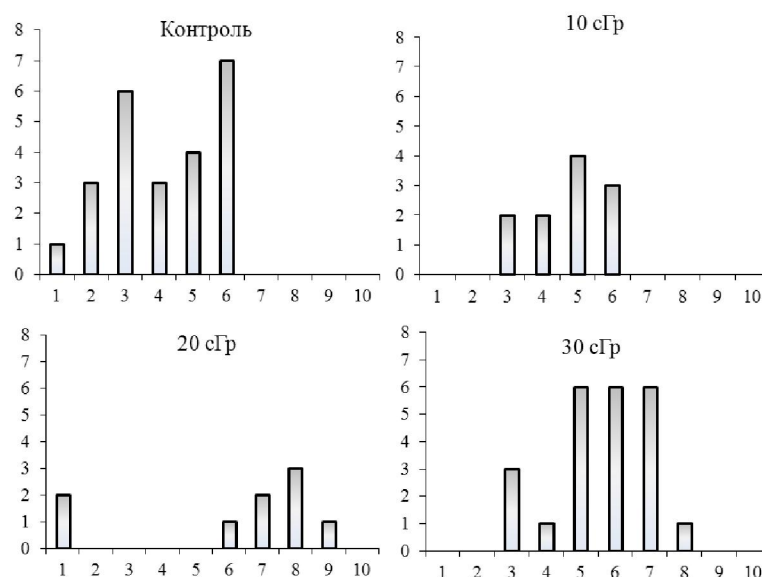


Рис. 1. Число детенышей в пометах у мышей линии Af после хронического γ -облучения в малых дозах за три месяца размножения. Примечание: по оси абсцисс – число детенышей; по оси ординат – число пометов.

Fig. 1. The number of cubs in the litters of Af mice after chronic low-dose γ -irradiation for three months of reproduction.

Note: the abscissa is the number of cubs; the ordinate is the number of litters.

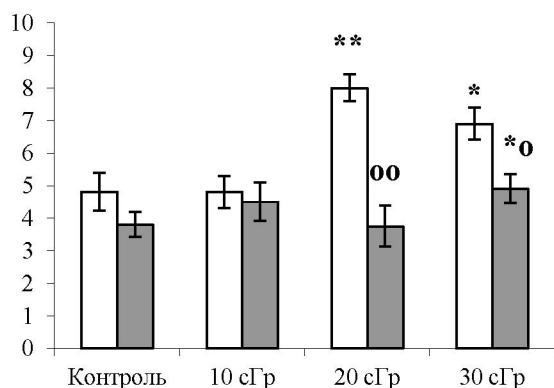


Рис. 2. Среднее число детенышей в пометах (по оси ординат) у самок, оплодотворенных в первый–третий дни (светлые столбики) и через 40 и более дней (темные столбики) после окончания хронического γ -облучения в малых дозах.

Примечание: различия статистически значимы с контролем при * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; в пределах группы при ° – $p < 0.05$ и °° – $p < 0.01$.

Fig. 2. Average number of cubs in litters (on the ordinate) in females fertilized on the first or third day (light bars) and 40 or more days (dark bars) after the end of chronic low-dose γ -irradiation.

Note: the differences with the control are statistically significant at * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; within the group at ° – $p < 0.05$ and °° – $p < 0.01$.

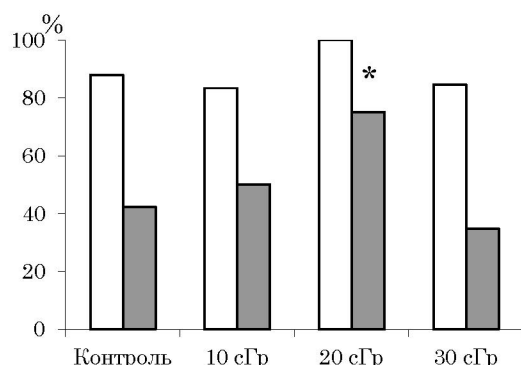


Рис. 3. Доля облученных самцов (светлые столбики) и самок (темные столбики), доживших до возраста 9–10 месяцев.

Примечание: различия статистически значимы при * – $p < 0.05$.

Fig. 3. The proportion of irradiated males (light bars) and females (dark bars) surviving to the age of 9–10 months.

Note: the differences are statistically significant at * – $p < 0.05$.

ного воздействия, позволили выявить, что у самок, облученных в дозах 20 и 30 сГр и оплодотворенных в первые два–три дня после спаривания, среднее число детенышей в пометах было статистически значимо выше контроля ($p < 0.05$) (рис. 2). Однако, если оплодотворение самок, облученных в этих же дозах, происходило через 40 и более дней после прекращения действия ионизирующего излучения, то среднее число детенышей в помете было приближено к контролю, достоверно снижаясь по сравнению с предыдущим периодом в 2.0 и 1.4 раза соответственно ($p < 0.05$). При минимальной дозе облучения животных (10 сГр) как в ранний, так и в отдаленный периоды после окончания радиационного

воздействия, среднее число детенышей в пометах существенно не изменялось. Стимулирующее действие ионизирующего излучения как в остром, так и в хроническом режимах как феномен гиперовуляции у животных было описано в ряде работ [20–24].

Воздействие ионизирующего излучения на гонады млекопитающих может привести к нарушениям пренатального и постнатального развития потомства [7–9, 25]. На полевках-экономках, привезенных с радиоактивно загрязненного участка, было показано, что стимуляция интенсивности размножения является компенсацией высокой эмбриональной и постэмбриональной смертности детенышей [19]. В экспериментах на крысах линии Вистар получены данные о том, что при участии в оплодотворении двух облученных родителей увеличение гибели потомства первого поколения наблюдается именно в области малых доз ионизирующего излучения (25–50 сГр) [7]. Результаты, проведенного нами эксперимента на мышах линии Af, также позволили выявить повышение ранней постнатальной смертности детенышей первого поколения, родители которых были подвергнуты хроническому γ -облучению в дозах 20 и 30 сГр по сравнению с контролем (соответственно в 3.2 ($p < 0.01$) и в 1.9 раза). При минимальной дозовой нагрузке на животных (10 сГр) прослежена тенденция к понижению (в 1.7 раза) ранней постнатальной смертности детенышей (см. табл. 1). Отметим, что у мышей, облученных в дозах 20 и 30 сГр, наблюдали случаи инфантицида, т. е. умерщвление родителем новорожденных детенышей, чего не отмечали у животных, облученных в минимальной из используемых доз и контрольной группе. В животном мире инфантицид считается одним из демографических механизмов регулирования численности популяции [26]. Репродуктивный индекс, рассчитанный с учетом выживших детенышей в течение первого месяца жизни, был во всех опытных группах в четыре–пять раз выше контроля, что подтверждает стимулирующее действие ионизирующего излучения в исследуемых дозах на плодовитость животных (см. табл. 1).

К возрасту 9–10 месяцев, когда начинается снижение репродуктивной активности мышей, доживало больше самцов, чем самок, как в опытных, так и в контрольной группах (рис. 3). Это можно связать с участием самок в размножении и последующей заботе о потомстве, которое требует больших энергетических затрат [27, 28]. Следует отметить, что по сравнению с контрольными животными максимальное число доживших до анализируемого возраста мышей зафиксировано после облучения в дозе 20 сГр, причем для самок это различие было статистически значимым ($p < 0.05$).

Оценка состояния мужских половых клеток через четыре месяца после хронического γ -облучения животных в диапазоне доз 10–30 сГр показала, что относительная масса семенников и частота встречаемости аномальных головок сперматозоидов были в пределах контрольных значений (табл. 2). Содержание сперматогенных клеток, находящихся на различных стадиях дифференцировки, в семенниках мышей опытных групп также статистически значимо не отличалось от контроля, тем не менее, обращают на себя внимание некоторые тен-

денции к изменению клеточного состава тестикулярной ткани в зависимости от радиационной нагрузки (рис. 4). Так, у самцов, облученных в дозе 20 сГр, наблюдались признаки торможения начального этапа сперматогенеза – число сперматогоний снижено на 17 % по сравнению с нормой, тогда как у самцов, подвергнутых воздействию ионизирующего излучения в дозах 10 и 30 сГр, клеточный состав

плодовитости самок, подвергнутых хроническому внешнему γ -облучению в малых дозах, которое проявлялось в увеличении числа детенышей на самку (при дозах 10–30 сГр) и числа детенышей в помете (при дозах 20 и 30 сГр). При этом обнаружено, что среднее число детенышей в пометах увеличивалось у самок, оплодотворенных в первые два–три дня после окончания радиационного воздейст-

Таблица 2

Морфофизиологическое состояние репродуктивной системы у самцов мышей линии Af через четыре месяца после хронического γ -облучения в малых дозах

Table 2

Morphophysiological state of the reproductive system in male Af mice 4 months after chronic low-dose γ -irradiation

Группа животных	Масса животных, г	Относительная масса семенников, %	Аномальные головки сперматозоидов, %	Количество эпидидимальных сперматозоидов, $\times 10^6$
Контроль	24.9 \pm 0.6	3.3 \pm 0.1	2.6 \pm 0.2	13.5 \pm 1.6
10 сГр	33.3 \pm 2.0	2.9 \pm 0.2	3.4 \pm 0.4	18.2 \pm 2.4
20 сГр	27.3 \pm 0.6	3.2 \pm 0.1	2.3 \pm 0.3	11.9 \pm 1.9
30с Гр	27.6 \pm 1.4	3.4 \pm 0.1	2.2 \pm 0.2	19.8 \pm 2.2*

Примечание: различия статистически значимы с контролем при * – $p < 0.05$.

Note: the differences with the control are statistically significant at * – $p < 0.05$.

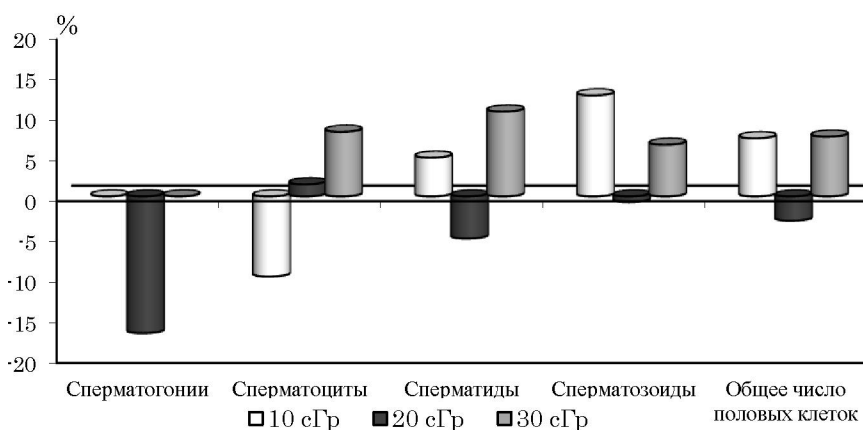


Рис. 4. Число сперматогенных клеток (по оси ординат % от контроля) в тестикулярной ткани у самцов мышей линии Af через четыре месяца после хронического γ -облучения в малых дозах.

Fig. 4. The number of spermatogenic cells (on the ordinate, % of the control) in testicular tissue in male Af mice 4 months after chronic low-dose γ -irradiation.

ткани сперматогенного эпителия превышал контрольные значения на 7 %. Схожая закономерность была отмечена и в числе зрелых половых клеток в эпидидимисах – тенденция к снижению сперматозоидов на 12 % после дозы 20 сГр и усиление продукции зрелых половых клеток у самцов, облученных в минимальной и максимальной дозах по сравнению с контролем (соответственно на 34 и 47 % ($p < 0.05$)). Число сперматозоидов является одним из показателей, характеризующих оплодотворяющую способность спермы [29]. При изучении действия радиации в малых дозах на организм нередко обнаруживают стимулирующий эффект, в том числе и на сперматогенную функцию [10, 30].

Заключение

Результаты эксперимента, проведенного на мышцах линии Af, свидетельствуют о повышении

плодовитости самок, подвергнутых хроническому внешнему γ -облучению в малых дозах, которое проявлялось в увеличении числа детенышей на самку (при дозах 10–30 сГр) и числа детенышей в помете (при дозах 20 и 30 сГр). При этом обнаружено, что среднее число детенышей в пометах увеличивалось у самок, оплодотворенных в первые два–три дня после окончания радиационного воздействия, когда половые клетки животных, вступивших в размножение, развивались в условиях постоянной радиационной нагрузки. Если половые клетки самцов опытных групп проходили стадии дифференцировки в условиях нормального радиационного фона, то повышения плодовитости у облученных самок, вступивших в размножение с такими самцами (через 40 и более суток после облучения), не наблюдалось. Установлено повышение ранней постнатальной смертности детенышей первого поколения у родителей, облученных в дозах 20 и 30 сГр, тем не менее, репродуктивный индекс, рассчитанный с учетом выживших детенышей в

течение первого месяца жизни, подтверждает стимулирующее действие ионизирующего излучения в исследуемых дозах на плодовитость животных. В отдаленный период после радиационного воздействия в половых клетках самцов выявлен эффект стимуляции, проявляющийся в повышенном содержании сперматозоидов в эпидидимисах животных после γ -облучения в дозе 30 сГр. Перспективным является продолжение исследований в этом направлении с подробным изучением состояния сперматогенеза в зависимости от времени, прошедшего после окончания хронического радиационного воздействия. Оценка репродуктивной способности животных после воздействия ионизирующего излучения в малых дозах в хроническом режиме, когда облучению подвергались половые клетки на всем цикле гаметогенеза, имеет важное практическое значение в связи с аналогичностью

циклов гаметогенеза у животных и человека для прогнозирования отдаленных эффектов и выявления риска для репродукции.

Авторы выражают благодарность д.б.н. О.В. Ермаковой за ценные замечания при работе над текстом статьи.

Исследования выполнены в рамках госзадания по теме «Механизмы биогенной миграции радионуклидов и закономерности возникновения отдаленных последствий, индуцированных у растений и животных в условиях хронического радиационного и химического воздействия» ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (№ АААА-А18-118011190102-7).

Литература

1. Evaluation of DNA Damage in Different Stages of Mouse Spermatogenesis after Testicular X-Irradiation / E. Cordelli, A.M. Fresegna, G. Leter, P. Eleuteri, M. Spanm, P. Villani // Radiat. Res. 2003. Vol. 160. № 4. P. 443–451. DOI: 10.1667/rr3053
2. Воробцова И.Е. Трансгенерационная передача радиационно-индуцированной нестабильности генома // Радиационная биология. Радиоэкология. 2006. Т. 46. № 4. С. 441–446.
3. Палыга Г.Ф., Чибисова О.Ф. Последствия для потомства двух поколений облучения беременных самок крыс Вистар в малых дозах в период закладки репродуктивной системы плодов. Развитие потомства второго поколения и его репродуктивная функция // Радиационная биология. Радиоэкология. 2006. Т. 46. № 4. С. 494–497.
4. Фоменко Л.А., Ломаева М.Г., Безлепкин В.Г. Геномная нестабильность, выявляемая микроядерным тестом, у потомства F₁ – подвергнутых воздействию ионизирующей радиации // Радиационная биология. Радиоэкология. 2006. Т. 46. № 4. С. 431–435.
5. Агаджанян А.В. Изучение трансгенерационного феномена геномной нестабильности у детей – потомков облученных родителей в результате аварии на ЧАЭС: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: РУДН, 2008. 21 с.
6. Карпенко Н.А., Ларьяновская Ю.Б. Плодовитость облученных в малых дозах самцов крыс и тератогенные эффекты у их потомства // Проблемы здоровья и экологии. 2012. № 1 (31). С. 125–130.
7. Нефедов И.Ю., Нефедова И.Ю., Палыга Г.Ф. Генетические последствия облучения одного и обоих родителей (результаты экспериментов на крысах линии Вистар) // Радиационная биология. Радиоэкология. 2001. Т. 41. № 2. С. 133–136.
8. Дергулев А.А. Сравнительная оценка последствий облучения самцов крыс в нестерилизующих дозах в онтогенезе двух поколений их потомства: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Обнинск: Медицинский радиологический научный центр, 2013. 16 с.
9. Мамина В.П. Радиационный риск эмбриональной гибели в различных стадиях развития половых клеток мышей-самцов после низкодозного радиационного облучения // Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). 2019. Т. 28. № 3. С. 54–62.
10. Морфофункциональное состояние репродуктивной системы крыс-самцов после хронического низкоинтенсивного облучения в дозе 1.0 Гр / Е.Ф. Конопля, Г.Г. Верещако, А.М. Ходосовская, В.Н. Рыбаков, О.В. Артеменко // Радиационная биология. Радиоэкология. 2002. Т. 42. № 2. С. 136–140.
11. Радиация. Дозы, эффекты, риск: Пер. с англ. Ю.А. Банникова. М.: Мир, 1990. 79 с.
12. Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (ETS N 123). Страсбург, 1986.
13. Reproductive characteristics of the Yangtze vole (*Microtus Fortis Calamorum*) under laboratory feeding conditions / M. Zhanga, Q. Hana, G. Shena, Y. Wang, B. Lia, C. Guob, X. Zhou // Animal Reproduction Science. 2016. Vol. 164. P. 64–71.
14. Oakberg E.F. Duration of spermatogenesis in the mouse and timing of stages of the cycle of the seminiferous epithelium // Amer. J Anat. 1956. Vol. 99. P. 507–516.
15. Мамина В.П., Семенов Д.И. Метод определения количества сперматогенных клеток семенника в клеточной суспензии // Цитология. 1976. Т. 18. № 7. С. 913–914.
16. Осадчук Л.В. Параметры сперматогенеза и продукция тестостерона при половом созревании как предикторы функциональной активности семенников у лабораторных мышей (*Mus Musculus*) // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2016. Т. 52. № 6. С. 423–428.
17. Soares E.R., Sheridan W., Segall M. Increased frequencies of aberrant sperm as indicators of mutagenic damage in mice // Mutation Research. 1979. Vol. 64. № 1. P. 27–35.
18. Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog: A consensus re-port / J. Seed, R.E. Chapin, E.D. Clegg, L.A. Dostal, R.H. Foote, M.E. Hurtt, G.R. Klinefelter, S.L. Makris, S.D. Perreault, S. Schrader, D. Seyler, R. Sprando, K.A. Treinen, D.N. Veeramachaneni, L.D. Wise // Reprod. Toxicol. 1996. Vol. 10. P. 237–244. DOI: 10.1016/0890-6238(96) 00028-7
19. Effects of Chronic Low-Intensity Irradiation on Reproductive Parameters of the Root Vole (*Alexandromys oeconomicus*): Responses of Parents and Offspring / O.V. Ermakova, L.A. Bashlykova, O.V. Raskosha, N.N. Starobor // Russian Journal of Ecology. 2020. Vol. 51. №. 3. P. 242–249. DOI: 10.1134/S106741362003 0066
20. Шахдинарова Л.В. Радиочувствительность ооцитов млекопитающих в онтогенезе и ее модификация мексамином и гипоксической гипоксией: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Обнинск: ВНИИСХР, 1989. 22 с.

21. Неведов И.Ю., Палыга Г.Ф. Лучевые эффекты в онтогенезе потомства одного или обоих облученных родителей // Радиационная биология. Радиоэкология. 1995. Т. 35. № 3. С. 375–380.
22. Пак В.В. Реакция организма кур на действие ионизирующих излучений: Дис... докт. биол. наук. М., 2001. 355 с.
23. Twinning in the offspring of parents with chronic radiation exposure from nuclear testing in Kazakhstan / N. Mudie, A. Swerdlow, B. Gusev, M. Schoemaker, L. Pivina, S. Chsherbakova, A. Mansarina, S. Bauer, Y. Jakovlev, K. Apsalikhov // Radiation Research. 2010. Vol. 173. P. 829–836. DOI: 10.1667/RR1 722.1
24. Пастухова Е.И., Шалагинов С.А., Аксеев А.В. Частота многоплодных родов у женщин, подвергшихся хроническому радиационному воздействию в населенных пунктах на р. Тече // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2011. Т. 55. № 3. С. 29–36.
25. Федосенко О.Л., Зайцева О.А. Влияние радиоэкологического фактора на репродуктивную систему и клетки костного мозга крыс-самцов в ряду поколений // Радиация и Чернобыль: Ближайшие и отдаленные последствия. 2007. Т. 4. С. 117–120.
26. Lukas D., Huchard E. The evolution of infanticide by males in mammalian societies // Science. 2014. Vol. 346. P. 841–844. DOI: 10.1126/science.1257226
27. Oswald C., McClure P.A. Energy allocation during concurrent pregnancy and lactation in Norway rats with delayed and undelayed implantation // J. Exp. Zool. 1987. Vol. 241. P. 343–357.
28. Назарова Г.Г., Евсиков В.И. Влияние физического состояния матери в период беременности и лактации на постнатальный рост и репродуктивный успех потомков водяной полевки (*Arvicola terrestris* L.) // Онтогенез. 2008. Т. 39. № 2. С. 125–133.
29. Guzick D., Overstreet J., Factor-Litvak P. Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men // N. Engl. J. Med. 2001. Vol. 345. P. 1388–1393.
30. Мамина В.П. Изменение уровня половых гормонов, циклических нуклеотидов и пролиферативной активности сперматогонияльных клеток у лабораторных мышей при воздействии облучения в малых дозах // Цитология. 2018. Т. 60. № 2. С. 122–127.
31. Неведов И.Ю., Палыга Г.Ф. Лучевые эффекты в онтогенезе потомства одного или обоих облученных родителей // Радиационная биология. Радиоэкология. 2006. Vol. 46. № 4. P. 441–446.
32. Palyga G.F., Chibisova O.F. Posledstviya dlya potomstva dvuh pokolenij oblucheniya beremennyyh samok krysa Vistar v malyyh dozah v period zakladki reproduktivnoy sistemy plodov. Razvitiye potomstva vtorogo pokoleniya i ego reproduktivnaya funkciya [Consequences for the offspring of two generations of low-dose irradiation of pregnant female Wistar rats during the formation of the fetal reproductive system. Development of the second generation offspring and its reproductive function] // Radiation biology. Radioecology. 2006. Vol. 46. № 4. P. 494–497.
33. Fomenko L.A., Lomaeva M.G., Bezlepkin V.G. Genomnaya nestabil'nost', vyyavlyayemaya mikroymadernym testom, u potomstva F1 – podvergnutykh vozdeystviyu ioniziruyushchey radiatsii [Genomic instability detected by a micronuclear test in F₁ offspring exposed to ionizing radiation] // Radiation biology. Radioecology. 2006. Vol. 46. № 4. P. 431–435.
34. Agadzhanian A.V. Izuchenie transgeneratsionnogo fenomena genomnoy nestabil'nosti u detey – potomkov obluchennykh roditel'ey v rezul'tate avarii na ChAES [Study of the transgenerational phenomenon of genomic instability in children – descendants of irradiated parents as a result of the Chernobyl accident]: Abstract of Diss. ... Cand. Sci (Biology). Moscow: Peoples' Friendship University of Russia, 2008. 21 p.
35. Karpenko N.A., Laryanovskaya Yu.B. Plodovitost' obluchennykh v malyyh dozah samcov krysa i teratogennyye efekty u ih potomstva [Fertility of male rats exposed to low doses and teratogenic effects in their offspring] // Health and environmental problems. 2012. № 1 (31). P. 125–130.
36. Nefedov I.Yu., Nefedova I.Yu., Palyga G.F. Geneticheskiye posledstviya oblucheniya odnogo i oboih roditel'ey (rezul'taty eksperimentov na kryсах linii Vistar) [Genetic consequences of irradiation of one and both parents (results of experiments on Wistar rats)] // Radiation biology. Radioecology. 2001. Vol. 41. № 2. P. 133–136.
37. Dergilev A.A. Sravnitel'naya ocenka posledstviy oblucheniya samcov krysa v nesterilizuyushchih dozah v ontogeneze dvuh pokolenij ih potomstva [Comparative assessment of the effects of irradiation of male rats in non-sterilizing doses in the ontogenesis of two generations of their offspring]: Abstract of Diss. ... Cand. Sci (Biology). Obninsk: Medical Radiobiological Res. Center, 2013. 16 p.
38. Mamina V.P. Radiatsionnyy risk embrional'noj gibeli v razlichnykh stadiyakh razvitiya polovykh kletok myshej-samcov posle nizkodoznogo radiatsionnogo oblucheniya [Radiation risk of embryonic death in various stages of germ cell development in male mice after low-dose radiation exposure] // Radiation and risk (Bull. of

References

1. Evaluation of DNA Damage in Different Stages of Mouse Spermatogenesis after Testicular X-Irradiation / E. Cordelli, A.M. Fresegna, G. Leter, P. Eleuteri, M. Spanm, P. Villani // Radiat. Res. 2003. Vol. 160. № 4. P. 443–451. DOI: 10.1667/rr3053
2. Vorobtsova I.E. Transgeneratsionnaya peredacha radiatsionno-inducirovannoy nestabil'nosti genoma [Transgenerational transmission of radiation-induced genome instability] // Radi-

- the National Radiation and Epidemiological Register). 2019. Vol. 28. № 3. P. 54–62.
10. Morfofunkcional'noe sostoyanie reproduktivnoy sistemy krysa-samcov posle hronicheskogo nizkointensivnogo oblucheniya v doze 1.0 Gr [Morphofunctional state of the reproductive system of male rats after chronic low-intensity irradiation at a dose of 1.0 Gy] / E.F. Konoplya, G.G. Vereshchako, A.M. Khodosovskaya, V.N. Rybakov, O.V. Artemenko // Radiation biology. Radioecology. 2002. Vol. 42. № 2. P. 136–140.
11. Radiatsiya. Dozy, efekty, risk [Radiation. Doses, effects, risk]. Moscow: Mir, 1990. 79 p.
12. Evropejskaya konvenciya po zashchite pozvonochnykh zhivotnykh, ispol'zuemykh dlya eksperimental'nykh i drugih nauchnykh celej (ETS N 123) [European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes]. Strasbourg, 1986.
13. Reproductive characteristics of the Yangtze vole (*Microtus Fortis Calamorum*) under laboratory feeding conditions / M. Zhanga, Q. Hana, G. Shena, Y. Wang, B. Lia, C. Guob, X. Zhou // Animal Reproduction Science. 2016. Vol. 164. P. 64–71.
14. Oakberg E.F. Duration of spermatogenesis in the mouse and timing of stages of the cycle of the seminiferous epithelium // Amer. J Anat. 1956. Vol. 99. P. 507–516.
15. Mamina V.P., Semenov D.I. Metod opredeleniya kolichestva spermatogennykh kletok semennika v kletочноj suspenzii [Method for determining the number of spermatogenic testicular cells in a cell suspension] // Cytology. 1976. Vol. 18. № 7. P. 913–914.
16. Osadchuk L.V. Parametry spermatogeneza i produkciya testosterona pri polovom sozrevanii kak prediktory funkcional'noj aktivnosti semennikov u laboratornykh myshej (*Mus Musculus*) [Spermatogenesis parameters and testosterone production at puberty as predictors of testicular functional activity in laboratory mice (*Mus Musculus*)] // J. of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 2016. Vol. 52. № 6. P. 23–428.
17. Soares E.R., Sheridan W., Segall M. Increased frequencies of aberrant sperm as indicators of mutagenic damage in mice // Mutation Research. 1979. Vol. 64. № 1. P. 27–35.
18. Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog: A consensus report / J. Seed, R.E. Chapin, E.D. Clegg, L.A. Dostal, R.H. Foote, M.E. Hurtt, G.R. Klinefelter, S.L. Makris, S.D. Perreault, S. Schrader, D. Seyler, R. Sprando, K.A. Treinen, D.N. Veeramachaneni, L.D. Wise // Reprod. Toxicol. 1996. Vol. 10. P. 237–244. DOI: 10.1016/0890-6238(96) 00028-7.
19. Effects of Chronic Low-Intensity Irradiation on Reproductive Parameters of the Root Vole (*Alexandromys oeconomicus*): Responses of Parents and Offspring / O.V. Ermakova, L.A. Bashlykova, O.V. Raskosha, N.N. Starobor // Russian Journal of Ecology. 2020. Vol. 51. №. 3. P. 242–249. DOI: 10.1134/S1067413620030066
20. Shakhdinanova L.V. Radiochuvstvitel'nost' oocitov mlekoпитayushchih v ontogeneze i ee modifikatsiya meksaminom i gipoksicheskoj gipoksiej [Radiosensitivity of mammalian oocytes in ontogenesis and its modification with mexamine and hypoxic hypoxia]: Abstract of Diss. ... Cand. Sci (Biology). Obninsk: All-Union Sci. Res. Inst. of Agricultural Radiology, 1989. 22 p.
21. Nefyodov I.Yu., Palyga G.F. Luchevye efekty v ontogeneze potomstva odnogo ili oboih obluchennykh roditelej [Radiation effects in ontogenesis of the offspring of one or both irradiated parents] // Radiation biology. Radioecology. 1995. Vol. 35. № 3. P. 375–380.
22. Pak V.V. Reakciya organizma kur na dejstvie ioniziruyushchih izlucheniij [The reaction of the body of chickens to the action of ionizing radiation]: Diss... Dr. Sci (Biology). Moscow, 2001. 355 p.
23. Twinning in the offspring of parents with chronic radiation exposure from nuclear testing in Kazakhstan / N. Mudie, A. Sverdlow, B. Gusev, M. Schoemaker, L. Pivina, S. Chsherbakova, A. Mansarina, S. Bauer, Y. Jakovlev, K. Apsalikhov // Radiation Research. 2010. Vol. 173. P. 829–836. DOI: 10.1667/ RR1722.1
24. Pastukhova E.I., Shalaginov S.A., Akleev A.V. Chastota mnogoploдных родов u zhenshchin, podvergshihся hronicheskomu radiacionnomu vozdeystviyu v naselennykh punktah na r. Teche [The frequency of multiple births in women exposed to chronic radiation in settlements on the river Techa] // Medical Radiology and Radiation Safety. 2011. Vol. 55. № 3. P. 29–36.
25. Fedosenko O.L., Zaitseva O.A. Vliyanie radioekologicheskogo faktora na reproduktivnuyu sistemu i kletki kostnogo mozga krysa-samcov v ryadu pokolenij [Influence of the radioecological factor on the reproductive system and bone marrow cells of male rats in a series of generations] // Radiation and Chernobyl: Immediate and long-term consequences. 2007. Vol. 4. P. 117–120.
26. Lukas D., Huchard E. The evolution of infanticide by males in mammalian societies // Science. 2014. Vol. 346. P. 841–844. DOI: 10.1126/science.1257226
27. Oswald C., McClure P.A. Energy allocation during concurrent pregnancy and lactation in Norway rats with delayed and undelayed implantation // J. Exp. Zool. 1987. Vol. 241. P. 343–357.
28. Nazarova G.G., Evisikov V.I. Vliyanie fizicheskogo sostoyaniya materi v period beremennosti i laktatsii na postnatal'nyj rost i reproduktivnyj uspek potomkov vodyanoy polevki (*Arvicola terrestris* L.) [Influence of the mother's physical condition during pregnancy and lactation on the postnatal growth and repro-

- ductive success of the offspring of the water vole (*Arvicola terrestris* L.)] // *Ontogenesis*. 2008. Vol. 39. № 2. P. 125–133.
29. *Guzick D., Overstreet J., Factor-Litvak P.* Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men // *N. Engl. J. Med.* 2001. Vol. 345. P. 1388–1393.
30. *Mamina V.P.* Izmenenie urovnya polovyh gormonov, ciklicheskih nukleotidov i proliferativnoj aktivnosti spermatogonial'nyh kletok u laboratornyh myshej pri vozdejstvii oblucheniya v mal'yx dozah [Changes in the level of sex hormones, cyclic nucleotides and proliferative activity of spermatogonial cells in laboratory mice when exposed to low doses of radiation] // *Cytology*. 2018. Vol. 60. № 2. P. 122–127.

Статья поступила в редакцию 20.07.2021.

УДК 597.552.511(282.247.11)
DOI 10.19110/1994-5655-2021-5-29-34

Р.Р. РАФИКОВ, Д.М. ШАДРИН

**РАЗНООБРАЗИЕ ГАПЛОТИПОВ
ГЕНА COI ГОРБУШИ *ONCORHYNCHUS
GORBUSCHA* (WALBAUM, 1792)
БАССЕЙНА РЕКИ ПЕЧОРЫ**

*Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
г. Сыктывкар*

rafikov@ib.komisc.ru

R.R. RAFIKOV, D.M. SHADRIN

**HAPLOTYPES DIVERSITY OF THE COI GENE
OF THE PINK SALMON *ONCORHYNCHUS
GORBUSCHA* (WALBAUM, 1792) IN THE
PECHORA RIVER BASIN**

*Institute of Biology, Federal Research Centre
Komi Science Centre, Ural Branch, RAS,
Syktyvkar*

Аннотация

Впервые представлено общее морфологическое описание горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) из бассейна р. Печоры. Полученные значения показателей меристических признаков исследованных особей свидетельствуют о том, что они близки к типичной форме данного вида рыб. Анализ нуклеотидных последовательностей гена субъединицы 1 цитохром-сидазы, проведенный на основании собственных данных и информации из базы данных GenBank, позволил выявить 15 гаплотипов, семь из которых отмечены на приобретенной части ареала горбуши. Высказано предположение о возможном несоблюдении основных генетических эффектов «горлышка бутылки» и «основателя», характерных при заселении видом новой территории.

Ключевые слова:

горбуша, Oncorhynchus gorbuscha (Walbaum, 1792), акклиматизация, распространение, Печора

Abstract

Pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) is an anadromous epipelagic species that forms the basis of the Far East fishing industry. The result of the work on its acclimatization carried out in the second half of the XX century was the rapid expansion of the area, including the rivers of the European northeast of Russia. The findings of this species in the Pechora river basin, which is the largest river system in the area of distribution, allowed us to carry out a general morphological description of the pink salmon.

The obtained values of the meristic characteristics of the studied individuals indicate that they are close to the typical form of the pink salmon species. It is noted that the number of this species in the Pechora River is extremely unstable. The analysis of the nucleotide sequences of the cytochrome oxidase subunit 1 gene ($n = 71$), carried out on the basis of our own data and information from the GenBank database, revealed 15 haplotypes. The average number of nucleotide differences per site (nucleotide diversity - P_i) was 0.00303 ± 0.000024 . The transitions/transversions ratio corresponded to the value of 2.4. The haplotype diversity value (H_d) is 0.823. In 11 tissue samples of pink salmon caught in the watercourses of the European northeast of Russia, 7 haplotypes of the COI gene were found, which is a fairly high ratio. An increase in the sample size will lead to the identification of even greater diversity for the studied gene in the acquired part of the range of the studied species. It is suggested that the main genetic effects of the «bottleneck» and «founder», characteristic of the populating by this species of a new territory, may not be observed. The main reason is assumed to be a fair-

ly large number of individuals from different years of generations used in the process of introduction of pink salmon.

Keywords:

pink salmon, Oncorhynchus gorbuscha (Walbaum, 1792), acclimatization, distribution, Pechora

Введение

Горбуша *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) – проходной эпипелагический вид, обитающий в море на глубинах до 250 м, с арктическо-бореальным типом ареала, в нативную часть которого [1] входят бассейны морей Арктики (Лаптевых, Восточно-Сибирское и Чукотское) и северной части Тихого океана (Бофорта, Берингово, Охотское, Японское). Результатом работ по ее акклиматизации, проводимых в XX в. в бассейне Белого моря, явилось быстрое расширение ареала [2]. На сегодняшний день данный вид отмечен в реках на территории от Ямала до Британских островов и Исландии [3, 4]. Для горбуши характерны отсутствие жесткого хоминга и наличие альтернативного механизма – стрейнга, т.е. перераспределения нерестовых потоков между районами воспроизводства разных стад [5]. Это способствовало ее стремительному и широкому распространению на приобретенной части ареала. Информацию с детальным описанием истории акклиматизационных мероприятий, а также реки, в которые данный вид заходит на нерест, и примерную численность его стад для территории европейского Северо-Востока России можно найти в ранее опубликованной нами работе [6].

Направленная интродукция, или трансплантация, является одним из путей проникновения чужеродных видов за пределы их нативного ареала. Изучение морфологических, биологических и экологических характеристик популяций вселенцев представляет значительный интерес, поскольку способствует расширению представлений о процессах адаптации вида к новым условиям.

Изучение изменчивости, выявленной с помощью молекулярно-генетических маркеров (не только нейтральных), является необходимым этапом в понимании генетических процессов, происходящих при вселении вида на новую территорию [7]. При изучении беломорской горбуши ранее было показано снижение ее генетического разнообразия, определенное на основании данных о частотах аллелей различных генов и рестрикционного анализа мтДНК [8–10].

В последнее время широко используется метод секвенирования, предоставляющий информацию о нуклеотидном составе изучаемого гена, что позволяет получить более высокий уровень полиморфизма и уточнить выводы проведенных ранее исследований «биохимической» генетики. Одним из наиболее изученных считается ген, кодирующий 1 субъединицу фермента цитохромоксидазы (COI). Этот простой ген является широко распространенным филогенетическим маркером и обладает высокой стабильностью на видовом уровне (видоспецифичен), что определило его пригодность для ДНК-штрихкодирования живых организмов, в том числе

и рыб [11]. В опубликованных ранее работах по горбуше европейского Севера сведения о результатах секвенирования гена COI отсутствуют. Однако применение данного селективного маркера может дать нам дополнительную информацию о генетических процессах, происходящих при акклиматизации или саморасселении [10]. Применительно к исследуемому нами виду он характеризуется наибольшей представленностью в существующих на сегодня базах молекулярных данных (Genbank – <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> и BOLD Systems – <https://www.Boldsyst-tems.org/>), чем остальные митохондриальные гены.

Цель данного исследования – описание счетных морфологических признаков и оценка генетического разнообразия горбуши р. Печоры на основании сравнения последовательностей гена COI.

Материал и методы

Отлов рыб произведен в русле р. Печоры в районе острова Малый Якшенский (66°07'41" с. ш. 52°33'18" в. д.). При выполнении мониторинговых работ в июле и августе 2017–2019 гг. применялись ставные жаберные сети с ячейей от 30 до 80 мм и высотой от 1,8 до 6 м, а также плавная сеть длиной 200 м и ячейей 45 мм. Поймано 6 экз. горбуши, для которых выполнен полный морфобиологический анализ по общепринятой методике [12]. Возраст рыб определен по чешуе [13, 14].

Пробы печеночной ткани фиксировали в 96 %-ном этиловом спирте. Тотальную ДНК удалось выделить из четырех образцов горбуши. Выделение ДНК проводили с помощью 10 %-ного раствора Chelex-100 в ddH₂O. Образец помещали в 15 мкл 10 %-ного раствора Chelex-100 и инкубировали в твердотельном термостате при температуре 55 °С в течение 30 мин. при периодическом перемешивании. Далее в течение 10 мин. инкубировался при температуре 99 °С. Выделенную ДНК хранили при температуре -20 °С. Для амплификации последовательности гена COI использовали праймеры Fish F1: 5'-TCAACCAA CCACAAAGACATTGGCAC-3' и Fish R2: 5'-TAGACT TCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3' [11]. Амплификацию фрагмента проводили в реакционной смеси объемом 25 мкл, содержащей 5 мкл ScreenMix («Евроген», Россия), 5 мкл каждого праймера (0.3 мкМ) («Евроген», Россия), 9.0 мкл ddH₂O («Ambion», США) и 1.0 мкл геномной ДНК (1±100 нг).

Амплификацию проводили в термоциклере Т-100 («Биорад», США) по следующей схеме: предварительная денатурация – 95 °С (5 мин); следующие пять циклов: 90 °С (30 сек), 45°С (60 сек), 72°С (90 сек); затем 27 циклов 90 °С (30 сек), 55 °С (45 сек), 72 °С (60 сек) и финальная элонгация – 72 °С (2 мин). Продукты реакции амплификации разде-

ляли методом электрофореза в 1,3 %-ном агарозном геле в 1х триацетатном буферном растворе с бромистым этидием. В качестве маркера длины фрагментов ДНК использовали 100 bp Ladder DNA marker (100 bp–3000 bp) («Thermo Scientific», ЕС). Визуализацию и изъятие продуктов амплификации осуществляли при помощи трансиллюминатора UVT-1 («Биоком», Москва). Для очистки полученного продукта реакции амплификации использовали набор CleanUp Standart («Евроген», Россия). Концентрацию ДНК и ПЦР продуктов измеряли на флуориметре Qubit 3 (Invitrogen, USA). Секвенирование проводили на базе центра коллективного пользования «Молекулярная биология» Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН на приборе НАНОФОР 05 (Россия) с использованием набора реагентов ABI Prism BigDye Terminator v. 3.1.

Сборку и множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли с применением алгоритма ClustalW в программе Mega X [15, 16]. Анализ по идентификации полученных последовательностей проводили с использованием ресурса BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) и BOLD Systems (<https://www.boldsystems.org/>). Полученные последовательности гена депонированы в базу данных GenBank и доступны под номерами: MZ723945–MZ723948.

Результаты и обсуждение

Данные опросов промышленных рыбаков свидетельствовали о существовании периодов с многочисленными стадами горбуши (тысячи особей), заходящей на нерест в р. Печора. Одним из таких был 2015 г., когда на тоне длиной в 1 км в магистральном русле реки попадалось до 10 экз. за сплавку. Поимки различных по плотности групп отмечались со второй половины июля и продолжались до конца августа. В последующие нечетные года (2017 и 2019) примерная численность заходящих в р. Печору рыб сократилась и оценивалась в сотни особей. В 2021 г. вновь отмечено увеличение количества мигрирующих на нерест производителей. Таким образом, численность горбуши в бассейне р. Печора является не стабильной и характеризуется значительными колебаниями.

За период наблюдений 2017 – 2019 гг. нам удалось отловить всего 6 экз., что позволило привести неполное морфологическое описание на основе меристических признаков смешанного по половому составу материала. Отличительным признаком горбуши является очень мелкая чешуя [2], что подтверждается нашими данными. Размах изменчивости количества прободенных чешуй (//) в боковой линии составил 170–183 (176.7 ± 1.8), жаберных тычинок (*sp. br.*) – 30–34 (32.2 ± 0.6), позвонков (*vert.*) – 71–74 (72.0 ± 0.5). Количество лучей в спинном плавнике D III–V – 10–12 (11.2 ± 0.2), грудном P I – 14–17 (15.2 ± 0.5), брюшном V II – 9–10 (9.7 ± 0.2) и анальном A III–IV – 11–15 (13.0 ± 0.6). Стандартная длина (AC) в выборке колебалась от 412 до 517 мм (среднее – 466 мм), с общей массой тела рыб от 723 до 1 582 г (среднее – 1 162 мм). Возраст всех отловленных особей составил 1+. Соотношение полов равно – 50 % самок и 50 % сам-

цов. Выявленные морфологические характеристики горбуши р. Печоры соответствуют номинативной форме данного вида рыб или незначительно выходят за их пределы [2].

В результате анализа 60 образцов (банк данных NSBI) из нативной части ареала и 11 образцов из приобретенной части ареала (в том числе четыре образца из бассейна р. Печоры) удалось выявить 16 мутаций, сосредоточенных в 15 полиморфных сайтах (см. таблицу). Большая часть нуклеотидной изменчивости приходится на единичные замены (10 сайтов) и только пять сайтов содержат информативные замены нуклеотидов.

Среднее количество нуклеотидных различий на сайт (нуклеотидное разнообразие – P_i) составило $0,00303 \pm 0,000024$. Соотношение транзиций к трансверсиям соответствовало значению 2,4. Величина гаплотипического разнообразия (H_d) равна 0,823. Частота встречаемости гаплотипов убывает в ряду: № 5 (28 %), № 1 (25), № 3 (17), № 4 (11) и № 2 (4 %), остальные и вовсе отмечены единично. Большая часть использованных в анализе образцов (60) относится к американской части бассейна Тихого океана, что отразилось на картине распределения полученного разнообразия. Так, гаплотипы с №№ 1 по 5 являются наиболее распространенными и на 87 % представлены особями разных лет (как четных, так и нечетных) генераций из рек северо-западного побережья Северной Америки (от штата Вашингтон США до Аляски, включая Канаду). Также здесь отмечены гаплотипы с №№ 6 – 11 и 14, которые представлены единичными экземплярами.

Особим горбуши бассейна Белого [17] и Баренцева (наши данные) морей отнесены к гаплотипам № 1–4 ($n=8$). Кроме того, обнаружены единичные экземпляры рыб с гаплотипами №№ 12 и 13 (р. Кереть) и № 15 (р. Печора). Факт этих находок является интересным, однако рассуждать об их уникальности и, соответственно, какой-либо дифференциации стад горбуши на Европейском Севере преждевременно, ввиду небольшого объема материала, который был нам доступен. Известно, что скорость мутационного процесса в последовательностях, кодирующих ген COI, достаточно низка [17]. Это означает, что обнаруженные гаплотипы должны быть характерны и для рыб бассейна Охотского моря, где обитают донорские популяции, использованные при интродукции. Однако отсутствие депонированных в банках молекулярных данных подобных сведений не позволяет подтвердить наше предположение.

Проанализированные образцы тканей горбуши (11 экз.) дали возможность выявить целых семь гаплотипов гена COI для территории европейского Северо-Востока России, что является довольно высоким соотношением. Увеличение объема выборки приведет к выявлению еще большего разнообразия по исследованному гену на приобретенной части ареала изучаемого вида.

Проведенный анализ гаплотипического разнообразия последовательности гена COI горбуши позволяет предположить, что изменчивость, выявляемая с помощью селективных (находящихся под давлением отбора) маркеров, может не соответ-

Полиморфные сайты фрагмента гена COI образцов горбуши
Polymorphic sites of the COI gene fragment of pink salmon samples

Гаплотип	Номер полиморфного сайта и тип замены														
	22 S	37 S	47 S	211 S	265 P ₂	298 S	304 S	310 S	344 S	385 P ₂	409 P ₃	520 P ₂	535 P ₂	583 S	619 S
1	C	A	C	C	A	T	C	C	C	G	T	C	A	G	G
2	G	A	C	.	T	.	.
3	G	A
4	G	A	.	T	.	.	.
5	G	A	.	.	T	.	.
6	.	.	.	T
7	A	.	.	.	G	A	C	.	T	.	.
8	.	G	.	.	G	A	.	.	T	A	.
9	G	.	.	T	T	A	.	.	T	.	.
10	G	A	C
11	G	A	.	.	T	.	A
12	G	C	.	.	.	A
13	.	.	A	.	G	A	C	.	T	.	.
14	G
15	G	.	T	.	.	A

Условные обозначения: S – синглетные, P₂ – парсимоничные с двумя вариантами, P₃ – парсимоничные с тремя вариантами. Расшифровка образцов по гаплотипам: 1) MZ723946*, HQ712699, FJ998709, FJ998705, FJ998704, FJ998702, FJ998693, FJ998692, FJ998691, FJ998688, FJ998684, FJ998683, FJ998678, FJ998676, FJ998673, FJ998672, FJ998671, EU524203; 2) MZ723947*, MZ723948*, FJ998707; 3) HQ712701, GU440431, FJ998711, FJ998703, FJ998698, FJ998670, FJ998669, FJ998668, FJ998666, MG951608, MG951590, MG951589; 4) HQ712700, HQ712698, EU752127, FJ998706, FJ998699, FJ998665, MG951593, MG951591; 5) EU752128, EU752126, FJ998710, FJ998696, FJ998689, FJ998687, FJ998686, FJ998685, FJ998682, FJ998680, FJ998679, FJ998677, FJ998675, FJ998674, EU524208, EU524207, EU524206, EU524205, EU524204, EU524202; 6) FJ998708; 7) FJ998701; 8) FJ998700; 9) FJ998697; 10) FJ998667; 11) EU524209; 12) MG951588; 13) MG951587; 14) KX145377; 15) MZ723945*. * – образцы из бассейна р. Печоры.

Symbols: S – singlet, P₂ – parsimonious with 2 variants, P₃ – parsimonious with 3 variants. Decoding of samples by haplotypes: 1) MZ723946*, HQ712699, FJ998709, FJ998705, FJ998704, FJ998702, FJ998693, FJ998692, FJ998691, FJ998688, FJ998684, FJ998683, FJ998678, FJ998676, FJ998673, FJ998672, FJ998671, EU524203; 2) MZ723947*, MZ723948*, FJ998707; 3) HQ712701, GU440431, FJ998711, FJ998703, FJ998698, FJ998670, FJ998669, FJ998668, FJ998666, MG951608, MG951590, MG951589; 4) HQ712700, HQ712698, EU752127, FJ998706, FJ998699, FJ998665, MG951593, MG951591; 5) EU752128, EU752126, FJ998710, FJ998696, FJ998689, FJ998687, FJ998686, FJ998685, FJ998682, FJ998680, FJ998679, FJ998677, FJ998675, FJ998674, EU524208, EU524207, EU524206, EU524205, EU524204, EU524202; 6) FJ998708; 7) FJ998701; 8) FJ998700; 9) FJ998697; 10) FJ998667; 11) EU524209; 12) MG951588; 13) MG951587; 14) KX145377; 15) MZ723945*. * – samples from the Pechora River basin.

водить известным генетическим эффектам «горлышка бутылки» и «основателя», характерных при заселении видом новой территории.

В качестве основной причины предполагается достаточно большое количество особей из разных лет генераций, использованных в процессе интродукции горбуши. Известно, что работы по интродукции горбуши на европейский Север начаты в 1956 г. с перевозки ее икры из рек острова Сахалин на Тайбольский рыболовный завод в Мурманской области [18]. Однако промысловый возврат производителей оставался крайне нестабильным, что определило использование северных популяций горбуши в качестве донорских в ходе реализации второго этапа акклиматизации [19]. Так, с 1985 г. был начат систематический завоз икры партии из рек Ола и Яна. В результате этого в северо-европейском регионе сформировались самовоспроизводящиеся популяции горбуши разных генерализованных линий четных и нечетных лет нереста [20–22].

Закключение

Исследование ряда меристических признаков проанализированных особей горбуши р. Печоры позволяет сделать вывод о соответствии изученных экземпляров номинативной форме данного вида рыб.

Анализ нуклеотидных последовательностей гена COI небольшого числа особей горбуши позволил выявить на приобретенной части ее ареала семь гаплотипов из 15 известных на сегодняшний день. Наибольшая представленность сведений по горбуше из рек северо-западного побережья Северной Америки и полное отсутствие таковых для ее охотоморских популяций не позволяют сделать вывод об уникальности обнаруженных для рек Кереть и Печора гаплотипов. С высокой долей вероятности они могут быть обнаружены и в охотоморских (донорских) популяциях горбуши. Тем не менее, соотношение количества обнаруженных гаплотипов (n=7) и исследованных для этого особей (11 экз.) горбуши для указанных рек является достаточно высоким. Увеличение объема выборки приведет к выявлению большего разнообразия по исследованному гену на территории приобретенной части ареала.

Полученные нами результаты указывают на несоблюдение основных генетических эффектов «горлышка бутылки» и «основателя», характерных при заселении видом новой территории. Об этом свидетельствует и значительное количество разнообразного донорского материала, использованного в процессе интродукции горбуши [15]. Для дальнейшего продолжения работы необходим более

длительный и детальный сбор не только молекулярно-генетических данных, но и полного морфологического описания генераций горбуши как нечетных, так и четных лет нереста. Привлечение других молекулярных маркеров даст больше информации о популяционной структуре горбуши на приобретенной части ареала (европейский Северо-Восток России).

Данная работа выполнена в рамках государственного задания «Распространение, систематика и пространственная организация фауны и населения животных таежных и тундровых ландшафтов и экосистем европейского северо-востока России» № АААА-А17-117112850235-2.

Литература

1. Рыбы российских вод Японского моря: аннотированный и иллюстрированный каталог / А.С. Соколовский, В.А. Дударев, Т.Г. Соколовская, С.Ф. Соломатов. Владивосток: Дальнаука, 2007. 200 с.
2. Атлас пресноводных рыб России: в 2-х т. Т. 1 / Под ред. Ю.С. Решетникова. М.: Наука, 2003. 379 с.
3. Ретроспектива ихтиологических и гидробиологических исследований на Ямале / В.Д. Богданов, Е.Н. Богданова, О.А. Госькова, И.П. Мельниченко Екатеринбург, 2000. 88 с.
4. Сидоров Г.П., Решетников Ю.С. Лососеобразные рыбы водоемов европейского Северо-Востока. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. 346 с.
5. Каев А.М., Животовский Л.А. О вероятном распределении горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* между районами воспроизводства разных стад в Сахалино-Курильском регионе // Вопросы ихтиологии. 2017. Т. 57. № 3. С. 264–274. DOI: 10.7868/S0042875217030080
6. Рафиков Р.Р., Захаров А.Б. Горбуша *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) в реках европейского Северо-Востока России // Вестник Института биологии Коми НЦ УрО РАН. 2019. Вып. № 2 (209). С. 16–20. [https://doi.org/10.31140/j.vestnikib.2019.2\(209\).3](https://doi.org/10.31140/j.vestnikib.2019.2(209).3)
7. Салменкова Е.А. Популяционно-генетические процессы при интродукции рыб // Генетика. 2008. Т. 44. № 7. С. 874–884.
8. Гордеева Н.В. Генетические изменения у горбуши, трансплантированной в бассейн Белого моря // Доклады Академии наук. 2002. Т. 384. № 4. С. 553–556.
9. Генетические изменения у горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) в ходе акклиматизации в бассейне Белого моря / Н.В. Гордеева, Е.А. Салменкова, Ю.П. Алтухов, А.А. Махров, С.П. Пустовойт // Генетика. 2003. Т. 39. № 3. С. 402–412.
10. Гордеева Н.В., Салменкова Е.А., Алтухов Ю.П. Акклиматизация горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) на европейском Севере: данные рестрикционного анализа мтДНК // Генетика. 2004. Т. 40. № 3. С. 393–400.
11. Barcoding Australia's fish species / R.D. Ward, T.S. Zemlak, B.H. Innes, P.R. Last, P.D.N. Hebert // Philosophical Transactions of the Royal Society B 360. 2005. P. 1847–1857.
12. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищепромиздат, 1966. 376 с.
13. Чугунова М.И. Руководство по изучению возраста и роста рыб. М.: АН СССР, 1959. 164 с.
14. Дгебугадзе Ю.Ю. Экологические закономерности роста рыб. М.: Наука, 2001. 279 с.
15. Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice // Nucleic Acids Research. 1994. 22(22): 4673–4680. DOI: 10.1093/nar/22.22.4673
16. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms / S. Kumar, G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, K. Tamura // Molecular Biology and Evolution. 2018. 35 (1): 1547–1549. DOI 10.1093/molbev/msy 096
17. Филогения лососевидных рыб (Salmonoidei) по данным анализа митохондриального гена COI (баркодинг) / В.С. Артамонова, О.В. Колмакова, Е.А. Кириллова, А.А. Махров // Сибирский экологический журнал. 2018. № 3. С. 293–310.
18. Азбелев В.В., Яковенко А.А. Материалы по акклиматизации горбуши в бассейне Баренцева и Белого морей // Труды ПИНРО. 1963. Вып. 15. С. 7–26.
19. Смирнов А.И. Дальневосточные лососи родов *Oncorhynchus* и *Salmo* (Salmonidae) как объекты интродукции и акклиматизации // Зоологический журнал. 1971. Т. 50. № 3. С. 393–407.
20. Аганов В.С. Жизненный цикл горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum), акклиматизируемой на Европейском Севере СССР // Вопросы ихтиологии. 1986. Т. 26. № 5. С. 779–794.
21. Кудерский Л.А. Избранные труды. Т. 4. Исследования по ихтиологии, рыбному хозяйству и смежным дисциплинам: Сборник научных трудов ФГНУ «ГосНИОРХ». Вып. 343. М.-СПб.: Товарищество научных изданий КМК, 2015. С. 47–65.
22. Дальневосточная горбуша в бассейне Белого моря (К 50-летию начала интродукции) / Е.А. Дорощева, А.П. Алексеев, О.В. Зеленников, В.М. Зеленков // Рыбное хозяйство. 2006. № 6. С. 71–74.

References

1. Ryby rossijskih vod Japonskogo morja: annotirovannyj i illjustrirovannyj katalog [Fish of the Russian waters of the Sea of Japan: annotated and illustrated catalog] / A.S. Sokolovskiy, V.A. Dudarev, T.G. Sokolovskaya, S.F. Solomatov. Vladivostok: Dal'nauka, 2007. 200 p.
2. Atlas presnovodnyh ryb Rossii [Atlas of freshwater fish of Russia]: in 2 volumes. Vol. 1 / Ed. Yu.S. Reshetnikov. Moscow: Nauka, 2003. 379 p.
3. Retrospektiva ihtiologicheskikh i gidrobiologicheskikh issledovanij na Jamale [Retrospective of ichthyological and hydrobiological research in Yamal] / V.D. Bogdanov, E.N. Bogdanova,

- O.A. Gos'kova, I.P. Melnichenko. Ekaterinburg, 2000. 88 p.
4. Sidorov G.P., Reshetnikov Yu.S. Lososeobraznye ryby vodoemov evropejskogo Severo-Vostoka [Salmon-like fishes of water bodies of the European Northeast]. Moscow: Association of sci. publications KMK, 2014. 346 p.
5. Kaev A.M., Zhivotovskiy L.A. O veroyatnom raspredelenii gorbushi *Oncorhynchus gorbuscha* mezhdu rajonami vosproizvodstva raznyh stad v Sahalino-Kuril'skom regione [On the probable distribution of pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* between the reproduction areas of different flocks in the Sakhalin-Kuril region] // Voprosy ihtologii [J. of Ichthyology]. 2017. Vol. 57. № 3. P. 264–274. DOI:10.7868/S0042875217030080
6. Rafikov R.R., Zakharov A.B. Gorbusha *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) v rekah evropejskogo severo-vostoka Rossii [Pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) in the rivers of the European Northeast of Russia] // Bull. of Inst. of Biology, Komi Sci. Centre, Ural Branch, RAS. 2019. Issue 2 (209). P. 16–20. [https://doi.org/10.31140/j.vestnikib.2019.2\(209\).3](https://doi.org/10.31140/j.vestnikib.2019.2(209).3)
7. Salmenkova E.A. Populacionno-geneticheskie processy pri introdukcii ryb [Population-genetic processes during fish introduction] // Genetika [Russian J. of Genetics]. 2008. Vol. 44. № 7. P. 874–884.
8. Gordeeva N.V. Geneticheskie izmeneniya u gorbushi, transplantirovannoj v bassejn Belogo morja [Genetic changes in pink salmon transplanted into the White Sea basin] // Doklady akademii nauk [Doklady Biol. Sciences]. 2002. Vol. 384. № 4. P. 553–556.
9. Geneticheskie izmeneniya u gorbushi *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) v hode akklimatizacii v bassejne Belogo morja [Genetic changes in pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) during acclimatization in the White Sea basin] / N.V. Gordeeva, E.A. Salmenkova, Yu.P. Altukhov, A.A. Makhrov, S.P. Pustovoi // Genetika [Russian J. of Genetics]. 2003. Vol. 39. № 3. P. 402–412.
10. Gordeeva N.V., Salmenkova E.A., Altukhov Yu.P. Akklimatizacija gorbushi *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) na evropejskom Severe: dannye restrikcionnogo anazila mtDNK [Acclimatization of pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) in the European North: mtDNA restriction data] // Genetika [Russian J. of Genetics]. 2004. Vol. 40. № 3. P. 393–400.
11. Barcoding Australia's fish species / R.D. Ward, T.S. Zemlak, B.H. Innes, P.R. Last, P.D.N. Hebert // Philosophical Transactions of the Royal Society B 360. 2005. P. 1847–1857.
12. Pravdin I.F. Rukovodstvo po izucheniju ryb [Fish study guide]. Moscow: Pishhepromizdat [Food Industry Publ.], 1966. 376 p.
13. Chugunova M.I. Rukovodstvo po izucheniju vozrasta i rosta ryb [Guide for the study of the age and growth of fish]. Moscow: USSR Ac. Sci., 1959. 164 p.
14. Dgebudze Yu.Yu. Ekologicheskie zakonomernosti rosta ryb [Ecological patterns of fish growth]. Moscow: Nauka, 2001. 279 p.
15. Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Research. 1994. 22(22): 4673–4680. DOI: 10.1093/nar/22.22.4673
16. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms / S. Kumar, G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, K. Tamura // Molecular Biology and Evolution. 2018. 35(1): 1547–1549. DOI 10.1093/molbev/msy096
17. Filogeniya lososevidnyh ryb (Salmonoidei) po dannym analiza mitohondrial'nogo gena COI (barkoding) [Phylogeny of salmonoid fish (Salmonoidei) based on mtDNA COI gene sequences (barkoding)] / V.S. Artamonova, O.V. Kolmakova, E.A. Kirillova, A.A. Makhrov // Sibirskij ekologicheskij zhurnal [Contemporary Problems of Ecology]. 2018. № 3. P. 293–310.
18. Azbelev B.B., Yakovenko A.A. Materialy po akklimatizacii gorbushi v bassejne Barentseva i Belogo morej [Materials on the acclimatization of pink salmon in the basin of the Barents and White seas] // Trudy PINRO [Proc. of PINRO]. 1963. Issue 15. P. 7–26.
19. Smirnov A.I. Dal'nevostochnye lososi rodov *Oncorhynchus* i *Salmo* (Salmonidae) kak ob'ekty introdukcii i akklimatizacii [Far Eastern salmon of the genera *Oncorhynchus* and *Salmo* (Salmonidae) as objects of introduction and acclimatization] // Zoologicheskij zhurnal [Russian J. of Zoology]. 1971. Vol. 50. № 3. P. 393–407.
20. Agapov V.S. Zhiznennyj cikl gorbushi *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum), akklimatiziruemoj na Evropejskom Severe SSSR [Life cycle of pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) acclimatized in the European North of the USSR] // Voprosy ihtologii [J. of Ichthyology]. 1986. Vol. 26. № 5. P. 779–794.
21. Kudersky L.A. Izbrannye trudy. T. 4. Issledovaniya po ihtologii, rybnomu hozjajstvu i smezhnym disciplinam: Sbornik nauchnyh trudov FGNU «GosNIORH» [Selected works. Vol. 4. Research on ichthyology, fisheries and related disciplines: Collection of sci. papers of the Federal State Sci. Res. Inst. of Lake and Fisheries]. Issue 343. Moscow-St. Petersburg: Tovarišhestvo nauchnyh izdanij KMK [Association of Sci. Publications KMK], 2015. P. 47–65.
22. Dal'nevostochnaja gorbusha v bassejne Belogo morja (K 50-letiju nachala introdukcii) [Far Eastern pink salmon in the White Sea basin (To the 50th anniversary of the beginning of introduction)] / E.A. Dorofeeva, A.P. Alekseev, O.V. Zelennikov, V.M. Zelenkov // Rybnoe hozjajstvo [J. of Fishery]. 2006. № 6. P. 71–74.

Статья поступила в редакцию 26.08.2021.

УДК 57.04:546.26-162-022.532-026.86:599.323(048.8)
DOI 10.19110/1994-5655-2021-5-35-45

**О.В. РАСКОША, Н.Н. СТАРОБОР,
Л.А. БАШЛЫКОВА**

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ГРАФЕНОВЫХ НАНОСТРУКТУР IN VIVO : ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

*Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
г. Сыктывкар*

raskosha@ib.komisc.ru

**O.V. RASKOSHA, N.N. STAROBOR,
L.A. BASHLYKOVA**

ASSESSMENT OF BIOLOGICAL SAFETY OF GRAPHENE NANOSTRUCTURES IN VIVO : LITERATURE REVIEW

*Institute of Biology, Federal Research Centre
Komi Science Centre, Ural Branch, RAS,
Syktyvkar*

Аннотация

Наноматериалы на основе графена обладают уникальными физико-химическими свойствами, подходящими для различных приложений в электронике, телекоммуникациях, энергетике, биологии и медицине. Необходимым этапом исследований, посвященных возможности практического использования графеновых наноструктур, является оценка их токсического воздействия и биологической совместимости. В статье представлен обзор литературы по изучению биологической безопасности наноматериалов на основе графена с использованием модельных систем *in vivo*. Сделан вывод о необходимости более подробного изучения токсичности наноматериалов на основе графена с обязательным выявлением связи между их характеристикой и биологической эффективностью.

Ключевые слова:

графеновые наноматериалы, in vivo, токсичность, биологическая эффективность

Abstract

Graphene is a flat monoatomic layer of carbon arranged in a two-dimensional crystalline structure. The active study of graphene is growing exponentially, attracting scientists from various fields of science. Graphene-based nanomaterials have unique physical and chemical properties suitable for diverse applications in electronics, telecommunications, energy, healthcare and ecology. There is also an increasing interest in the biomedical application of graphene nanomaterials. However, a significant obstacle to the wider practical use of graphene and materials based on it remains the lack of an unambiguous answer to the question of their potential danger. The paper presents a review of the literature on the study of the biological safety of graphene-based nanomaterials *in vivo* using mice and rats as test objects, as a generally accepted human model. The scientific community has identified the need for a more detailed study of the toxicity of graphene and materials based on it, with the mandatory identification of the relationship between their characteristics and biological efficiency. In studies on the whole organism, the biological effect depends not only on the chemical nature of nanomaterials, but also on the dose, route of administration, the time and mode of exposure, as well as on the animals used for testing. In addition, given the possible toxic effect of graphene-based nanoparticles, it is necessary to investigate and critically assess the potential long-term risks. A detailed comprehensive assessment of the biological safety of graphene nanostructures will contribute to the advancement of knowledge necessary for the development of safe graphene-based technologies and products suitable for medical applications, and to minimize risks to human health.

Keywords:

graphene nanomaterials, in vivo, toxicity, biological effectiveness

Введение

Графен – это плоский монокатомный слой углерода, выстроенный в двумерную кристаллическую структуру (рис. 1, фото). Активное изучение графена началось в 2004 г., когда он был получен К.С. Новосёловым, А.К. Геймом, С.В. Морозовым и др. [1] с помощью метода микромеханического расщепления (метода «клеейкой ленты»). К настоящему времени синтезирован целый ряд графеновых наночастиц (графен, оксид графена (GO), восстановленный оксид графена (rGO), малослойный графен, графеновые нанопластины и т.д.), которые имеют отличия в структуре, в первую очередь, в количестве слоев и в количестве и составе поверхностных групп, что сильно влияет на их свойства.

За последнее десятилетие наноматериалы на основе графена, благодаря своим уникальным электронным, оптическим, механическим и химическим свойствам, вызвали огромный интерес в различных областях применения человеком, включая электронику (ЖК-мониторы, транзисторы, микросхемы и пр.), аккумуляторы, источники энергии, очистку воды, в том числе от радиоактивных загрязнений и т.д. Повышенное внимание в биологии, медицине и фармакологии к графеновым наноматериалам обусловлено прежде всего их высокой удельной поверхностью (до $2\,600\text{ м}^2/\text{г}$) [2] и потенциальной биосовместимостью [3]. В биомедицинских исследованиях наноматериалов на основе графена можно выделить несколько основных, успешно развивающихся направлений: адресная доставка диагностических и лекарственных средств, антител и генетического материала [4, 5], разработки в области противоопухолевых препаратов [6–8], в качестве флуоресцентных агентов для получения изображений живых клеток [4], в тканевой инженерии [9], при создании медицинских девайсов, таких как нейродевайсы [10, 11] и биосенсоры для детекции уровня глюкозы [12], а также материалов с антибактериальными свойствами для покрытия поверхности имплантов [13] и гидрогелей для заживления ран [14] и др. Однако существенным препятствием для более широкого использования графена и материалов на его основе в биомедицине остается отсутствие однозначного ответа на вопрос об их потенциальной опасности. Соответственно, необходимым этапом исследований, посвященных возможности практического использования графеновых наноструктур, является оценка их биосовместимости и токсического воздействия на мелких млекопитающих как общепринятой модели человека. При проведении таких экспериментов важно понять связь между свойствами материалов на основе графена и их биологическими эффектами [15, 16].

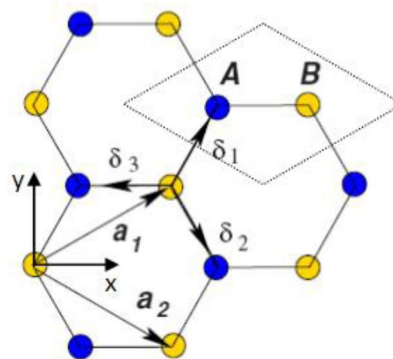


Рис. 1. Кристаллическая структура графена: атомы углерода образуют две треугольные подрешетки, взаимно проникающие друг в друга. Атомы одной подрешетки (черные кружки) обозначены буквой А, а атомы другой подрешетки (серые кружки – буквой В). Показаны два вектора элементарных трансляций a_1 и a_2 и примитивная ячейка – ромб (пунктиром) – построенная на этих векторах, а также векторы $\delta_1, \delta_2, \delta_3$, соединяющие данный атом углерода из одной подрешетки с тремя ближайшими соседями, принадлежащими другой подрешетке. Любой из векторов δ_j переводит подрешетку В в подрешетку А [17].

Fig. 1. Crystalline structure of graphene: carbon atoms form two triangular sublattices, mutually penetrating each other. The atoms of one sublattice (blue circles) are denoted by the letter A, and the atoms of the other sublattice (yellow circles) – by the letter B. Two vectors of elementary translations a_1 and a_2 , and a primitive cell – a rhombus (dotted line) – built on these vectors, as well as vectors $\delta_1, \delta_2, \delta_3$ connecting this carbon atom from one sublattice with three nearest neighbors belonging to another sublattice, are shown. Any of the vectors δ_j translates the sublattice B into the sublattice A [17].

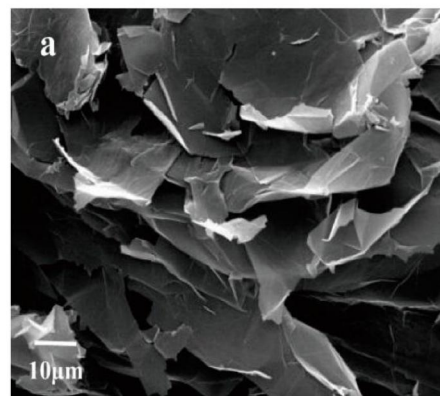


Фото. Изображение нанопластинок графена, полученное с помощью сканирующего электронного микроскопа [18].

Photo. Image of graphene nanoplates obtained using a scanning electron microscope [18].

Материал и методы

Поиск литературы проводился в базе Web of Science за период с 2010 по 2021 г. Для оценки литературных данных были определены критерии включения и исключения источников в исследование. Первый этап поиска осуществляли с использованием ключевого слова «graphene» (рис. 2 А). На следующем этапе проводили отбор полнотекстовых источников, в которых оценивали биологическое

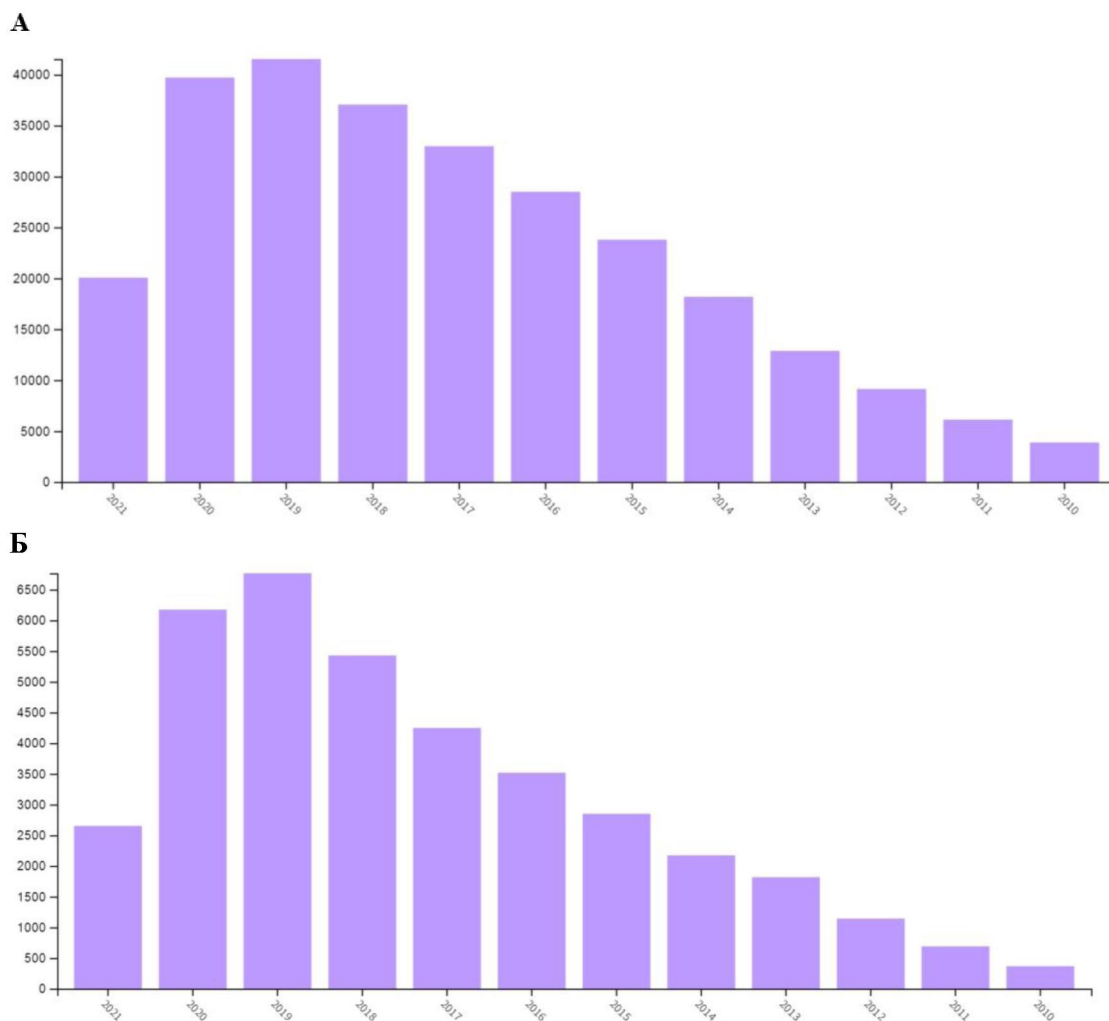


Рис. 2. Публикации по теме «graphene» в базе Web of Science (по оси ординат – число публикаций, по оси абсцисс – года).

Условные обозначения: А – число публикаций по всем направлениям исследований, Б – число публикаций по биологическим и медицинским направлениям; типы документов: статьи и обзоры.

Fig. 2. Publications on the topic «grapheme» in the Web of Science database (on the ordinate axis – number of publications, on the abscissa axis – years).

Symbols: A – number of publications in all areas of research, B – number of publications in biological or medical areas; types of documents: papers and reviews.

действие и/или токсичность графеновых наноматериалов (рис. 2 Б). На завершающем этапе исследования остались публикации, в которых графеновые наноматериалы были проверены на токсичность *in vivo* (на лабораторных животных), что принципиально важно для их практического использования в медицине и биологии. Критерии исключения: тезисы докладов, исследования, имеющие признаки вторичности и дублирования (схожий протокол исследования и др.), исследования, не подкрепленные экспериментальной составляющей (без проведенных или без описания опытов *in vivo*).

Результаты исследований

Число опубликованных исследований по графену за последнее десятилетие экспоненциально растет, привлекая ученых из разных областей науки, в том числе и биомедицинского направления (рис. 2). Авторы ряда работ [19–23] справедливо полагают, что детальное изучение материалов на основе графена может обеспечить безопасное

применение человеком этого универсального материала (рис. 3). В последнее время в научном сообществе активно обсуждается характеристика различных графеновых наноматериалов с оценкой их опасности для человека и объектов окружающей среды и подчеркивается, что различные формы графена и их производные обладают разными физико-химическими свойствами и биологическим действием [3, 8, 24], и поэтому необходимо определить отношения «структура–активность» для каждого класса 2D наноматериалов с использованием модельных систем *in vivo*.

Общая токсичность. При проведении экспериментов на животных моделях имеются свидетельства того, что органические молекулы и неорганические примеси, которые сохраняются в конечных графеновых продуктах при взаимодействии с клетками и тканями, могут вызывать различные токсические реакции [25]. Решающим шагом в токсикологической оценке соединений на основе графена является их дозозависимая и/или зависящая от

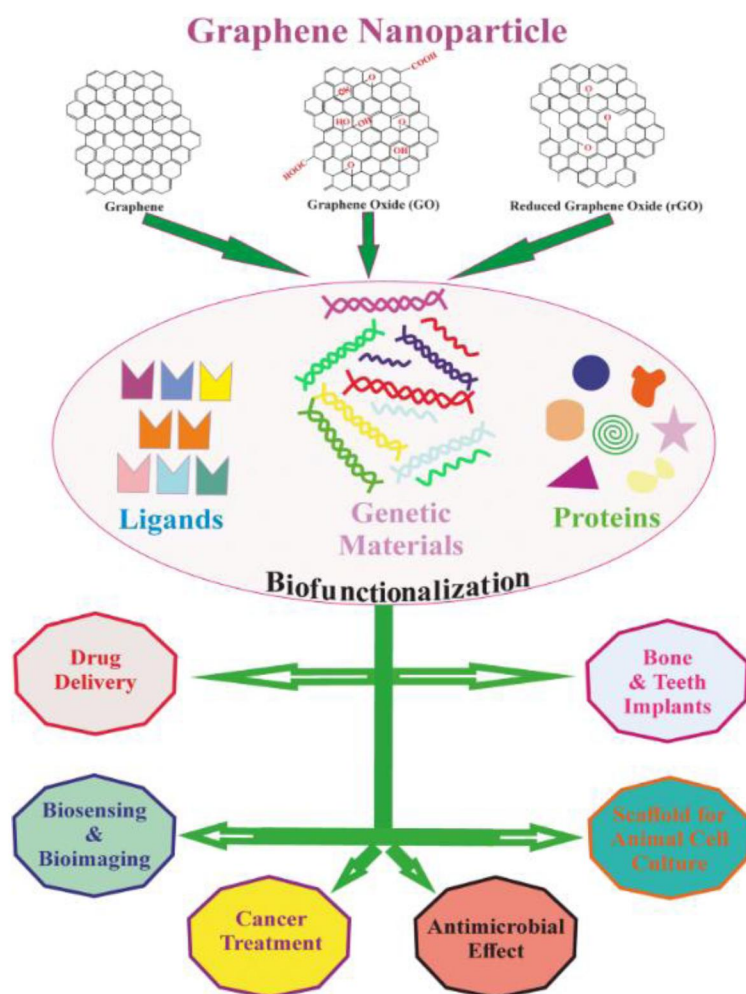


Рис. 3. Графен и оксид графена как наноматериалы для медицины и биологии [21].
Fig. 3. Graphene and graphene oxide as nanomaterials for medicine and biology [21].

времени фармакологическая оценка безопасности на экспериментальных животных с учетом способов поступления в организм [26]. В статье [25] представлен список исследований, выполненных на различных животных, обобщающий пути введения наноматериалов на основе графена и связанные с ними эффекты (см. таблицу). Исходя из данных таблицы и проанализированных нами других источников литературы по этой теме, выявлено, что среди графеновых наноструктур наибольшее внимание отводится эффектам GO, так как он обладает высокой гидрофильностью/биосовместимостью и поэтому широко используется в биологических исследованиях [27]. В работе [28] на мышах Kunming показано, что GO проявлял дозозависимую токсичность – низкая (0.1 мг) и средняя (0.25 мг) дозы GO не приводили к явной токсичности, тогда как высокая доза (0.4 мг) вызывала хроническую токсичность, способствуя гибели животных. Имеются данные о том, что у мышей после инъекции графеновым наноматериалом, судя по результатам гистологических исследований тканей и гематологического анализа, еще в течение длительного периода сохранялись незначительные признаки токсичности [29]. На другом модельном объекте, крысах линии Вистар, при внутривенном введении нанопластинок GO, покры-

тых декстраном (GNP-Dex), в дозах от 1 до 500 мг/кг показано, что максимальная переносимая доза находится между 50 и 125 мг/кг GNP-Dex. При дозах ≥ 250 мг/кг были отмечены гистопатологические изменения в легких, сердце, печени, селезенке и почках [30]. В других работах также есть свидетельства того, что после поступления в организм наноматериалы могут перемещаться и проявлять свои биологические (или токсикологические) эффекты, достигая вторичных органов, удаленных от первоначальной точки входа [31, 32]. В ряде работ сделан вывод о необходимости более подробного изучения токсичности наноматериалов на основе графена и указывается важность выявления связей, лежащих в основе биологического воздействия этих материалов, в том числе с учетом ответных реакций различных органов и тканей [3, 33, 34].

Влияние на органы дыхания.

Среди путей непреднамеренного поступления наноматериалов на рабочих местах наибольшую озабоченность вызывает их вдыхание. Исследования воздействия загрязнения воздуха и ультрамелких частиц на здоровье легких человека подтвердили представление о том, что частицы нано- и микронного размеров могут причинять вред органам дыхания [35]. Наноматериалы на основе графена требуют проверки их безопасности, поскольку эти материалы коммерчески доступны в виде летучих порошков, часто называемых нанопорошками или суспензиями/дисперсиями графеновых нанопластинок (GNP), GO или rGO [24].

D. Zhang с коллегами [3], изучившие влияние GO на легкие крыс линии Sprague-Dawley, показали, что низкие концентрации GO (5 и 10 мг/кг) не вызывали значительного повреждения легких, но введение GO в более высоких концентрациях (50 и 100 мг/кг) способствовало отеку легких, повышало проницаемость сосудов и развитие гистопатологических изменений в этом органе. Предполагают, что окисление графена является основным фактором его легочной токсичности [36]. При внутривенной инъекции GO в дозе 250 мкг/кг через 15 мин у мышей развивается обширная легочная тромбоэмболия [37]. В исследовании [38] при изучении биораспределения *in vivo*, а также острой и хронической легочной токсичности интратрахеально введенного наноразмерного GO (NGO) мышам C57BL/6 в дозах 1, 5 и 10 мг/кг было продемонстрировано, что NGO в основном накапливается в легких и впоследствии медленно выводится из этого органа. Обнаружены различия в биораспределении ^{125}I -NGO и ионов ^{125}I . Как итог, авторы указывают на потенциальные риски, связанные с тем, что углеродные наноматериалы могут переносить радиоактивные изотопы глубоко в легкие.

Влияние на пищеварительную систему.

В работе [39] показано, что у мышей при пероральном введении однослойных углеродных нанотрубок

Исследования *in vivo*, показывающие различные пути введения GO и функционализированных GO [14]***In vivo studies showing different routes of administration of GO and functionalized GO [14]***

Материал	Животные	Доза	Способ введения	Биологический эффект	Источник
GO	Мыши Balb/c	4 мг/кг	Оральное и внутрибрюшинное	Незначительная токсичность	Yang K. et al. // Bio-materials. 2013. Vol. 3. P. 2787–2795.
GO	Мыши	50 мг/мышь	Внутрибрюшинное	Отсутствие острого и хронического воспаления после внутрибрюшинной инъекции	Ali-Boucetta, H. et al. // Adv. Health Mater. 2013. Vol. 2. P. 433–441.
GO	Кролики	100–300 мг/глаз	Внутрибрюшинное	Без изменений внешнего вида глазного яблока и внутриглазного давления	Yan L. et al. // Chem. Res. Toxicol. 2012. Vol. 25. P. 1265–1270.
GO-PEG	Мыши Balb/c	20 мг/кг	Внутривенное	Низкое потребление в RES; нет признаков токсичности для селезенки и печени	Yang, K. et al. // ACS Nano. 2010. Vol. 5. P. 516–522.
GO-NH ₂	Мыши	250 мг/кг	Внутривенное	Нет легочной тромбоэмболии	Singh S. et al. // ACS Nano. 2012. 6. 2731–2740.
GO	Мыши Kunming	0.1, 0.25 и 0.4 мг на мышь	Внутривенное	GO обнаружен в легких, печени и селезенке. Дозозависимое воспаление легких и гранулеме	Wang K. et al. // Nanoscale Res. Lett. 2011. Vol. 6. P. 1–8.
hGO; GO	Мыши B6	2 мг/кг	Ротоглоточная инъекция	hGO вызывали более серьезное воспаление легких и ПОЛ в альвеолярных макрофагах, чем GO	Li R. et al. // ACS Nano. 2018. Vol. 12. P. 1390–1402.
GO	Мыши Balb/c	4 мг/кг	Внутрибрюшинное	GO индуцировал повреждение мозга и почек, увеличивая АФК и малоновый диальдегид и снижая уровень глутатиона	Shang S. et al. // Front. Biol. 2015. Vol. 10. P. 91–96.
GO	Мыши Balb/c	5 мг/кг	Внутривенное и интратрахеальное	Большие размеры GOs (750–1300 нм) индуцировали очень большие легочные и системные воспалительные цитокины и рекрутинг воспалительных клеток	Ma J. et al. // CS Nano. 2015. Vol. 9. P. 10498–10515.
GO	Мыши KM	10 мг/кг	Интратрахеальное	GO в основном задерживается в легких. Острое повреждение легких и хронический фиброз легких	Li B. et al. // NPG Asia Mater. 2013. Vol. 5. P. 1–8.
GO	Мыши	10 мг/кг	Внутривенное	Инфильтрация воспалительных клеток, отек легких, образование гранул в легких	Zhang X. et al. // Carbon. 2011. Vol. 49. P. 986–995.
GO	Крысы Вистар	50, 150 или 500 мг/кг	Внутрибрюшинное	Гранулематозная реакция с образованием гигантских клеток, дегенерацией и некрозом нейронов	Amrollahi-Sharifabadi M. et al. // Int. J. Nanomed. 2018. 13. 4757–4769.
rGO	Крысы Вистар	7 мг/кг	Внутривенное	rGO проникает в гиппокамп и таламус, снижается параклеточный гематоэнцефалический барьер	Mendonca M.C. et al. // J. Nanobiotechnol. 2015. Vol. 13. P. 78–90.
rGO-PEG	Крысы Вистар	7 мг/кг	Внутривенное	rGO-PEG снижает барьер-функцию крови и мозга из-за образования АФК и ПОЛ	Mendonca M.C. et al. // Mol. Pharm. 2016. Vol. 13. P. 3913–3924.
rGO-PEG	Мыши альбиносы	10 мг/кг	Внутривенное и внутрибрюшинное	rGO-PEG распределяется в печени, почках, костном мозге, селезенке и головном мозге	Syama S. et al. // Bio-materials. 2017. Vol. 131. P. 121–130.

Примечание: RES – ретикулоэндотелиальная система, GO – чистый оксид графена, hGO – гидратированный оксид графена, rGO – восстановленный оксид графена, PEG – полиэтиленгликоль, АФК – активные формы кислорода, ПОЛ – перекисное окисление липидов.

Note: RES – reticuloendothelial system, GO – pure graphene oxide, hGO – hydrated graphene oxide, rGO – reduced graphene oxide, PEG – polyethylene glycol, АФК – reactive oxygen forms, ПОЛ – lipid peroxidation.

в дозе 2,5 мг/кг в день в течение семи дней выявлены значительные гистологические изменения, такие как повреждение крипт и инфильтрация воспалительных клеток в двенадцатиперстной и толстой кишках. К настоящему времени исследования органов пищеварительной системы находятся в зачаточном состоянии, и аспекты долгосрочного воздействия наноматериалов на основе графена еще до конца не выяснены [24].

Влияние на кровеносную систему. Для большинства применений GO и графена требуется внутривенная инъекция, и, следовательно, предва-

рительным условием является оценка его гемосовместимости. Обнаружено, что после внутривенного введения атомно тонких листов GO в концентрациях 2, 5 и 10 мкг/мл у мышей развивается обширная легочная тромбоэмболия [40]. Модифицированный амином графен (G-NH₂) в этих же концентрациях не оказывал абсолютно никакого стимулирующего эффекта на тромбоциты человека и не вызывал тромбоэмболию легких и лизис эритроцитов у мышей, что свидетельствует о том, что G-NH₂ обладает высокой гемосовместимостью и не влияет на биологию циркулирующих клеток крови (эритро-

цитов и тромбоцитов). В работе [41] также выявлена зависимость биологического ответа от типа поступивших в организм графеновых наноматериалов – адсорбция GO на эритроцитах приводила к разрушению мембран с последующим гемолизом, в то время как N-GQD способствовал образованию эхиноцитов.

Влияние на репродуктивную систему.

Важным этапом выявления токсичности веществ является изучение их влияния на репродуктивную функцию животных, а также на развитие и здоровье их потомства. Исследование цито- и генотоксичности GO и rGO на сперматогониальные клетки самцов показало, что после введения графена в концентрациях 100 и 400 мкг/мл происходило уменьшение на 40 % числа мужских стволовых клеток и увеличение в них на 25 % фрагментации ДНК [42].

В работе [43] на сперматозоидах мышей линии Balb/c отмечена зависимость от концентрации цито- и генотоксичность листов GO и rGO. Листы rGO с различным химическим состоянием поверхности были получены с использованием гидротермальных реакций гидразина (N_2H_4) и полифенолов зеленого чая (GTP). Эпидидимальные сперматозоиды инкубировали с суспензией GO или rGO при различных концентрациях (400, 100, 10, 1.0 и 0.1 мг/мл). Генотоксические эффекты графеновых наноматериалов наблюдались при пороговых концентрациях 1.0 мг/мл для N_2H_4 – rGO и HT-rGO, 10 мг/мл для листов GO и GTP – rGO. Высокая генотоксичность листов N_2H_4 – rGO была приписана сверхострой кромке и высокой подвижности листов с возможностью легкого проникновения в сперматозоиды. Авторы пришли к выводу, что физический захват сперматозоидов графеном (особенно GTP-rGO) является одним из важных механизмов, определяющих цитотоксичность, в дополнение к другим реакциям, приводящим к инактивации и/или гибели сперматозоидов.

В статье [44] изучено влияние воздействия квантовых точек графена (GQD) на кратко- и долгосрочную репродуктивную способность мышей-самцов линии ICR и на здоровье их потомства. GQD вводили самцам через желудочно-кишечный тракт в концентрациях 60, 100 и 300 мг GQD/кг массы тела мыши, при внутривенной инъекции – 25, 75 и 150 мг GQD/кг. Результаты исследований показали, что даже высокие дозы GQD (в обоих вариантах введения) не оказали токсического влияния на репродуктивную способность самцов и здоровье их потомства. Воздействие rGO на репродуктивную способность самок мышей линии ICR и развитие потомства исследовано в работе [45]. Самкам мышей вводили маленькие или большие нанолиты rGO в разных дозах (6.25, 12.5 и 25 мг/кг) до или после оплодотворения. В результате проведения эксперимента выявлено, что у самок мышей, которым вводили нанолиты rGO до беременности и на ранней стадии гестации (~ шесть дней), рождались нормальные детеныши, при этом было обнаружено несколько деформированных эмбрионов. Если беременные мыши получали низкие или средние дозы rGO (6.25 и 12.5 мг/кг) на поздней стадии (~ 20 дней) гестации, то у всех выживших самок были

зафиксированы выкидыши. При введении высоких доз rGO (25 мг/кг) большинство беременных мышей погибло.

В работе [46] результаты анатомического и гистологического исследований позволили выявить задержку роста и развития, а также уменьшение длины ворсинок кишечника у потомства самок мышей линии ICR, которые подвергались в период лактации действию GO в дозе 0.5 мг/мл (около 0,8 мг на каждую мышь) по сравнению с контролем. Токсикологические эффекты указывают на то, что длительное воздействие GO пероральным путем может косвенно или прямо привести к аномальному развитию потомства.

Влияние на органы зрения. В обзоре [47] освещается применение наноматериалов семейства графена на органы зрения и возможные механизмы их токсического действия. Актуальность исследований в данной области связана с применением гидрогелей, содержащих графеновые наноматериалы, которые широко используются в контактных линзах, поскольку они очень удобны, биосовместимы и имеют большую площадь поверхности. Описывается, что немодифицированный графен и GO были более цитотоксичными по сравнению с функционализированными наноматериалами семейства графена и rGO. Авторы подчеркивают, что необходимо учитывать долгосрочное действие этих материалов после попадания в глаза. На сегодняшний день различные механизмы токсичности наноматериалов семейства графена на органы зрения включают повреждение митохондрий, окислительный стресс, воспалительный ответ, апоптоз, некроз, повреждение клеточной мембраны, гибель клеток, нарушение клеточного цикла и потерю жизнеспособности клеток [47].

Влияние на кожные покровы. Одним из наиболее важных путей биологического воздействия наноматериалов на основе графена считается контакт с кожей, выполняющей роль первой линии защиты организма. К настоящему времени исследований, посвященных этому вопросу, немного. Кожные эффекты, возникающие в результате действия материалов на основе графена, описываются в виде контактного дерматита [48] или воспалительных реакций при исследовании местного иммунитета [49]. Обнаружено, что GO оказывает незначительное токсическое действие на клетки кожи при концентрациях ниже 100 мкг/мл [50].

Генотоксичность и цитотоксичность.

Для оценки у животных токсичности, связанной с графеном, распространены анализы на генотоксичность и цитотоксичность [34]. Наночастицы, попадая в клетку посредством различных механизмов, таких как простая диффузия через клеточную мембрану, эндоцитоз и фагоцитоз или через ионные каналы или поры, могут индуцировать цитотоксические эффекты [51]. Исследования на животных, представленные в работах [52–54], показали, что графеновые наноматериалы индуцируют цитотоксичность путем увеличения количества внутриклеточных активных форм кислорода (АФК). Как известно, повышенные уровни АФК разрушают липиды, белки и ДНК, что приводит к повреждению

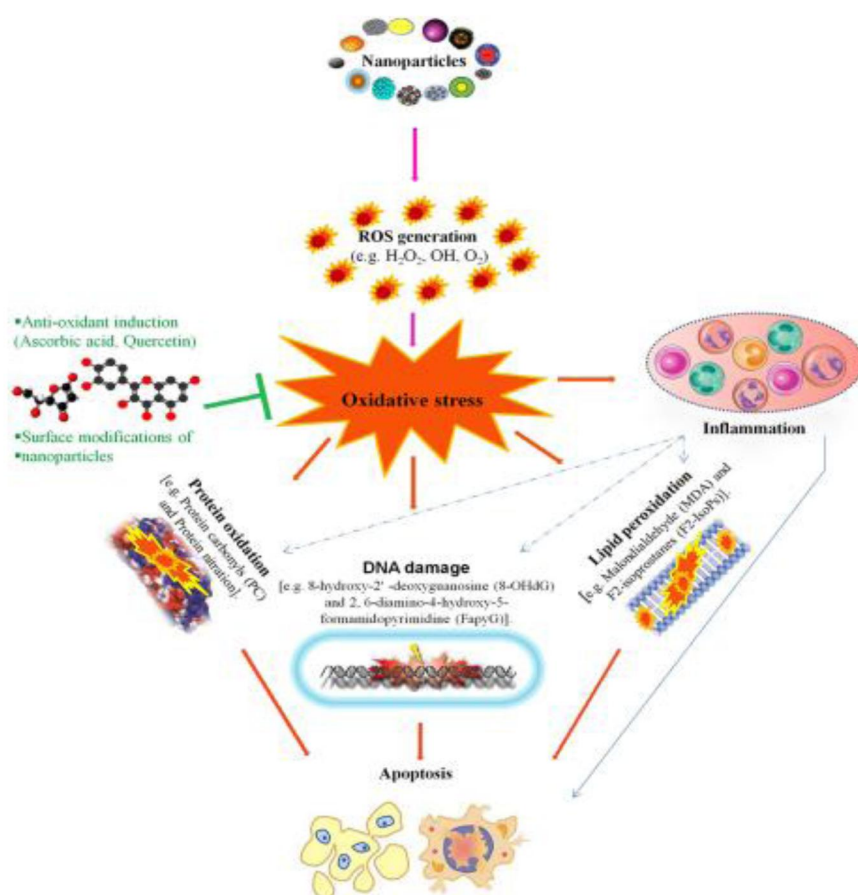


Рис. 4. Схема биологического действия наночастиц [57].
Fig. 4. Scheme of the biological action of nanoparticles [57].

мембран клеток [27]. Вмешиваясь в окислительно-восстановительные реакции, наночастицы могут изменять окислительно-восстановительные пути в клетках и вызывать токсичность [55, 56]. На рис. 4 проиллюстрирована нанотоксичность в результате избытка свободных радикалов, способствующих окислительному стрессу, который вызывает перекисное окисление липидов, окисление белков и повреждение ДНК. Все вместе они усиливают воспалительную реакцию, предполагая наличие множества воспалительных путей [57].

В дополнение к исследованиям токсического воздействия наноматериалов на основе графена ряд исследователей предлагают рассмотреть двумерные наноматериалы в качестве кандидатов на роль потенциальных антиоксидантов с функцией физического барьера со сверхвысокой площадью поверхности для удаления свободных радикалов [58]. Ионизирующее излучение вызывает радиолиз воды и производство АФК [59]. В литературе обсуждается возможность применения углеродных наночастиц в качестве радиозащитных агентов и/или поглотителей свободных радикалов. Радиопротекторы должны удовлетворять следующим требованиям: высокая эффективность, отсутствие токсичности, удобный способ введения, низкие производственные затраты, стабильность при хранении, длительная продолжительность защитного действия и способность смягчать воздействие различных типов ионизирующего излучения [60]. К настоящему времени данные о возможных радиозащитных свойствах

важ графеновых наноматериалов единичны. Так, на культивируемых клетках фибробластов человека показано, что ГО при концентрации 10 мкг/мл уменьшает повреждение как самих клеток, так и их генетического материала, а также снижает уровень АФК, вызванный рентгеновским излучением, тогда как ГО в высоких концентрациях (100 и 500 мкг/мл) приводит к повреждению ДНК и гибели клеток [61]. Авторы делают вывод, что низкие концентрации ГО могут использоваться в качестве эффективного радиозащитного средства.

В работе [62] для оценки эффекта радиозащиты CNSI (аналог графена с 12 конъюгированными и карбонилированными бензольными кольцами) кишечника исследовали мышей-самцов BALB/c при пероральном введении 1 мг/мл CNSI (200 мкл) и последующем облучении рентгеновскими лучами (4.5 Гр). CNSI – это единственные одобренные CFDA (Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Китая)

наночастицы для клинического применения, которые могут не только оставаться в кишечнике в течение длительного времени из-за своего наноразмера, но также эффективно выводиться из кишечника, что снижает опасность его долгосрочной токсичности. CNSI демонстрирует активность по улавливанию высокореактивных форм кислорода, которые эффективно сдерживают апоптоз эпителиальных клеток тонкого кишечника и стволовых клеток крипт. CNSI помогает избавиться от свободных радикалов в микросреде кишечника и, таким образом, поддерживает баланс кишечной флоры, чтобы смягчить симптомы радиационного энтерита. Наконец, CNSI имеет хорошую химическую стабильность и биобезопасность для кишечника, что подходит для перорального введения. Наряду с радиопротекторами, интерес радиобиологов вызывают вещества с противоположным действием – радиосенсибилизаторы. В последнее время стали появляться работы, в которых в качестве радиосенсибилизаторов используются различные наночастицы [63]. Одной из главных целей в этом случае является поиск химических соединений, повышающих чувствительность раковых клеток к воздействию ионизирующей радиации, что может быть полезным при направленном лечении опухолевых заболеваний. Проблемы защиты здоровых тканей с помощью радиопротекторов и повышение радиочувствительности раковых клеток путем использования радиосенсибилизаторов открывают новые возможности для радиотерапии злокачественных опухолей.

Заклучение

Обзор современной литературы по биологическому действию графеновых наноматериалов демонстрирует возрастающий интерес к этому научному направлению, при этом обозначена необходимость более подробного изучения токсичности графена и материалов на его основе с обязательным выявлением связи между их характеристикой и биологической эффективностью. При исследованиях на целом организме биологический эффект зависит не только от химической природы наноматериалов, но и от дозы, способа введения, времени и режима воздействия, а также используемых для испытаний *in vivo* животных. Кроме того, на пути к клиническому воплощению, учитывая возможный токсический эффект наночастиц на основе графена, необходимо исследовать и критически оценивать потенциальные долгосрочные риски. Раскрытие новых свойств графена и его производных способствует расширению областей его применения, в частности, в радиотерапии опухолей. Для более глубокого понимания возможных биологических эффектов в организме млекопитающих в ответ на действие наноструктур целесообразным представляется комплексный подход с выявлением ответных реакций на разных уровнях структурной организации организма животных. Подробная оценка биологической безопасности графеновых наноструктур будет способствовать дальнейшему развитию знаний, необходимых для разработки безопасных технологий и продуктов на основе графена, подходящих для медицинских приложений, и сведения к минимуму рисков для здоровья человека.

Работа выполнена в рамках госзадания Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (№ АААА-А18-118011190102-7).

Литература – References

1. Electric field effect in atomically thin carbon films / K.S. Novoselov, A.K. Geim, S.V. Morozov, D. Jiang, Zhang Y., S.V. Dubonos, I.V. Grigorieva, A.A. Firsov // *Science*. 2004. Vol. 306. P. 666–669. DOI: 10.1126/science. 1102896
2. Graphene and graphene oxide: synthesis, properties, and applications / Y. Zhu, S. Murali, W. Cai, X. Li, J.W. Suk, J.R. Potts, R.S. Ruoff // *Advanced materials*. 2010. Vol. 22. No. 35. P. 3903–3958. DOI: 10.1002/adma.201001068
3. Graphene oxide induces dose-dependent lung injury in rats by regulating autophagy / L. Zhang, S. Ouyang, H. Zhang, M. Qiu, Y. Dai, S. Wang, Y. Wang, J. Ou // *Experimental and therapeutic medicine*. 2021. Vol. 462. P. 1–11. DOI: 10.3892/etm.2021.9893
4. Feng L., Wu L., Qu X. New Horizons for Diagnostics and Therapeutic Applications of Graphene and Graphene Oxide // *Advanced Materials*. 2013. Vol. 25. P. 168–186. DOI: 10.1002/adma.201203229
5. Zhang X., Liang T., Ma Q. Layer-by-layer assembled nano-drug delivery systems for cancer treatment. *Drug Delivery*. 2021. Vol. 28(1). P. 655–69. DOI: 10.1080/10717544.2021.1905748.
6. Graphene in mice: ultrahigh *in vivo* Tumor uptake and efficient photothermal therapy / K. Yang, S. Zhang, G. Zhang, X. Sun, S.-T. Lee, Z. Liu // *Nano Lett.* 2010. Vol. 10 (9). P. 3318–3323. DOI: 10.1021/nl100996u
7. X-ray-induced nanoparticle-based photodynamic therapy of cancer / X. Zou, M. Yao, L. Ma, M. Hossu, X. Han, P. Juzenas, W. Chen // *Nanomedicine*. 2014. Vol. 9 (15). P. 2339–2351. DOI: 10.2217/nnm.13.198
8. Recent progress of graphene oxide-based multifunctional nanomaterials for cancer treatment / L. Liu, Q. Ma, J. Cao, Y. Gao, S. Han, Y. Liang, T. Zhang, Y. Song & Yong et al. // *Cancer Nano*. 2021. Vol. 12 (18). DOI: 10.1186/s12645-021-00087-7
9. Langer R., Vacanti J. Advances in tissue engineering // *J. of Pediatric Surgery*. 2016. Vol. 51(1). P. 8–12. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2015.10.022
10. Graphene-Based Interfaces Do Not Alter Target Nerve Cells / A. Fabbro, D. Scaini, V. León, E. Vázquez, G. Cellot, G. Privitera et al. // *ACS Nano*. 2016. Vol. 10. No. 1. P. 615–623. DOI: 10.1021/acsnano.5B05647
11. High-resolution mapping of infraslow cortical brain activity enabled by graphene micro-transistors / E. Masvidal-Codina, X. Illa, M. Dasilva et al. // *Nature Mater*. 2019. Vol. 18. P. 280–288. DOI: 10.1038/s41563-018-0249-4
12. Аксенова Е.И., Камынина Н.Н., Маклакова Ю.А. Биосенсорные системы в медицине: экспертный обзор. М.: ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ», 2020. 20 с.
Aksenova E.I., Kamynina N.N., Maklakova Yu.A. Biosensornye sistemy v medicine: ekspertnyi obzor [Biosensory systems in medicine: an expert review]. Moscow: Res. Inst. of Healthcare Organization and Medical Management of the Moscow Dept. of Healthcare, 2020. 20 p.
13. Graphene oxide/hydroxyapatite composite coatings fabricated by electrochemical deposition / Y. Zeng, X. Pei, S. Yang, H. Qin, H. Cai, S. Hu, L. Sui, Q. Wan, J. Wang // *Surface and Coatings Technology*. 2016. Vol. 286. P. 72–79. DOI: 10.1016/j.surfcoat. 2015. 12.013
14. Reduced Graphene Oxide Incorporated GelMA Hydrogel Promotes Angiogenesis For Wound Healing Applications / S.R.U. Rehman, R. Augustine, A.A. Zahid, R. Ahmed, M. Tariq, A. Hasan // *Int. J. of Nanomedicine*. 2019. Vol. 14. P. 9603–9617. DOI: 10.2147/IJN.S218120
15. Bianco A. Graphene: Safe or Toxic? The Two Faces of the Medal // *Angewandte Chemie International Edition*. 2013. Vol. 52. P. 4986–4997. DOI: 10.1002/anie.201209099
16. Krug H.F. Nanosafety Research – Are We on the Right Track? // *Angewandte Chemie International Edition*. 2014. Vol. 53. P. 12304–12319. DOI: 10.1002/anie.201403367
17. Максимова Г.М., Бурдов В.А. Квантовая механика графена. Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2019. 37 с.

- Maksimova G.M., Burdov V.A.* Kvantovaya mehanika grafena [Quantum mechanics of graphene]. Nizhni Novgorod: N.Novgorod State Univ., 2019. 37 p.
18. Thermal Properties of PEG/Graphene Nanoplatelets (GNPs) Composite Phase Change Materials with Enhanced Thermal Conductivity and Photo-Thermal Performance / *H. Wang, H. Zhu, Y. Gu, X. Li, X. Mao* // *Applied Sciences*. 2018. Vol. 8. P. 2613 (1–14). DOI: 10.3390/app8122613
19. Surface engineering of graphene-based nanomaterials for biomedical applications / *S. Shi, F. Chen, E.B. Ehlerding, W. Cai* // *Bioconjug chemistry*. 2014. Vol. 25. P. 1609–1619. DOI: 10.1021/bc500332c
20. *Kim J., Gurunathan S.* Synthesis, toxicity, biocompatibility, and biomedical applications of graphene and graphene-related materials // *Int. J. of Nanomedicine*. 2016. Vol. 11. P. 1927–1945. DOI: 10.2147/IJN.S105264
21. Graphene and graphene oxide as nanomaterials for medicine and biology application / *S. Priyadarsini, S. Mohanty, S. Mukherjee, S. Basu, M. Mishra* // *J. of Nanostructure in Chemistry*. 2018. Vol. 8. P. 123–137. DOI: 10.1007/s40097-018-0265-6
22. *Toktam N., Cousins B.G., Seifalian A.M.* Toxicology of chemically modified graphene-based materials for medical application // *Archives of toxicology*. 2014. Vol. 88. P. 1987–2012. DOI: 10.1007/s00204-014-1361-0
23. Recent advances in graphene-based nanomaterials: properties, toxicity and applications in chemistry, biology and medicine / *J. Yao, H. Wang, M. Chen, Yang* // *Microchim Acta*. 2019. Vol. 186. P. 395 (1–25). DOI: 10.1007/s00604-019-3458-x
24. Safety Assessment of Graphene-Based Materials: Focus on Human Health and the Environment / *B. Fadeel, C. Bussy, S. Merino, E. Vázquez, E. Flahaut, F. Mouchet et al.* // *ACS Nano*. 2018. Vol. 12. P. 10582–10620. DOI: 10.1021/acsnano.8b04758
25. *Liao C., Li Y., Tjong S.C.* Graphene Nanomaterials: Synthesis, Biocompatibility, and Cytotoxicity // *Int. J. of Molecular Sciences*. 2018. Vol. 19. P. 35–64. DOI: 10.3390/ijms19113564
26. Toxicology of graphene-based nanomaterials / *G. Lalwani, M. D'Agati, A. M. Khan, B. Sitharaman* // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016. Vol. 105 (Pt B). P. 109–144. DOI: 10.1016/j.addr.2016.04.028
27. Toxicity of graphene-family nanoparticles: A general review of the origins and mechanisms / *L. Ou, B. Song, H. Lianh, J. Liu, X. Feng, B. Deng, T. Sun, L. Shao* // *Part. Fibre Toxicol.* 2016. Vol. 13. P. 57 (1–24). DOI: 10.1186/s12989-016-0168-y
28. Biocompatibility of graphene oxide / *K. Wang, J. Ruan, H. Song, J. Zhang, Y. Wo, S. Guo, D. Cu* // *Nanoscale Research Letters*. 2011. Vol. 6. P. 8 (1–8). DOI: 10.1007/s11671-010-9751-6
29. The use of polyethylenimine-modified graphene oxide as a nanocarrier for transferring hydrophobic nanocrystals into water to produce water-dispersible hybrids for use in drug delivery / *L. Yan, Y.-N. Chang, L. Zhao, Z. Gu, X. Liu et al.* // *Carbon*. 2013. Vol. 57. P. 120–129. DOI: org/10.1016/j.carbon.2013. 01.042
30. Dose ranging, expanded acute toxicity and safety pharmacology studies for intravenously administered functionalized graphene nanoparticle formulations / *S. Kanakia, J.D. Tousseint, S.M. Chowdhury, T. Tembulkar, S. Lee, Y.-P. Jiang R. Z Lin, K.R. Shroyer, W. Moore, B. Sitharaman* // *Biomaterials*. 2014. Vol. 35. P. 7022–7031. DOI: 10.1016/j.biomaterials. 2014.04.066
31. Influence of Polyethylene Glycol Coating on Biodistribution and Toxicity of Nanoscale Graphene Oxide in Mice after Intravenous Injection / *B. Li, X. Zhang, J. Yang, Y. Zhang, W. Li, C. Fan, Q. Huang* // *Int. J. of Nanomedicine*. 2014. Vol. 9. P. 4697–4707. DOI: 10.2147/IJN.S66591
32. In Vivo Pharmacokinetics, Long-Term Biodistribution, and Toxicology of PEGylated Graphene in Mice / *K. Yang, J. Wan, S. Zhang, Y. Zhang, S.-T. Lee, Z. Liu* // *ACS Nano*. 2011. Vol. 5. P. 516–522. DOI: 10.1021/nn1024303
33. Assessing in vivo toxicity of graphene materials: current methods and future outlook / *Y. Ma, H. Shen, X. Tu, Z. Zhang* // *Nanomedicine*. 2014. Vol. 9. No. 10. P. 1565–1580. h DOI: 10.2217/nnm.14.68
34. Nanotoxicity of graphene and graphene oxide / *A.B. Seabra, A.J. Paula, R. de Lima, O.L. Alves, N. Durán* // *Chemical Research in Toxicology*. 2014. Vol. 27. No. 2. P. 159–168. DOI: 10.1021/tx400385x
35. Nanomaterials Versus Ambient Ultrafine Particles: An Opportunity to Exchange Toxicology Knowledge / *V. Stone, M.R. Miller, M.J.D. Clift, A. Elder, N.L. Mills, P. Møller et al.* // *Environmental Health Perspectives*. 2017. Vol. 125. P. 106002-1–106002-17. DOI: 10.1289/EHP42
36. Minimizing Oxidation and Stable Nanoscale Dispersion Improves the Biocompatibility of Graphene in the Lung / *M.C. Duch, G.R.S. Budinger, Y.T. Liang, S. Soberanes, D. Urich, S.E. Chiarella, L.A. Campochiaro et al.* // *Nano Letters*. 2011. Vol. 11. P. 5201–5207. DOI: 10.1021/nl202515a
37. Thrombus Inducing Property of Atomically Thin Graphene Oxide Sheets / *S.K. Singh, M.K. Singh, M.K. Nayak, S. Kumari, S. Shrivastava, J.J.A. Grácio, D. Dash* // *ACS Nano*. 2011. Vol. 5. P. 4987–4996. DOI: 10.1021/nn201092p
38. Biodistribution and pulmonary toxicity of intratracheally instilled graphene oxide in mice / *Li, J. Yang, Q. Huang, Y. Zhang, C. Peng, Y. Zhang, Y. He, J. Shi, W. Li, J. Hu* // *NPG Asia Materials*, 2013. Vol. 5 (4). e44. DOI: 10.1038/am.2013.7
39. Acute Oral Administration of Single-Walled Carbon Nanotubes Increases Intestinal Permeability and Inflammatory Responses: Association with the Changes in Gut Microbiota in Mice / *H. Chen, R. Zhao, B. Wang, L. Zheng, H. Ouyang, H. Wang et al.* // *Advanced*

- healthcare materials. 2018. Vol. 7. P. 1701313 (1–14). DOI: 10.1002/adhm.201701313
40. Thrombus inducing property of atomically thin graphene oxide sheets / *S.K. Singh, M.K. Singh, M.K. Nayak, S. Kumari, S. Shrivastava, J.J. Gracio, D. Dash* // *ACS Nano*, 2011. Vol. 5 (6). P. 4987–4996.
41. Wang T., Zhu S., Jiang X. Toxicity mechanism of graphene oxide and nitrogen-doped graphene quantum dots in RBCs revealed by surface-enhanced infrared absorption spectroscopy // *Toxicology Reports*. 2015. Vol. 4 (4). P. 885–894. DOI: 10.1039/c4tx00138a
42. Synthesis and cyto-genotoxicity evaluation of graphene on mice spermatogonial stem cells / *E. Hashemi, O. Akhavan, M. Shamsara, M. Daliri, M. Dashtizad, A. Farmany* // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2016. Vol. 146. P. 770–776. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2016.07.019
43. Cyto and genotoxicities of graphene oxide and reduced graphene oxide sheets on spermatozoa / *E. Hashemi, O. Akhavan, M. Shamsara, R. Rahighi, A. Esfandiar, A.R. Tayefeh* // *RSC Advances*. 2014. (4). P. 27213–27223. DOI: 10.1039/c4ra01047g
44. Systematic evaluation of graphene quantum dot toxicity to male mouse sexual behaviors, reproductive and offspring health / *D. Zhang, Z. Zhang, Y. Wu, K. Fu, Y. Chen, W. Li, M. Chu* // *Biomaterials*. 2019. Vol. 194. P. 215–232. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.12.001
45. Xu S., Zhang Z., Chu M. Long-term toxicity of reduced graphene oxide nanosheets: Effects on female mouse reproductive ability and offspring development // *Biomaterials*. 2015. Vol. 54. P. 188–200. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2015.03.015
46. Effects of Graphene Oxide on the Development of Offspring Mice in Lactation Period / *C. Fu, T. Liu, L. Li, H. Liu, Q. Liang, X. Meng* // *Biomaterials*. 2015. Vol. 40. P. 23–31. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.11.014
47. Graphene Family Nanomaterials in Ocular Applications: Physicochemical Properties and Toxicity / *S. Borandeh, V. Alimardani, S.S. Abolmaali, J. Seppälä* // *Chemical Research in Toxicology*. 2021. pubs.acs.org/crt P. A–Q. DOI: 10.1021/acs.chemrestox.0c00340
48. Exposure to Carbon Nanotube Material: Assessment of Nanotube Cytotoxicity Using Human Keratinocyte Cells / *A.A. Shvedova, V. Castranova, E.R. Kisin, D. Schwegler-Berry, A.R. Murray, V.Z. Gandelsman, A. Maynard, P. Baron* // *J. of Toxicology and Environmental Health (Part A)*. 2003. Vol. 66. P. 1909–1926. DOI: 10.1080/713853956
49. T Lymphocytes Dominate Local Leukocyte Infiltration in Response to Intradermal Injection of Functionalized Graphene-Based Nanomaterial / *G.F. Erf, D.M. Falcon, K.S. Sullivan, S.E. Bourdo* // *J. of Applied Toxicology*. 2017. Vol. 37. P. 1317–1324. DOI: 10.1002/jat.3492
50. Synergistic antibacterial actions of graphene oxide and antibiotics towards bacteria and the toxicological effects of graphene oxide on human epidermal keratinocytes / *T. Pulingam, K.L. Thong, J.N. Appaturi, N.I. Nordin., J.D. Ignatius, W.L. Chin, F.L. Bey* // *European J. of pharmaceutical sciences*. 2020. Vol. 142. P. 1–10. DOI: 10.1016/j.ejps.2019.105087
51. Mytych J., Wnuk M. Nanoparticle technology as a double-edged sword: cytotoxic, genotoxic and epigenetic effects on living cells // *J. Biomater. Nanobiotechnol.* 2013. Vol. 4. No. 1. P. 53–63. DOI: 10.4236/jbnb.2013.41008
52. Degradation of mitochondria and oxidative stress as the main mechanism of toxicity of pristine graphene on U87 glioblastoma cells and tumors and HS-5 cells / *S. Jaworski, B. Strojny, E. Sawosz, M. Wierzbicki, M. Grodzik, M. Kutwin, K. Daniluk, A. Chwalibog* // *J. of Biomaterials and Nanobiotechnology*. 2019. Vol. 20. P. 650–667. DOI: 10.3390/ijms20030650
53. Reduced graphene oxide induces transient blood–brain barrier opening: An in vivo study / *M.C. Mendonca, E.S. Soares, M.B. de Jesus, H.J. Ceragioli, M.S. Ferreira, R.R. Catharino, M.A. Cruz-Höfling* // *J. Nanobiotechnol.* 2015. Vol. 13. P. 78. DOI 10.1186/s12951-015-0143-z
54. Oxidative damage in the kidney and brain of mice induced by different nanomaterials / *S. Shang, S.Y. Yang, Z.M. Liu, X. Yang* // *Front. Biol.* 2015. Vol. 10. P. 91–96. DOI: 10.1007/s11515-015-1345-3
55. Toxic potential of materials at the nanolevel / *A. Nel, T. Xia, L. Mädler, N. Li* // *Science*. 2006. Vol. 311. P. 622–627. DOI: 10.1126/science.1114397
56. Unraveling stress-induced toxicity properties of graphene oxide and the underlying mechanism / *W. Zhang, C. Wang, Z. Li, Z. Lu, Y. Li, J.J. Yin et al.* // *Advanced Materials*. 2012. Vol. 24. P. 5391–5397. DOI: 10.1002/adma.201202678
57. Toxicity of Nanoparticles on the Reproductive System in Animal Models: A Review / *R.D. Brohi, L. Wang, H.S. Talpur, D. Wu, F.A. Khan, D. Bhattarai, Z.U. Rehman, F. Farmanullah, L.J. Huo* // *Frontiers in Pharmacology*. 2017. Vol. 8. P. 606. DOI: 10.3389/fphar.2017.00606
58. Antioxidant chemistry of graphene-based materials and its role in oxidation protection technology / *Y. Qiu, Z. Wang, A.C.E. Owens, I. Kulaots, Y. Chen, A.B. Kane, R.H. Hurt* // *Nanoscale*. 2014. Vol. 6 P. 11744–11755. DOI: 10.1039/c4nr03275f
59. Кудряшов Ю.Б. Радиационная биофизика (ионизирующие излучения) / Под ред. В.К. Мазурика, М.Ф. Ломанова. М.: ФИЗМАТЛИТ, 2004. 448 с.
Kudryashov Yu.B. Radiacionnaya biofizika (ioniziruyushchie izlucheniya) [Radiation biophysics (ionizing radiation)] / Ed. V.K. Mazurik, M.F. Lomanov. Moscow: FIZMATLIT, 2004. 448 p.
60. Gudkov S.V., Popova N.R., Bruskov V.I. Radioprotective substances: history, trends and prospects // *Biophysics*. 2015. Vol. 60. No. 4. P. 659–667. DOI: 10.1134/S0006350 9150 40120

61. Reducing X-Ray Induced Oxidative Damages in Fibroblasts with Graphene Oxide / *Y. Qiao, P. Zhang, C. Wang, L. Ma, M. Su* // *Nanomaterials* (Basel). 2014. Vol. 4. P. 522–534. DOI: 10.3390/nano4020522
62. Clinically Approved Carbon Nanoparticles with Oral Administration for Intestinal Radioprotection via Protecting the Small Intestinal Crypt Stem Cells and Maintaining the Balance of Intestinal Flora / *C. Wang, J. Xie, X. Dong, L. Mei, M. Zhao, Z. Leng, H. Hu, L. Li, Z. Gu, Y. Zhao* // *Nano Micro Small*. 2020. Vol. 16. P. 1–14. DOI: 10.1002/smll.201906 915
63. Monte Carlo-based calculation of nano-scale dose enhancement factor and relative biological effectiveness in using different nanoparticles as a radiosensitizer / *M. Robatjazi, H.R. Baghani, A. Rostami, A. Pashazadeh* // *Int. J. of Radiation Biology*. 2021. DOI: 10.1080/09553002.2021.1934748

Статья поступила в редакцию 03.08.2021.

УДК 631.4:630*182.47/.48:504.5:676:628.395
DOI 10.19110/1994-5655-2021-5-46-60

**Е.М. ЛАПТЕВА, Ю.В. ХОЛОПОВ, О.В. ШАХТАРОВА,
Н.Н. БОНДАРЕНКО, С.Н. КОСТРОВА**

ПОЧВЫ И ПОЧВЕННЫЙ ПОКРОВ В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ АЭРОТЕХНОГЕННЫХ ВЫБРОСОВ ЦЕЛЛЮЛОЗНО-БУМАЖНОГО ПРОИЗВОДСТВА

*Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
г. Сыктывкар*

*lapteva@ib.komisc.ru,
vegalyn@mail.ru,
olga.shakhtarova@mail.ru,
bondnikropolnik@mail.ru,
kostrova@ib.komisc.ru*

**E.M. LAPTEVA, YU.V. KHOLOPOV,
O.V. SHAKHTAROVA, N.N. BONDARENKO,
S.N. KOSTROVA**

SOILS AND SOIL COVER IN THE ZONE OF INFLUENCE OF AIRBORNE INDUSTRIAL EMISSIONS FROM PULP AND PAPER PRODUCTION

*Institute of Biology, Federal Research Centre
Komi Science Centre, Ural Branch, RAS,
Syktyvkar*

Аннотация

Выполнена оценка экологического состояния почв наземных экосистем (сосняки лишайниковые, сосняки черничные, ельники черничные), расположенных в градиенте аэротехногенного воздействия АО «Монди СЛПК». Выявлены особенности изменения физико-химических показателей почв в зависимости от их типовой принадлежности и уровня воздействия газо-пылевых выбросов предприятия. Установлено, что на современном этапе влияние АО «Монди СЛПК» на почвы наземных экосистем прослеживается в основном в импактной зоне, для которой характерно комплексное техногенное воздействие (наличие поселений, сельскохозяйственных и промышленных предприятий, авто- и ж/д магистралей и пр.). Трансформация свойств почв в импактной зоне проявляется в: (а) изменении кислотно-основного состояния почв в сторону подщелачивания; (б) повышении, по сравнению с почвами, фоновых участков, концентрации железа и углеводородов; (в) превышении в отдельных образцах почв значений ПДК и ОДК для марганца ($1.0 \div 5.7 \text{ ПДК}_{\text{Мп}}$) и мышьяка ($1.0 \div 1.7 \text{ ОДК}_{\text{Ас}}$). Выявленное увеличение в отдельных образцах почв содержания цинка, составляющее $1 \div 2 \text{ ОДК}_{\text{Zn}}$, скорее всего, обусловлено естественными причинами – поступлением Zn в почвы при разложении древесных остатков. Аккумуляции в почвах водорастворимых компонентов газо-пылевых выбросов АО «Монди СЛПК» не выявлено. В биоклиматических условиях таежной зоны они легко вымываются из почв легкого гранулометрического состава, занимающих автоморфные позиции ландшафтов.

Ключевые слова:

целлюлозно-бумажное производство, аэротехногенное загрязнение, почвы, загрязнение почв, средняя тайга

Abstract

An assessment of the ecological state of soils of terrestrial ecosystems (lichen pine forests, bilberry pine forests, bilberry spruce forests) located in the gradient of aerotechnogenic impact of Mondi Syktyvkar JSC was carried out. The peculiarities of changes in the physical and chemical parameters of soils depending on the soil type and the level of exposure to gas and dust emissions of the enterprise are revealed. It is established that at the present stage, the influence of Mondi Syktyvkar JSC on the soils of terrestrial ecosystems is traced mainly in the impact zone, which is characterized by a complex anthropogenic impact (the presence of settlements, agricultural and industrial enterprises, automobile and railway highways, etc). The transformation of soil properties in the impact zone is manifested in: a) a change in the acid-base state of soils towards alkalization; b) an increase in the iron and hydrocarbons concentration compared to the soils of background sites; c) exceeding in indi-

vidual soil samples of MAC and APC criteria for manganese ($1.0 \div 5.7$ MAC(Mn) and arsenic ($1.0 \div 1.7$ APC(As)). The revealed increase in the Zn content ($1 \div 2$ APC(Zn) in selected soil samples is most likely due to natural causes - the entry of Zn into the soil during the decomposition of wood residues. Accumulation of water-soluble components of gas and dust emissions of Mondi Syktyvkar JSC in soils has not been revealed. At

the bioclimatic conditions of the taiga zone, they are easily washed out of light granulometric soils, occupying automorphic positions of landscapes.

Keywords:

pulp and paper industry, aero technogenic pollution, soils, soil pollution, middle taiga

Введение

Целлюлозно-бумажная промышленность (ЦБП) – одна из ведущих отраслей обрабатывающей промышленности Российской Федерации (РФ), на ее долю приходится около 2 % от объема промышленной продукции России [1, 2]. На территории России функционируют 270 объектов ЦБП, среди которых 20 – крупные комбинаты по переработке целлюлозы с высокой мощностью производства [3]. В их число входит АО «Монди Сыктывкарский ЛПК» (Монди СЛПК) – одно из крупнейших, динамично развивающихся предприятий ЦБП [2], которое функционирует на территории Республики Коми с 1969 г.

Известно, что производство целлюлозно-бумажных комбинатов оказывает негативное воздействие на состояние окружающей среды [4]. Это обусловлено высокой материалоемкостью ЦБП (для получения 1 т целлюлозы необходимо в среднем $5\text{--}6 \text{ м}^3$ древесины), водоемкостью (на 1 т целлюлозы расходуется в среднем 350 м^3 воды) и образованием значительного количества отходов [5, 6]. В результате аэротехногенных выбросов ЦБП непосредственно в воздух и с газо-пылевыми выбросами в окружающую среду поступает значительное количество минеральной пыли, содержащей карбонаты и сульфаты кальция и натрия, а также макро- и микроэлементы [3, 7]. В почвах, находящихся в зоне влияния выбросов ЦБП, отмечены повышенные концентрации тяжелых металлов (Cu, Zn, Pb, Cd, Hg и др.) и серы [8].

В Республике Коми при оценке воздействия предприятий целлюлозно-бумажного производства на компоненты природной среды первоочередное внимание обращалось на состояние древостоев и растений напочвенного покрова наземных экосистем [9–12], почвенных беспозвоночных животных [13, 14], накопление поллютантов в снежном покрове [7] в зоне влияния аэротехногенных выбросов Монди СЛПК, поступление поллютантов в составе сточных вод [4]. Почвы и почвенный покров в данном аспекте не исследованы. В рамках комплексных исследований, выполненных в 2018–2020 гг. сотрудниками Института биологии ФИЦ Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук (ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН) с целью оценки долговременного влияния Монди СЛПК на биоразнообразие окружающей среды, особое внимание было уделено состоянию в зоне воздействия его аэротехногенных выбросов почвенного покрова и почв, со свойствами и режимами которых тесно

связано функционирование растительных сообществ и почвенной биоты.

Цель данной работы – оценка современного состояния почв и выявление закономерностей изменения их свойств в градиенте аэротехногенного загрязнения под влиянием целлюлозно-бумажного производства.

Объекты и методы

Исследования проводили в окрестностях г. Сыктывкара (европейский Северо-Восток России, Республика Коми). В геоморфологическом отношении район исследования приурочен к территории Вычегодско-Мезенской равнины с водно- и озерно-ледниковыми отложениями московско-микулинского гляциоседиментационного цикла [15]. Согласно почвенно-географическому районированию РК [16], он охватывает Сысольский и Луза-Сысольский почвенные округа Сысола-Вычегодской провинции подзоны средней тайги, в пределах которой преимущественно распространены подзолистые и болотно-подзолистые почвы. Почвенно-растительный покров территории в значительной мере трансформирован, что связано с длительной историей его освоения: развитием городской инфраструктуры, наличием поселений, сельскохозяйственных и промышленных комплексов, авто- и ж/д магистралей, трубопроводов, ЛЭП, мелиорированных земель, участков разновозрастных вырубок лесов и пр.

Для оценки влияния производственной деятельности Монди СЛПК на почвы и почвенный покров прилегающей территории использовали постоянные пробные площади (ППП), выделенные с учетом:

- зонирования территории по степени воздействия предприятия на наземные экосистемы (импактная зона, буферная зона, условный фон);
- розы ветров, определяющей направление преимущественного распространения газо-пылевых выбросов Монди СЛПК, – с юга на север от санитарно-защитной зоны (СЗЗ) предприятия;
- типа растительности (сосняки лишайниковые, сосняки черничные, ельники черничные);
- дренированности ландшафтов (все пробные площади приурочены к хорошо дренированным участкам водораздельных территорий и борových террас долины р. Вычегды).

Исследования проводили в пределах ППП, на которых, начиная с середины 90-х гг. прошлого столетия, ведется мониторинг состояния еловых и

Таблица 1

Краткая характеристика объектов исследования в различных зонах аэротехногенного влияния АО «Монди СЛПК»

Table 1

Brief description of the objects of research in various zones of aerotechnogenic influence of Mondy Syktyvkar JSC

Номер ¹	Расстояние ² , км	Координаты ³	Растительное сообщество	Тип почвы, формула строения профиля почвы
Импактная зона				
ППП 3	1.3	61°50'12.7" с.ш. 50°42'56.8" в.д.	Сосняк разнотравный (Ср) ⁴	Подзолистая (П) ⁴ $O \frac{0-3}{3} O_{Ah} \frac{3-6}{3} A_2 \frac{6-11}{5} A_{2B} \frac{11-18}{7} B \frac{18-40}{22} D \frac{40-100}{60}$
ППП 37	3.5	62°01'35.4" с.ш. 50°36'22.9" в.д.	Ельник черничный (Еч)	Подзолистая поверхностно-глееватая ⁵ (Ппг) $O \frac{0-10}{10} A_{2g} \frac{10-20(23)}{10(13)} A_{2B} \frac{10(23)-36(40)}{26(27)} D \frac{36-100}{64} DC \frac{100-120}{20}$
Буферная зона				
ППП 13	7.0	61°58'26.2" с.ш. 51°08'59.6" в.д.	Сосняк лишайниковый (Сл)	Подзол иллювиально-железистый (П ^{ИЖ}) $O \frac{0-1.5}{1.5} A_2 \frac{1.5-6(7)}{4.5(5.5)} Bf \frac{6(7)-27}{20(21)} B \frac{27-63}{36} BC \frac{63-107}{44} C \frac{107-127}{20}$
ППП 14	11.0	61°47'15.2" с.ш. 50°55'16.6" в.д.	Сосняк лишайниковый (Сл)	Подзол иллювиально-железистый (П ^{ИЖ}) $O \frac{0-2}{2} A_2 \frac{2-6(10)}{4(8)} Bf \frac{6(10)-29}{19(23)} B \frac{29-58}{29} BC \frac{58-100}{42} C \frac{100-120}{20}$
ППП 14.5	14.5	61°58'09.0" с.ш. 50°36'34.1" в.д.	Сосняк лишайниковый (Сл)	Подзол иллювиально-железистый (П ^{ИЖ}) $O \frac{0-1.5}{1.5} A_2 \frac{1.5-6(7)}{4.5(5.5)} Bf \frac{6(7)-27}{20(21)} B \frac{27-63}{36} BC \frac{63-107}{44} C \frac{107-127}{20}$
ППП 19	6.5	61°52'49.9" с.ш. 50°43'38.6" в.д.	Сосняк черничный (Сч)	Торфянисто-подзолисто-глееватая иллювиально-железистая ⁵ (БП ^{ИЖ}) $O \frac{0-13}{13} A_{2hg} \frac{13-22(25)}{9(12)} Bf \frac{22(25)-40(45)}{14(19)} B \frac{40(45)-57(58)}{14(17)} Dg \frac{60-90}{30}$
ППП 2	12.7	61°56'07.1" с.ш. 50°40'32.9" в.д.	Сосняк черничный (Сч)	Подзол иллювиально-железистый глееватый ⁵ (П ^{ИЖ}) $O \frac{0-6(8)}{6(8)} A_{2h,g} \frac{6(8)-12}{4(6)} A_{2g} \frac{12-28(38)}{16(26)} Bfg \frac{28(38)-47(52)}{14(19)} Bg \frac{47(52)-60}{8(13)} D \frac{60-100}{40}$
ППП 36	9,5	61°56'08.8" с.ш. 50°41'11.3" в.д.	Ельник черничный (Еч)	Подзолистая поверхностно-глееватая ⁵ (Ппг) $O \frac{0-7}{7} A_{2gh} \frac{7-20(26)}{13(19)} A_{2B} \frac{20(26)-36}{16(10)} D \frac{36-100}{64} DC \frac{100-120}{20}$
ППП 12.6	12.6	61°54'48.2" с.ш. 50°41'00.6" в.д.	Ельник черничный (Еч)	Подзолистая поверхностно-глееватая ⁵ (Ппг) $O \frac{0-7}{7} A_{2hg} \frac{7-8}{1} A_{2g} \frac{8-22}{114} A_{2B} \frac{22-40}{18} D \frac{40-100}{60} DC \frac{100-120}{20}$
Условный фон				
ППП 35.1	35.1	61°47'15.2" с.ш., 50°55'16.6" в.д.	Сосняк лишайниковый (Сл)	Подзол иллювиально-железистый (П ^{ИЖ}) $O \frac{0-2}{2} A_2 \frac{2-4(9)}{2(7)} Bf \frac{4(9)-18}{9(14)} B \frac{18-59}{41} BC \frac{59-100}{41} C \frac{100-112}{20}$
ППП 1	22.0	62°01'34.8" с.ш. 50°43'10.1" в.д.	Сосняк черничный (Сч)	Подзол иллювиально-железистый ⁵ (П ^{ИЖ}) $O \frac{0-8}{8} A_2 \frac{8-25(30)}{8(22)} Bf \frac{30-55}{25} B \frac{55-80}{25} D \frac{80-100}{20}$
ППП 24.0	24.0	61°51'17.3" с.ш. 50°43'06.7" в.д.	Ельник черничный (Еч)	Подзолистая поверхностно-глееватая ⁵ (Ппг) $O \frac{0-6}{6} A_{1A2} \frac{7-8}{1} A_{2g} \frac{7-15(18)}{8(110)} A_{2B} \frac{15(18)-37}{12(19)} D \frac{37-100}{63} DC \frac{100-120}{20}$

Примечание: ¹ – здесь и далее номер пробной площади; ² – расстояние от источника эмиссии до места закладки опорного разреза; ³ – координаты опорного разреза;

⁴ – в скобках приведено буквенное обозначение растительного сообщества и типа почвы; ⁵ – почвы, развитые на двучленных почвообразующих породах.

Note: ¹ – hereinafter, the number of the test plot; ² – the distance from the emission source to the location of the reference section; ³ – the coordinates of the reference section; ⁴ – the letter designation of the plant community and soil type is given in brackets; ⁵ – soils developed on binomial soil-forming rocks.

сосновых насаждений в условиях хронического загрязнения газо-пылевыми выбросами целлюлозно-бумажного производства. Краткая характеристика выделенных ППП приведена в табл. 1, детальное описание состава древостоев и напочвенного покрова представлено в работах [9–12]. Площадь ППП варьирует от 0.12 до 0.24 га, их размер устанавливали с таким расчетом, чтобы число деревьев основной лесообразующей породы на выбранном участке было не менее 100 шт. [9]. В пределах каждой ППП закладывали почвенный разрез для морфологического описания и диагностики почв. Индексацию горизонтов и названия почв давали в соответствии с региональной классификацией почв [16].

Для оценки пространственного варьирования свойств верхних горизонтов почв на каждой ППП дополнительно закладывали не менее 10 прикопок на глубину до 30–40 см. Размещение точек отбора (прикопок) в пределах ППП было случайным. Пробы почв для физико-химических исследований отбирали с учетом требований ГОСТ 17.4.3.01-2017 в строгом соответствии с генетическими горизонтами (в прикопках – из подстильно-торфяного (гор. О) и подзолистого (гор. А2(hg)), мощность которых приведена в формулах строения почвенных профилей (см. табл. 1). Анализировали индивидуальные образцы почв, опробованные в разрезах и прикопках, в экоаналитической лаборатории ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (уникальный номер записи об аккредитации в реестре аккредитованных лиц РОСС RU.0001.

511257) в соответствии с метрологически аттестованными методиками (табл. 2). Перечень анализируемых показателей включает стандартный набор данных, необходимый для генетической характеристики почв, а также оценки возможного влияния на их свойства газо-пылевых выбросов Монди СЛПК, в состав которых входят оксиды углерода, азота, серо- и натрийсодержащие вещества. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Microsoft Excel и Statistica 13.

Результаты и обсуждение

Характеристика почв и почвенного покрова. Почвы выделенных ППП формируются либо на древнеаллювиальных песках борových террас долины р. Вычегды (сосняки лишайниковые), либо на отложениях водно-ледникового происхождения (сосняки черничные и ельники черничные). Последние представлены песками, подстилаемыми суглинками. Мощность песчаных отложений, в составе которых присутствуют галька и валуны, варьирует от 30–40 до 60–80 см. Подстилающие суглинистые отложения (горизонт D в почвах на двучленных почвообразующих породах) выполняют роль водопора. Застой влаги на контакте с ним способствует временному переувлажнению верхней песчаной части профиля, что особенно ярко проявляется в годы со значительным количеством осадков. Благодаря этому, в профиле таких почв весной (после таяния снега) и при выпадении значительного коли-

Таблица 2

Методики измерений, использованные для химического анализа проб почв

Table 2

Measurement techniques used for chemical analysis of soil samples

Показатель	Метод измерений, нормативный документ
Электропроводность водной вытяжки	Кондуктометрический метод, Методика измерений № 88-17641-004-2018 (ФР.1.31.2018.31639)
Водородный показатель солевой вытяжки, pH _{сол}	Потенциометрический метод, Методика измерений № 88-17641-005-2018 (ФР.1.31.2018.31673)
Углерод общий, C _{общ}	Метод газовой хроматографии на элементном анализаторе EA 1110 (CHNS-O), Методика измерений № 88-17641-004-2016 (ФР.1.31.2016.23502)
Азот общий, N _{общ}	Метод газовой хроматографии на элементном анализаторе EA 1110 (CHNS-O), Методика измерений № 88-17641-004-2016 (ФР.1.31.2016.23502)
Обменные катионы Ca ²⁺ и Mg ²⁺	Метод атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой, Методика измерений № 88-17641-005-2017 (ФР.1.31.2018.29615)
Обменные формы N-NH ₄ ⁺	Фотометрический метод, Методика измерений № 88-17641-003-2018 (ФР.1.31.2018.30608)
Обменные формы N-NO ₃ ⁻	Фотометрический метод, Методика измерений № 88-17641-002-2018 (ФР.1.31.2018.30610)
Натрий обменный, Na _{обм}	Метод атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой, Методика измерений № 88-17641-002-2019 (ФР.1.31.2019.33299)
Сера подвижная, S _{подв}	Метод атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой, Методика измерений № 88-17641-005-2017 (ФР.1.31.2018.29615)
Железо, Fe Марганец, Mn Цинк, Zn Медь, Cu Свинец, Pb Кадмий, Cd Никель, Ni Кобальт, Co Мышьяк, As	Метод атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой, ПНД Ф 16.1:2.3:3.11-98 (ФР.1.31.2006.02149)
Ртуть, Hg	Атомно-абсорбционный метод на анализаторе ртути РА-915, ПНД Ф 16.1:2.23-2000 (ФР.1.31.2005.01686)
Нефтепродукты, НП	Флуориметрический метод на анализаторе жидкости «Флюорат-02», ПНД Ф 16.1:2.21-98 (ФР.1.31.2012.13170)

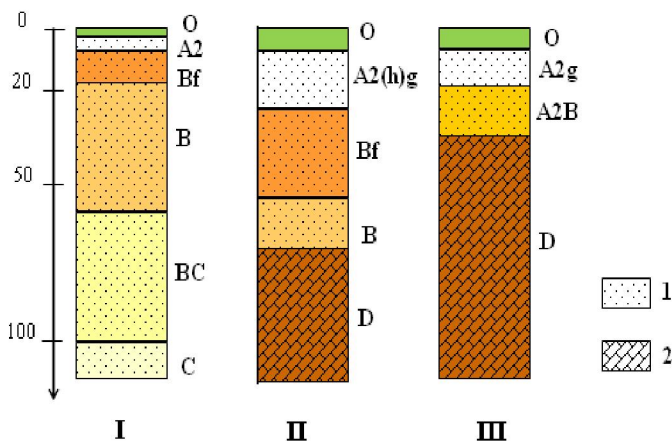


Рис. 1. Схематичное строение профиля почв, формирующихся под пологом сосняков лишайниковых (I), сосняков черничных (II) и ельников черничных (III).

Условные обозначения: 1 – песчаные отложения; 2 – суглинистые отложения.

Fig. 1. Schematic structure of the soil profile formed under the canopy of lichen pine forests (I), blueberry pine forests (II) and blueberry spruce forests (III).

Symbols: 1 – sandy deposits; 2 – loamy deposits.

чества осадков образуется верховодка, обуславливающая развитие поверхностного оглеения. Различия в глубине залегания суглинистой толщи определяют специфику морфологического строения и типовой принадлежности почв выделенных ППП (рис. 1).

Сходство почв всех рассмотренных ППП прослеживается в характере и свойствах верхней части их профиля (рис. 1), сформированной на отложениях легкого гранулометрического состава (пески) и характеризующихся бедностью элементами питания растений. Различия между почвами исследованных ППП определяются глубиной залегания подстилающих суглинистых отложений и степенью выраженности временного поверхностного переувлажнения.

Наиболее однороден почвенный покров всех пробных площадей, приуроченных к борovým террасам р. Вычегды (ППП 35.1, ППП 14.5, ППП 14, ППП 13). Его основу составляют подзолы иллювиально-железистые, для которых характерно однотипное строение профиля (см. табл. 1). В силу специфики распространения борových террас в долине р. Вычегды выделить соответствующие ППП в границах импактной зоны не представлялось возможным. Они приурочены только к буферной зоне (ППП 13, ППП 14, ППП 14.5) и условно фоновой территории (ППП 35.1).

ППП, растительный покров которых представлен сосняками черничными и ельниками черничными, выделены во всех трех зонах (см. табл. 1). Почвы ППП с сосняками черничными отличаются друг от друга по уровню дренированности, образуя ряд по степени нарастания поверхностного переувлажнения: подзол иллювиально-железистый (ППП 1) → подзол иллювиально-железистый глееватый (ППП 2) → торфянисто-подзолисто-глееватая иллювиально-железистая почва (ППП 19). Участок ППП 3, выделенный в импактной зоне, приурочен к надпойменной террасе р. Вычегды, в связи с этим ее почва отличается по своему морфологическому

строению от остальных участков, хотя и относится к типу подзолистых почв (см. табл. 1). Обилие трав в травяно-кустарничковом ярусе соснового сообщества на этом участке способствовало формированию органогенного горизонта, представленного преимущественно слабо разложившимися остатками травянистых растений, а не мхов, как в подзолах иллювиально-железистых (ППП 1, ППП 2) и торфянисто-подзолисто-глееватой иллювиально-железистой почве (ППП 19).

Пробные площади с ельниками черничными (ППП 37, ППП 36, ППП 12.6, ППП 24) близки по строению профиля. Все они относятся к одному типу – подзолистые поверхностно-глееватые почвы, развитые на двучленных отложениях (см. табл. 1).

На всех выделенных ППП ведущим почвообразовательным процессом является подзолистый, который определяет развитие под органогенным горизонтом (гор. О) осветленного элювиального (подзолистого) горизонта (гор. А2). Различия в условиях дренированности и возможность застоя влаги на контакте с суглинками обуславливают развитие почв на двучленных отложениях под влиянием двух основных процессов – подзолистого и глеевого. Последний способствует более активному разрушению первичных минералов в процессе почвообразования, мобилизации соединений с переменной валентностью (в первую очередь, железа и марганца), их выносу из почвенного профиля, миграции с почвенно-грунтовыми водами и поступлению, в конечном итоге, в водотоки [17, 18].

Таким образом, на борových террасах с сосняками лишайниковыми почвенный покров ППП, выделенных в разных зонах азротехногенного воздействия Монди СЛПК, представлен подзолами иллювиально-железистыми, развитыми на кварцевых песках; на водоразделах с сосняками черничными – подзолами иллювиально-железистыми, в том числе глееватыми, развитыми на двучленных отложениях; в ельниках черничных – подзолистыми поверхностно-глееватыми почвами, развитыми на двучленных отложениях (см. табл. 1).

Влияние азротехногенного воздействия Монди СЛПК на физико-химические свойства почв. Детальная оценка полученных нами данных, их сравнительный анализ с учетом пространственного варьирования показателей в пределах ППП свидетельствуют об отсутствии значимых различий между свойствами почв фоновых участков и почв ППП, расположенных в буферной зоне. Все они по своим морфологическим и физико-химическим свойствам близки к соответствующим параметрам зональных типов и подтипов почв [16]. Подстилочно-торфяные (гор. О) и минеральные (гор. А2(hg)) горизонты имеют кислую и очень сильнокислую реакцию среды (табл. 3).

Органогенные горизонты, по сравнению с минеральными подзолистыми, отличаются аккумуляцией органического вещества и биофильным накоплением элементов питания растений, в том числе минеральных форм азота – ионов аммония и

Таблица 3

Некоторые показатели $(\bar{X} \pm \sigma)^1$ физико-химического состояния органогенных и минеральных горизонтов почв пробных площадей, выделенных в различных зонах аэротехногенного влияния АО «Монди СЛПК»

Table 3

Some indicators $(\bar{X} \pm \sigma)^1$ of the physico-chemical state of organogenic and mineral horizons of soils of sample plots identified in various zones of aerotechnogenic influence of Mondy Syktyvkar JSC

Номер	Рас- сто- яние, км	Раститель- ное сооб- щество, тип почвы	Гори- зонт	рНсол.	С _{общ}	№ _{общ}	Обменные катионы		Обменные фор- мы		V ²
				ед. рН	%	ммоль/100 г	мг/кг	N- NH ₄ ⁺	N-NO ₃ ⁻		
Импактная зона											
ППП 3	1,3	Ср, П	О	5,11±0,15	22±4	0,83±0,13	24±4	4,9±0,7	112±43	20±10	54±4
			A2	4,0±0,3	3,1±2,4	0,19±0,11	6,0±2,0	1,1±0,4	10±5	2,2±1,0	45±9
ППП 37	3,5	Еч, Плг	О	4,3±0,7	36±6	1,34±0,22	40±10	5,9±2,6	75±25	2,7±0,4	47±14
			A2g	3,6±0,5	1,4±1,2	0,06±0,05	3,10±4,3	0,8±1,2	3,0±2,1	0,35±0,19	26±21
Буферная зона											
ППП 13	7	Сл, П ^{ИЖ}	О	3,07±0,11	41±8	1,03±0,12	10,5±1,1	3,3±0,7	61±16	2,1±1,0	19±2
			A2	3,13±0,10	0,32±0,07	0,016±0,002	0,20±0,05	0,13±0,01	2,7±0,5	1,17±0,11	12,3±0,5
ППП 14	14	Сл, П ^{ИЖ}	О	3,07±0,06	45±5	1,02±0,12	10±5	2,1±0,6	52±19	4,1±2,7	16±4
			A2	3,3±0,3	1,10±0,22	0,03±0,01	0,24±0,21	0,13±0,01	4±2	1,1±0,4	5±3
ППП 14,5	14,5	Сл, П ^{ИЖ}	О	3,18±0,16	25±7	0,55±0,20	6,1±2,5	2,0±0,6	63±23	3,3±0,6	13±3
			A2	3,18±0,13	1,0±0,3	0,03±0,01	0,33±0,20	0,13±0,03	2,5±0,6	0,9±0,7	6±6
ППП 19	6,5	Сч, БП1 ^{ИЖ}	О	3,16±0,12	47,3±1,0	0,58±0,11	19,0±2,3	4,5±1,1	83±25	14±6	24,3±2,3
			A2hg	3,1±0,20	1,8±0,7	0,05±0,02	0,29±0,13	0,14±0,03	2,2±1,7	0,9±0,3	8,5±0,8
ППП 2	12,7	Сч, П ^{ИЖ} _Г	О	3,49±0,14	45±4	1,38±0,14	15,8±2,4	4,2±0,6	237±65	11±3	22,9±2,7
			A2hg	3,26±0,14	0,25±0,11	0,016±0,04	0,19±0,06	0,061±0,020	1,2±1,1	0,48±0,19	22±6
ППП 36	9,5	Еч, Плг	О	3,33±0,27	29±10	1,0±0,4	14±6	2,9±1,0	58±20	2,6±0,6	24±8
			A2hg	3,0±0,3	1,5±1,4	0,07±0,06	0,90±0,6	0,29±0,23	2,7±0,6	0,13±0,12	11±5
ППП 12,6	12,6	Еч, Плг	О	3,06±0,16	42±4	1,22±0,12	19,4±2,0	3,7±0,4	86±43	3,5±0,7	23±4
			A2hg	2,88±0,13	0,6±0,03	0,03±0,02	0,21±0,08	0,10±0,04	2,2±1,3	0,13±0,11	7±7
Условный фон											
ППП 35,1	35,1	Сл, П ^{ИЖ}	О	3,02±0,05	32±4	0,77±0,08	6±3	1,9±0,5	55±9	3,4±1,3	11±2
			A2	3,00±0,01	1,0±0,4	0,03±0,01	0,25±0,16	0,15±0,03	2,9±0,5	0,6±0,3	6±3
ППП 1	22	Сч, П ^{ИЖ}	О	3,12±0,27	46±4	1,23±0,15	14±3	3,5±0,5	154±61	12±3	18±4
			A2	3,26±0,14	0,5±0,3	0,03±0,01	0,16±0,04	0,042±0,026	0,4±0,6	0,8±0,4	26±7
ППП 24	24	Еч, Плг	О	3,29±0,27	42,7±1,2	1,47±0,11	25±4	5,2±0,9	117±62	3,1±0,5	29±6
			A2g	2,73±0,12	1,2±0,9	0,05±0,03	0,60±0,3	0,2±0,1	2,9±1,7	0,29±0,26	8±2

Примечание: ¹ – здесь и далее приведены значения среднего арифметического \bar{X} и среднеквадратичного (стандартного) отклонения σ ; ² – степень насыщенности основаниями.

Note: ¹ – hereinafter, the values of the arithmetic mean \bar{X} and standard deviation σ are given; ² – the degree of saturation with the bases.

нитрат-ионов. Это типично для почв подзолистого типа, формирующихся в хвойных фитоценозах таежной зоны [16, 19]. Особенности почвы участка ППП 3 являются: (1) приуроченность к надпойменной террасе р. Вычегды; (2) формирование на от-

ложениях суглинистого гранулометрического состава; (3) развитие дернового процесса под влиянием травянистого напочвенного покрова. Это определило существенно более высокое содержание в ее элювиальном горизонте (гор. A2) углерода органи-

ческих соединений ($C_{\text{общ}} = 3,1 \pm 2,4 \%$), общего азота ($N_{\text{общ}} = 0,19 \pm 0,11 \%$) и, соответственно, более высокую обогащенность азотом почвенного органического вещества: $C/N = 18 \pm 6$ (для сравнения в минеральных горизонтах почв фоновых участков величина C/N составляет 21–40).

Почвы участков ППП 3 (сосняк разнотравный) и ППП 37 (ельник черничный), расположенных в импактной зоне, отличаются от почв соответствующих им фоновых участков и почв буферной зоны по ряду показателей (см. табл. 3). В них выявлено изменение кислотно-основных свойств в сторону подщелачивания. Для органогенного горизонта почвы участка ППП 3 отмечено изменение параметров обменной кислотности ($pH_{\text{сол.}}$) на две единицы pH , по сравнению с фоновым участком. В ельнике черничном (ППП 37) кислотность органогенного горизонта изменилась в меньшей степени – на одну единицу pH . Органогенные и минеральные горизонты почв обоих участков имеют более высокие показатели содержания обменных оснований (см. табл. 3). Изменение в почвах этих участков кислотно-основного состояния, по сравнению с фоновыми ППП, а также возрастание степени насыщенности основаниями (см. табл. 3) позволяют предположить, что эти изменения в первую очередь связаны с деятельностью Монди СЛПК и аэротехногенным поступлением на поверхность почв импактной зоны карбонатов, оксидов кальция и магния, входящих в состав газо-пылевых выбросов предприятия [7].

В составе основных компонентов выбросов Монди СЛПК значимую роль играют также серо-, азот- и натрийсодержащие соединения. Их присутствие в снежном покрове маркирует уровень влияния предприятия на наземные экосистемы [7]. В связи с этим в почвах всех выделенных ППП особое внимание было уделено оценке содержания массовой доли серы подвижной ($S_{\text{подв.}}$), азота ионов аммония ($N-NH_4^+$) и нитрат-ионов ($N-NO_3^-$), а также натрия обменного ($Na_{\text{обм.}}$). Четких закономерностей в изменении содержания $S_{\text{подв.}}$ в органогенных и минеральных горизонтах почв ППП, расположенных в градиенте влияния аэротехногенных выбросов Монди СЛПК, не прослеживается (рис. 2).

В органогенных горизонтах почв этот показатель минимален в почвах сосняков лишайниковых – (57 ± 5) мг/кг. В почвах, сформированных на двухчленных отложениях, он имеет более высокие значения: в сосняках черничных – (178 ± 79) мг/кг, в ельниках черничных – (94 ± 30) мг/кг. Для сравнения, в почвах сельскохозяйственных угодий содержание $S_{\text{подв.}} > 12$ мг/кг соответствует высокому уровню обеспеченности серой [20]. В минеральных горизонтах всех исследованных почв массовая доля $S_{\text{подв.}}$ на один–два порядка ниже и составляет соответственно ($1,9 \pm 0,8$), ($1,9 \pm 1,2$) и ($3,3 \pm 0,3$) мг/кг, что соответствует низкому уровню содержания $S_{\text{подв.}}$ в почвах [20].

Высокое содержание в органогенных горизонтах $S_{\text{подв.}}$ может быть обусловлено аккумуляцией серосодержащих соединений техногенной природы горизонтами лесных подстилок, богатыми органическим веществом и гумусовыми соединениями. [21]. Однако, учитывая сходство почв фоновых уча-

стков по этому параметру и низкие значения массовой доли $S_{\text{подв.}}$ в минеральных горизонтах (рис. 2Б), можно предположить, что органогенные горизонты таежных почв, в силу особенностей химического состава трансформирующихся в них растительных остатков, изначально характеризуются повышенным содержанием $S_{\text{подв.}}$. Это связано с тем, что сера, как и азот, является важным компонентом как растений, так и почв, поскольку входит в состав высокомолекулярных природных соединений – белков и гумусовых веществ (гуминовых и фульвокислот). Низкий уровень содержания $S_{\text{подв.}}$ в минеральных горизонтах может быть обусловлен несколькими факторами: (1) низкой емкостью поглощения песчаных почвообразующих пород, не способных удерживать, как суглинки и глины, в профиле почв катионы и анионы; (2) активным выносом легкорастворимых солей, в том числе сульфатов, из почвенного профиля в условиях гумидного климата; (3) микробиологической трансформацией серосодержащих соединений при их поступлении на поверхность почв [21].

Содержание в почвах нитратных ($N-NO_3^-$) и аммонийных ($N-NH_4^+$) форм азота определяется как природными факторами (характер растительности, активность почвенных микроорганизмов, участвующих в процессах аммонификации, нитрификации и денитрификации, условия увлажнения почв) [22–24], так и техногенным поступлением азотсодержащих соединений в наземные экосистемы [25]. Общими закономерностями в распределении аммонийных и нитратных форм азота для всех рассмотренных нами почв являются:

- преимущественная концентрация азота ионов аммония и нитрат-ионов в органогенных горизонтах почв – в зависимости от ППП превышение содержания $N-NH_4^+$ в органогенных горизонтах, по сравнению с минеральными, составило ($11 \div 394$) раз, $N-NO_3^-$ – ($2 \div 27$) раз;

- преобладание аммонийных форм азота над нитратными как в органогенных, так и минеральных горизонтах почв – в зависимости от ППП величина отношения $N-NH_4^+ / N-NO_3^-$ составляет в среднем ($6 \div 37$) для органогенных и ($0,4 \div 33$) для минеральных горизонтов.

Содержание аммонийных форм азота в почвах рассмотренных нами ППП варьирует в широких пределах (см. табл. 3), повторяя те же закономерности, что были установлены для $S_{\text{подв.}}$. В органогенных горизонтах почв всех ППП содержание $N-NH_4^+$ соответствует очень высокому содержанию (> 8 мг/кг), в минеральных горизонтах, за исключением почвы сосняка разнотравного (ППП 3), – низкому (менее 6 мг/кг). В органогенных горизонтах показатели содержания $N-NH_4^+$ минимальны в почвах сосняков лишайниковых, где они в среднем составляют (58 ± 5) мг/кг, максимальны – в почвах сосняков черничных (146 ± 68) мг/кг. Почвы ельников черничных занимают промежуточное положение по этому параметру – (84 ± 25) мг/кг. Минеральные горизонты всех почв относительно близки по содержанию азота ионов аммония (соответственно ($3,0 \pm 0,7$), ($3,4 \pm 4,4$) и ($2,7 \pm 0,4$) мг/кг). На участке ППП 3 более высокое содержание $N-NH_4^+$ в минераль-

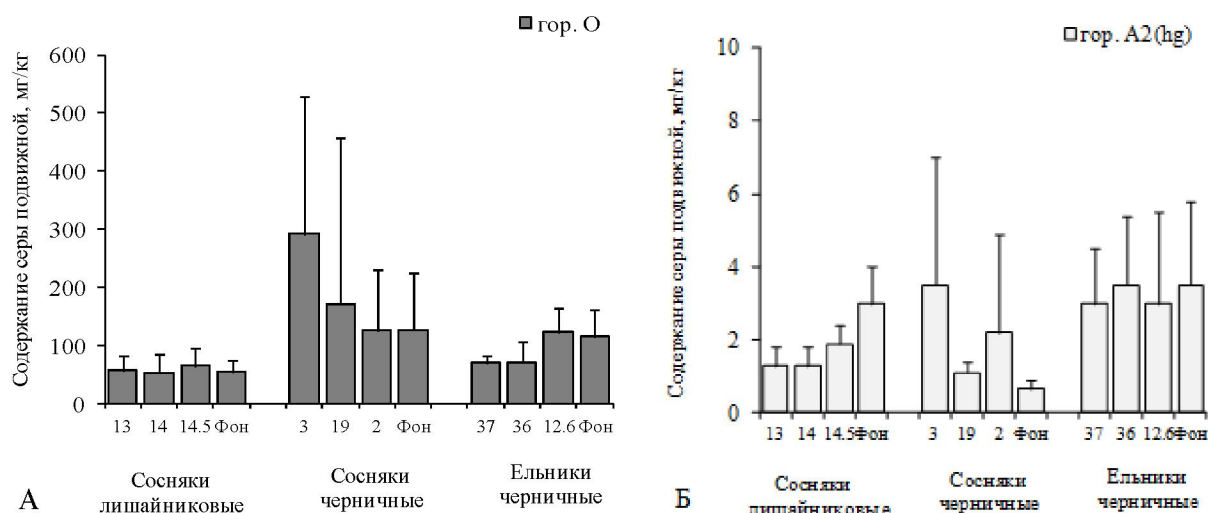


Рис. 2. Варьирование содержания серы подвижной в органогенных (А) и минеральных (Б) горизонтах почв ключевых участков, находящихся на разном удалении от источника эмиссии газо-пылевых выбросов АО «Монди СЛПК». Здесь и далее по оси абсцисс указаны номера пробных площадей, планками погрешности отмечено стандартное квадратичное отклонение.

Fig. 2. Variation of mobile sulfur content in organogenic (A) and mineral (B) soil horizons in key sites located at different distances from the emission source of gas and dust emissions of Mondi SyktvykarJSC. Hereinafter, the abscissa shows the numbers of the trial plots, the error bars indicate the standard square deviation.

ных горизонтах – (10 ± 5) мг/кг – может быть обусловлено как природными факторами (разложение богатого азотом травянистого напочвенного покрова, более высокая емкость поглощения почв суглинистого гранулометрического состава), так и техногенными – близостью расположения к источнику эмиссии газо-пылевых выбросов (импактная зона).

В почвах подзолистого типа основную роль в составе обменных катионов играют ионы кальция и магния, натрий в обменной форме присутствует в крайне незначительных количествах. Аккумуляция натрия обычно характерна для почв аридных ландшафтов [26]. В условиях гумидного климата этот элемент легко выносится с нисходящим током влаги из почв наземных экосистем в виде легкорастворимых солей – хлоридов, сульфатов, нитратов. В частности, как показали исследования М.О. Герасимова с соавторами [27], водорастворимые соли, входящие в состав противогололедных препаратов, в условиях гумидного климата практически полностью вымываются из почвы уже к концу вегетационного сезона.

Содержание $\text{Na}_{\text{обм}}$ в почвах всех рассмотренных ППП существенно ниже содержания обменных оснований. И в органогенных, и в минеральных горизонтах, несмотря на их различия в вещественном составе, содержание $\text{Na}_{\text{обм}}$ находится примерно на одном уровне: в подстильно-торфяных горизонтах почв его содержание варьирует в среднем от $(0,03 \pm 0,05)$ до $(0,17 \pm 0,010)$ ммоль/100 г почвы, в минеральных горизонтах – от $(0,02 \pm 0,16)$ до $(0,23 \pm 0,04)$ ммоль/100 г почвы. Отсутствие выраженных трендов возрастания данного показателя в направлении от почв фоновых участков к почвам ППП, располагающихся в импактной зоне Монди СЛПК, позволяет говорить об отсутствии на данном этапе значимого влияния предприятия на загрязнение наземных экосистем, занимающих хорошо дренированные ландшафты, соединениями щелочных метал-

лов (Na), входящих в состав газо-пылевых выбросов предприятия.

Низкий уровень воздействия аэротехногенных выбросов Монди СЛПК на современном этапе его функционирования и их преимущественное влияние на почвы импактной зоны косвенно подтверждаются данными электропроводности водных вытяжек из образцов почв (рис. 3). В целом, электропроводность водных вытяжек во всех исследованных рядах почв невысока. Она варьирует в органогенных горизонтах в среднем от (30 ± 18) до (123 ± 22) мкСм/см, в минеральных – от (14 ± 6) до (34 ± 9) мкСм/см. Для сравнения, к категории засоленных относят почвы с электропроводностью почвенных паст > 2000 мкСм/см [28]. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют об очень низком уровне содержания водорастворимых солей в почвах ППП. Однако тенденция возрастания в направлении от фоновых участков к импактной зоне величины электропроводности водных вытяжек из образцов минеральных горизонтов почв ельников черничных и сосняков черничных (рис. 3) позволяет предположить, что выявленный тренд может быть связан с поступлением и аккумуляцией в почвах наземных экосистем солей, входящих в состав газо-пылевых выбросов Монди СЛПК.

Содержание приоритетных поллютантов в почвах зоны воздействия аэротехногенных выбросов Монди СЛПК. Анализ полученных данных показал (табл. 4), что в почвах выделенных ППП содержание большинства ТМ, для которых установлены нормативы ориентировочно (ОДК) и/или предельно (ПДК) допустимых концентраций [29], находится ниже их уровня, а в ряде случаев – ниже предела обнаружения, например, для Zn, Co, Cd, As. Такие показатели содержания ТМ соответствуют ранее установленным значениям для подзолистых почв таежной зоны РК [30].

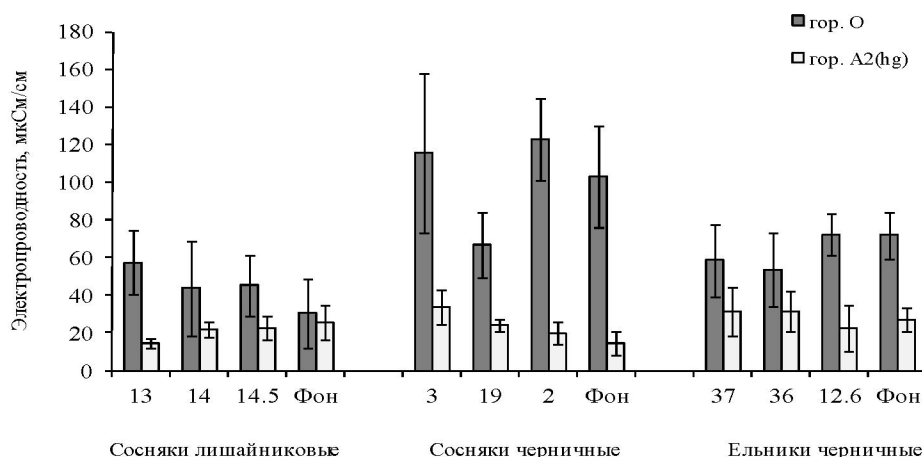


Рис. 3. Электропроводность водных вытяжек из образцов органогенных (гор. О) и минеральных (гор. А2) горизонтов почв пробных площадей, находящихся на разном удалении от источника эмиссии газо-пылевых выбросов АО «Монди СЛПК».

Fig. 3. Electrical conductivity of water extracts from samples of organogenic (horizon O) and mineral (horizon A2) soil horizons of test plots located at different distances from the emission source of gas and dust emissions of Mondi Syktyvkar JSC.

В импактной зоне (участки ППП 3 и ППП 37) отмечена аккумуляция в почвах Mn и Fe (рис. 4). Эти элементы присутствуют в значительных количествах в таежных почвах, особенно Fe, поскольку являются типоморфными элементами, определяющими формирование профиля почв подзолистого типа [31]. Для Fe не установлены нормативы ОДК и ПДК, для Mn норматив ПДК – 1500 мг/кг. Превышение ПДК для Mn отмечено в почвах участков ППП 3 – (1,2÷5,7) ПДК_{Mn} и ППП 37 – (1,0÷3,0)ПДК_{Mn}. В рядах ельников черничных прослеживается четкий тренд увеличения содержания соединений железа как в органогенных, так и в минеральных горизонтах почв в направлении от фонового участка к ППП импактной зоны (рис. 4).

Практически во всех зонах, включая фоновые территории, для Zn отмечено превышение установленных для песчаных почв нормативов ОДК. Концентрация цинка в отдельных пробах почв находилась на уровне (1,0÷2,0) ОДК_{Zn}, что выше регламентированного фоновое содержания цинка в подзолах, распространенных на данной территории, в четыре–восемь раз [32]. Повышенные значения массовой доли Zn в почвах рассмотренных ППП могут быть обусловлены как техногенными факторами, в том числе влиянием выбросов автотранспорта [33], так и природными факторами – преимущественной аккумуляцией Zn и Mn в составе древесины хвойных пород и их возвращением в почвенную систему при разложении крупных древес-

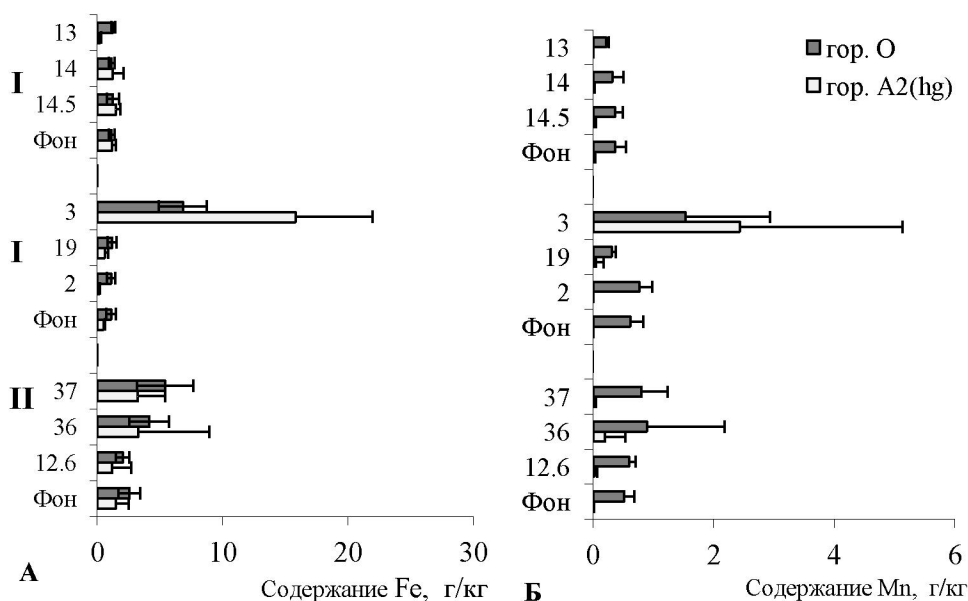


Рис. 4. Изменение содержания соединений железа (А) и марганца (Б) в почвах сосняков лишайниковых (I), сосняков черничных (II) и ельников черничных(III), расположенных в градиенте аэротехногенного воздействия газо-пылевых выбросов «АО Монди СЛПК».

Fig. 4. Changes in the content of iron (A) and manganese (B) compounds in the soils of lichen pine forests (I), blueberry pine forests (II) and blueberry spruce forests (III), located in the gradient of aerotechnogenic impact of gas and dust emissions from Mondi Syktyvkar JSC.

ных остатков. В пользу последнего фактора свидетельствует близкий уровень содержания массовой доли цинка в почвах всех ППП (табл. 4). В целом, накопление в почвах импактной зоны Mn, Fe и Zn соответствует модулям их поступления в составе газо-пылевых выбросов предприятия, что отражают результаты исследования снежного покрова в зоне влияния Монди СЛПК [7].

В почвах импактной зоны (ППП 3 и ППП 37) отмечено повышенное содержание одного из при-

оритетных загрязнителей – As. В отдельных пробах его концентрация превышала установленные для песчаных почв нормативы ОДК в (1,3÷1,7) (ППП 37) – (1,0÷2,0) (ППП 3) раз. В почвах буферной зоны и на фоновых участках, особенно в минеральных горизонтах, содержание As, как правило, ниже ОДК (табл. 4).

Концентрация органических поллютантов (углеводородов) в почвах исследованных ППП существенно меньше регламентированного в РФ допус-

Таблица 4

Содержание тяжелых металлов и мышьяка ($\bar{X} \pm \sigma$) в органогенных и минеральных горизонтах почв пробных площадей, выделенных в различных зонах аэротехногенного влияния АО «Монди СЛПК»

Table 4

The content of heavy metals and arsenic ($\bar{X} \pm \sigma$) in organogenic and mineral horizons of soils of test plots identified in various zones of aerotechnogenic influence of Mondy SyktuykarJSC

Номер (расстояние, км)	Раститель- ное сооб- щество, тип почвы	Гори- зонт	Zn	Cu	Pb	N i	Co	Cd	As	Hg
			мг/кг							
Импактная зона										
ппп 3 (1,3)	Ср, П	О	76±43	8,5±1,6	11±4	7,6±2,1	7±5	0,39±0,07	1,4±0,4	40±13
		A2	34±13	7,4±2,7	14±6	10±5	15±10	0,17±0,04	2,5±9,5	28±7
ппп 37 (3,5)	Еч, Пгр	О	39±11	7,5±0,8	17±4	6,3±1,0	2,2±0,7	0,41±0,09	1,2±0,5	140±27
		A2g	4,3±2,3	1,7±1,3	5±5	2,2±1,3	0,8±0,5	0,11±0,02	0,7±0,5	24±29
Буферная зона										
ппп 13 (7)	Сл, П ^{ИЖ}	О	42±9	4,7±0,8	13, 3±1,7	2,8±0,4	0,47±0,06	0,16±0,04	0,38±0,07	— ²
		A2	<2,5 ¹	0,36±0,08	0,8±0,4	0,26±0,04	0,12±0,02	<0,10	<0,10	—
ппп 14 (14)	Сл, П ^{ИЖ}	О	43±10	4,8±0,4	9±6	2,7±0,7	0,36±0,09	0,19±0,04	0,26±0,12	—
		A2	5,1±1,9	0,94±0,23	4,2±1,7	0,9±0,4	0,25±0,16	<0,10	0,34±0,26	—
ппп 14,5 (14,5)	Сл, П ^{ИЖ}	О	31±9	3,1±0,6	8,1±2,4	2,28±0,22	0,52±0,09	0,14±0,03	0,26±0,09	—
		A2	4,9±0,7	1,2±0,3	5,6±0,7	1,02±0,18	0,31±0,09	<0,10	0,32±0,08	—
ппп 19 (6,5)	Сч, БП ^{ИЖ}	О	44±7	6,3±0,7	11±4	3,3±0,7	0,6±0,2	0,36±0,13	0,44±0,16	96±17
		A2hg	<2,5	0,53±0,13	2,0±0,4	0,63±0,22	0,4±0,7	<0,1	0,19±0,06	8,8±2,2
ппп 2 (12,7)	Сч, П ^{ИЖ}	О	62±9	6,9±1,0	11±4	4,3±0,8	0,7±0,2	0,37±0,06	0,33±0,11	111±31
		A2hg	<2,5	0,26±0,07	0,2±0,5	0,25±0,09	<0,1	<0,1	<0,10	5,8±0,7
ппп 36 (9,5)	Еч, Пгр	О	49±19	7,1±6,1	25±27	5,6±1,7	2,3±0,9	0,6±0,3	0,76±0,21	170±64
		A2hg	7±8	1,6±1,9	5±4	2±2,3	6±6	0,14±0,07	0,6±1,0	21±18
ппп 12,6 (12,6)	Еч, Пгр	О	41±6	5,2±1,0	18,7±5,9	4,5±0,6	1,2±0,4	0,41±0,09	0,6±0,11	217±31
		A2hg	3,1±1,9	0,7±1,0	2,2±1,4	1,0±1,1	0,4±0,5	<0,10	0,29±0,24	10±6
Условный фон										
ппп 35,1 (35,1)	Сл, П ^{ИЖ}	О	35±9	3,6±0,4	12±5	2,28±0,29	0,51±0,15	0,16±0,03	0,24±0,04	
		A2	5,4±1,1	0,89±0,14	4,3±1,1	0,85±0,14	0,30±0,09	<0,10	0,27±,10	
ппп 1 (22)	Сч, П ^{ИЖ}	О	50±9	4,8±1,7	12±3	2,7±0,6	0,5±0,2	0,31±0,12	0,39±0,19	91±20
		A2	19±10	0,6±0,5	1,4±0,4	0,3±0,1	0,15±0,05	<0,10	0,21±0,06	<5
ппп 24 (24)	Еч, Пгр	О	44±15	6,3±1,1	14,6±3,1	4,4±0,9	1,8±0,6	0,41±0,16	0,69±0,18	182±37
		A2g	3,0±1,0	1,1±0,7	2,8±1,3	1,2±0,9	0,38±0,28	<0,10	0,31±0,20	14±5
ОДК/ПДК ³			55	33	32	20	5	0,5	2	2100

Примечание: ¹ – меньше предела обнаружения; ² – не определяли; ³ – приведены ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) тяжелых металлов, регламентированные для песчаных почв, и предельно допустимые концентрации (ПДК) элементов в соответствии с СанПиН 1.2.3685-21.

Note: ¹ – less than the detection limit; ² – not determined; ³ – shows the approximate permissible concentrations (APC) of heavy metals, regulated for sandy soils, and the maximum permissible concentrations (MPC) of elements in accordance with SanPiN 1.2.3685-21.

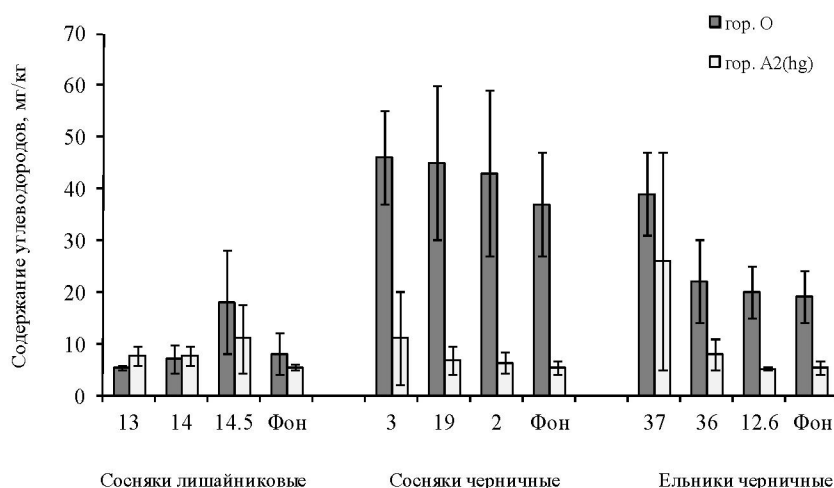


Рис. 5. Содержание углеводородов (нефтепродуктов) в органогенных (гор. О) и минеральных (гор. А2) горизонтах почв пробных площадей, находящихся на разном удалении от источника эмиссии газо-пылевых выбросов АО «Монди СЛПК».

Fig. 5. The content of hydrocarbons (petroleum products) in organogenic (O horizon) and mineral (A2 horizons) soil horizons of plots located at different distances from the source of emission of gas and dust emissions from Mondi Syktvykar JSC.

тимого уровня их содержания в почвах (1000 мг/кг), но выше, особенно в органогенных горизонтах, значений фоновое содержания (13 мг/кг), установленных для автоморфных песчаных почв этого района [32, 34]. Отмечен тренд снижения данного показателя по мере удаления от источника эмиссии, особенно в минеральных горизонтах (рис. 5), и снижение в почвах ППП пространственного варьирования данного показателя. В частности в гор. А2(hg) почв ельников черничных коэффициент варьирования снижается от 55 в импактной зоне до 25 % на фоновом участке, почв сосняков черничных – соответственно от 48 до 23 %. Это требует проведения более детальных исследований состава и структуры почвенного органического вещества для оценки влияния аэротехногенных выбросов АО «Монди СЛПК» на состояние почв в наземных экосистемах.

Закключение

В течение трехлетнего периода выполнена оценка экологического состояния почв наземных экосистем в зоне аэротехногенного влияния АО «Монди СЛПК». Выделенные ключевые участки с разными типами растительных сообществ (сосняки лишайниковые, сосняки черничные и ельники черничные) приурочены к хорошо дренированным ландшафтам водно-ледниковой равнины и боровой террасы р. Вычегды. На кварцевых песках боровой террасы в сосняках лишайниковых представлены подзолы иллювиально-железистые, на водоразделе в сосняках черничных и ельниках черничных – соответственно подзолы иллювиально-железистые, в том числе глееватые, и подзолистые поверхностно-глееватые почвы, развитые на двучленных отложениях (песках, подстилаемых суглинками). Почвы всех исследованных пробных площадей соответствуют по своим морфологическим и физико-химическим свойствам соответствующим зональным типам почв – они кислые, ненасыщены основаниями, их органогенные горизонты характеризуются аккумуляцией органического вещества (в виде слабо

трансформированных, оторфованных растительных остатков) и биофильных элементов, минеральные горизонты бедны органическими соединениями, органическими и минеральными соединениями азота и элементами питания растений.

Детальная оценка физико-химических показателей почв, их сравнительный анализ с учетом пространственного варьирования в пределах пробных площадей свидетельствуют об отсутствии значимых различий между свойствами почв буферной зоны и фоновых участков. Таким образом, на современном этапе функционирования АО «Монди СЛПК» влияние газо-пылевых выбросов предприятия на почвы наземных экосистем прослеживается в основном в импактной зоне. Оно проявляется в: (а) изменении кислотно-основного состояния почв (в сторону подщелачивания); (б) повышении, по сравнению с почвами фоновых участков, содержания Fe и углеводородов; (в) превышении в отдельных образцах почв регламентированных значений ПДК и ОДК для Mn ($(1,0 \pm 5,7)$ ПДК_{Mn}) и As ($(1,0 \pm 2,0)$ ОДК_{As}). Выявленное увеличение в отдельных образцах почв цинка, составляющее $(1,0 \pm 2,0)$ ОДК_{Zn}, скорее всего, связано не с влиянием производственной деятельности АО «Монди СЛПК», а с естественными причинами (аккумуляция Zn в древесине хвойных пород) и, возможно, выбросами автомобильного транспорта.

Исследование выполнено в рамках темы госзадания № АААА-А17-117 122290011-5 и при финансовой поддержке проекта «Оценка долгосрочного влияния АО «Монди СЛПК» на биологическое разнообразие в районе производства» (договор № 45-2018/180405).

Литература

1. Кожеляко Н.П. Состояние развития и концентрация производства целлюлозно-бумажной промышленности Российской Федерации // Лесной вестник. 2008. Вып. № 4. С. 124–129.

2. *Медведева С.А., Тимофеева С.С.* Биотехнологии для повышения экологической безопасности целлюлозно-бумажной промышленности (современное состояние) // Безопасность в техносфере. 2013. № 3. С. 28–34.
3. *Пашкевич М.А., Петрова Т.А., Рудзис Э.* Оценка потенциальной возможности использования лигнин-шламов для лесохозяйственной рекультивации нарушенных земель // Записки Горного института. 2019. Т. 235. С. 106–112.
4. *Личутина Т.Ф., Боголицын К.Г., Гумакова М.А.* Экологическая оценка деятельности предприятий целлюлозно-бумажной промышленности. Перспективные направления утилизации отходов // Российский химический журнал. 2011. Т. LV. № 1. С. 101–107.
5. *Старостина В.Ю., Фомина Е.Ю.* Европейский опыт экологически чистого производства в целлюлозно-бумажной промышленности // Вестник ИрГТУ. 2011. № 1 (48). С. 202–207.
6. *Environmental impact of pulp and paper mills / D. Gavrilescu, A.C. Puitel, Gh. Dutuc, G. Craciun // Environmental Engineering and Management Journal. 2012. Vol.11. № 1. P. 81–85. DOI: 10.30638/eemj.2012.012*
7. Оценка загрязнения снежного покрова органическими соединениями в зоне воздействия выбросов целлюлозно-бумажного комбината / *М.И. Василевич, Д.Н. Габов, В.А. Безносиков, Б.М. Кондратенко* // Теоретическая и прикладная экология. 2007. № 3. С. 43–49.
8. *Jaworska H., Matuszczak K., Ryzański S.* Impact of pulp and paper industry on the content of selected elements in soils and plants // Catena. 2020. № 193(104579). P. 1–12. DOI:10.1016/j.catena.2020.104579
9. *Торлопова Н.В., Робакидзе Е.А.* Влияние поллютантов на хвойные фитоценозы (на примере Сыктывкарского лесопромышленного комплекса). Екатеринбург, 2003. 146 с.
10. *Робакидзе Е.А., Торлопова Н.В.* Изменение видового состава напочвенного покрова ельников и минерального состава листьев *Vaccinium vitis-idaea* и *V. myrtillus* (ericaceae) в условиях аэротехногенного загрязнения в Республике Коми // Растительные ресурсы. Антропогенное воздействие на растительные ресурсы. 2014. Т. 49. Вып. 1. С. 65–77.
11. *Робакидзе Е.А., Торлопова Н.В.* Мониторинг состояния ельников в условиях загрязнения целлюлозно-бумажного производства // Растительные ресурсы. Антропогенное воздействие на растительные ресурсы. 2018. Т. 54. Вып. 1. С. 42–58.
12. *Тужилкина В.В., Плюснина С.Н.* Комплексная оценка состояния хвои *Picea Obovata* (Pinaceae) в условиях аэротехногенного загрязнения // Растительные ресурсы. 2014. Т. 50. Вып. 4. С. 579–587.
13. *Конакова Т.Н., Колесникова А.А., Долгин М.М.* Мезофауна основных лесов Республики Коми в районе действия выбросов лесопромышленного комплекса // Вестник Поморского университета. Серия: Естественные науки. 2009. № 3. С. 55–63.
14. Почвенные беспозвоночные в индикации состояния хвойных лесов в районе выбросов сыктывкарского лесопромышленного комплекса / *М.М. Долгин, А.А. Колесникова, Т.Н. Конакова, А.А. Таскаева, Е.Н. Мелехина* // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 3. С. 24–35.
15. *Ильчуков С.В.* Ландшафты Республики Коми. Екатеринбург: УрО РАН, 2010. 200 с.
16. Атлас почв Республики Коми / Под ред. *Г.В. Добровольского, А.И. Таскаева, И.В. Забоевой*. Сыктывкар, 2010. 356 с.
17. *Zaidel'man F.R., Dzizenko N.N., Cherkas S.M.* The influence of gleyzation on the chemical composition of the lysimetric water and the physicochemical properties of the parent rocks: a model experiment // Eurasian Soil Science. 2014. Vol. 47. № 12. P. 1187–1197.
18. *Зайдельман Ф.Р.* Глееобразование как фактор почвообразования и деградации почв, способы их защиты // Почвоведение. 2017. № 7. С. 849–859.
19. *Забоева И.В.* Почвы и земельные ресурсы Коми АССР. Сыктывкар, 1975. 344 с.
20. *Аристархов А.* Сера в агроэкосистемах России: мониторинг содержания в почвах и эффективность ее применения // Международный сельскохозяйственный журнал. 2016. № 5. С. 39–47.
21. *Маслова И.Я.* Воздействие содержащих серу аэротехногенных веществ на некоторые агрохимически значимые процессы и свойства почв // Агрохимия. 2008. № 6. С. 80–94.
22. *Умаров М.М., Кураков А.В., Степанов А.Л.* Микробиологическая трансформация азота в почве. М.: Геос, 2007. 137 с.
23. *Razgulin S.M.* Mineralization of nitrogen compounds in soils of south-taiga ecosystems // Eurasian Soil Science. 2010. Vol.43. № 6. С. 659–665.
24. *Мамай А.В., Федорец Н.Г., Степанов А.Л.* Процессы азотфиксации и денитрификации в подзолистых почвах хвойных и мелколиственных лесов среднетаежной подзоны Карелии // Лесоведение. 2013. № 1. С. 66–74.
25. *Припутина И.В., Зубкова Е.В., Комаров А.С.* Ретроспективная оценка динамики обеспеченности азотом сосновых лесов ближнего Подмосковья по данным фитоиндикации // Лесоведение. 2015. № 3. С. 172–181.
26. *Перельман А.И., Касимов Н.С.* Геохимия ландшафта. М.: Астрель-2000, 1999. 768 с.
27. *Герасимов А.О., Чугунова М.В., Поляк Ю. М.* Сезонные изменения противогололедных средств в дерново-подзолистой почве в лабораторном и полевом эксперименте // Биосфера. 2019. Т. 11. № 4. С. 171–177.
28. Химический анализ почв. Вопросы и ответы / *Л.А. Воробьева, Д.В. Ладонин, О.В. Лопухина, Т.А. Рудакова, А.В. Кирюшин*. М.: МГУ, 2012. 186 с.
29. СанПиН 1.2.3685-21. Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания. Введ. 01.03.2021. [Электронный ресурс]. – URL: [https:// docs.](https://docs.)

- cntd.ru/document/573500115 (дата обращения 5 апреля 2021 г.).
30. Безносиков В.А., Лодыгин Е.Д., Чуков С.Н. Ландшафтно-геохимическая оценка фоновое содержания тяжелых металлов в почвах таежной зоны // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3. Биология. 2010. № 2. С. 114–128.
 31. Зонн С.В. Железо в почвах (генетические и географические аспекты). М.: Наука, 1982. 209 с.
 32. Приказ Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Коми от 25 ноября 2009 г. № 529 «Об установлении нормативов фоновое содержания химических элементов и углеводородов в почвах Республики Коми».
 33. Петрова Е.Е., Райхерт Е.В. Влияние автотранспорта на накопление цинка и свинца в почвах и их биологическое поглощение пшеницей мягкой (*Triticum aestivum*) в придорожных агроценозах (в условиях Алейского района Алтайского края) // Известия Алтайского государственного университета. 2013. № 3–2(79). С. 42–46.
 34. Безносиков В.А., Лодыгин Е.Д. Эколого-геохимическая оценка фоновое содержания углеводородов в почвах европейского северо-востока России // Почвоведение. 2010. № 5. С. 591–596. [Beznosikov V.A., Lodygin E.D. Ecological-geochemical assessment of hydrocarbons in soils of Northeastern European Russia // Eurasian Soil Science. 2010. Vol. 43. № 5. С. 550–555].
- ### References
1. Kozhemyako N.P. Sostojanie razvitiya i koncentracija proizvodstva celljulozno-bumazhnoj promyshlennosti Rossijskoj Federacii [The state of development and production concentration of the pulp and paper industry in the Russian Federation] // Lesnoj vestnik [Forest Bull.]. 2008. Issue 4. P. 124–129.
 2. Medvedeva S.A., Timofeeva S.S. Biotehnologii dlja povyshenija jekologicheskoy bezopasnosti celljulozno-bumazhnoj promyshlennosti (sovmennoe sostojanie) [Biotechnology to improve the environmental safety of the pulp and paper industry (current state)] // Bezopasnost' v tehnosfere [Safety in Techno-sphere]. 2013. № 3. P. 28–34.
 3. Pashkevich M.A., Petrova T.A., Rudzish E. Ocenka potencial'noj vozmozhnosti ispol'zovaniya lignin-shlamov dlja lesohozjajstvennoj rekul'tivacii narushennyh zemel' [Assessment of the potential use of lignin sludge for forestry reclamation of disturbed lands] // Zapiski Gornogo instituta [J. of Mining Inst.]. 2019. Vol. 235. P. 106–112.
 4. Lichutina T.F., Bogolitsyn K.G., Gumakova M.A. Ekologicheskaja ocenka dejatel'nosti predpriyatij celljulozno-bumazhnoj promyshlennosti. Perspektivnye napravlenija utilizacii othodov [Environmental assessment of the of the pulp and paper industry enterprises activities. Promising directions of waste disposal] // Rossijskij himicheskij zhurnal [Russian J. of General Chemistry]. 2011. Vol. LV. № 1. P. 101–107.
 5. Starostina V.Yu., Fomina E.Yu. Evropejskij opyt jekologicheskij chistogo proizvodstva v celljulozno-bumazhnoj promyshlennosti [European experience of ecologically pure production in the pulp and paper industry] // Vestnik IrGTU [Proc. of Irkutsk State Techn. Univ.]. 2011. № 1 (48). S. 202–207.
 6. Environmental impact of pulp and paper mills / D. Gavrilescu, A.C. Puitel, Gh. Dutuc, G. Craciun // Environmental Engineering and Management Journal. 2012. Vol.11. № 1. P. 81–85. DOI: 10.30638/eemj.2012.012
 7. Ocenka zagriznenija sneznogo pokrova organicheskimi soedinenijami v zone vozdejstviya vybrosov celljulozno-bumazhnogo kombinata [Assessment of snow cover pollution with organic compounds in the impact zone of emissions from a pulp and paper mill] / M.I. Vasilevich, D.N. Gabov, V.A. Beznosikov, B.M. Kondratenok // Teoreticheskaja i prikladnaja ekologija [Theoretical and Applied J.]. 2007. № 3. P. 43–49.
 8. Jaworska H., Matuszczak K., Ryzański S. Impact of pulp and paper industry on the content of selected elements in soils and plants // Catena. 2020. № 193(104579). P. 1–12. DOI:10.1016/j.catena.2020.104579
 9. Torlopova N.V., Robakidze E.A. Vlijanie polljutantov na hvoynye fitocenozy (na primere Syktyvskarskogo lesopromyshlennogo kompleksa) [The influence of pollutants on coniferous phytocenoses (on the example of the Syktivkar Timber Industry Complex)]. Ekaterinburg, 2003. 146 p.
 10. Robakidze E.A., Torlopova N.V. Izmenenie vidovogo sostava napochvennogo pokrova el'nikov i mineral'nogo sostava list'ev Vaccinium vitis-idaea i V. myrtillus (ericaceae) v uslovijah ajerrotehnogennogo zagriznenija v Respublike Komi [Changes in the species composition of the soil cover of spruce forests and the mineral composition of the leaves of Vaccinium vitis-idaea and V. myrtillus (ericaceae) under conditions of industrial air pollution in the Komi Republic] // Rastitel'nye resursy. Antropogennoe vozdejstvie na rastitel'nye resursy [Plant Resources of Russia: Human impact on plant resources]. 2014. Vol. 49. Issue 1. P. 65–77.
 11. Robakidze E.A., Torlopova N.V. Monitoring sostojanija el'nikov v uslovijah zagriznenija celljulozno-bumazhnogo proizvodstva [Monitoring the condition of spruce forests under pulp and paper production impact] // Rastitel'nye resursy. Antropogennoe vozdejstvie na rastitel'nye resursy [Plant Resources of Russia: Human impact on plant resources] 2018. Vol. 54. Issue 1. P. 42–58.
 12. Tuzhilkina V.V., Plyusnina S.N. Kompleksnaja ocenka sostojanija hvoi Picea Obovata (Pinaceae) v uslovijah ajerrotehnogennogo zagriznenija [Complex assessment of the condition of needles of Picea Obovata (Pinaceae) under industrial air impact] // Rastitel'nye resursy [Plant Resources of Russia]. 2014. Vol. 50. Issue 4. P. 579–587.

13. *Konakova T.N., Kolesnikova A.A., Dolgin M.M.* Mezofauna sosnovykh lesov respubliky komi v rajone dejstviya vybrosov lesopro-myshlennogo kompleksa [Mesofauna of pine forests of the Komi Republic in the timber industry impact zone] // Vestnik Pomorskogo universiteta. Seriya: Estestvennye nauki [Arctic Environmental Research]. 2009. № 3. P. 55–63.
14. Pochvennye bespozvonochnye v indikacii sostojaniya hvoynykh lesov v rajone vybrosov sykt'yvskogo lesopromyshlennogo kompleksa [Soil invertebrates in the indication of coniferous forests condition in the Sykt'yvkar Timber Industry Complex impact zone] / *M.M. Dolgin, A.A. Kolesnikova, T.N. Konakova, A.A. Taskaeva, E.N. Melekhina* // Teoreticheskaja i prikladnaja jekologija [Theoretical and Applied Ecology J.]. 2012. № 3. P. 24–35.
15. *Il'chukov S.V.* Landshafty Respubliki Komi [Landscapes of the Komi Republic]. Ekaterinburg: Ural Branch, RAS, 2010. 200 p.
16. Atlas pochv Respubliki Komi [Soil Atlas of the Komi Republic] / Eds. G.V. Dobrovolsky, A.I. Taskaev, I.V. Zaboeva. Sykt'yvkar, 2010. 356 p.
17. *Zaidel'man F.R., Dzizenko N.N., Cherkas S.M.* The influence of gleyzation on the chemical composition of the lysimetric water and the physicochemical properties of the parent rocks: a model experiment // Eurasian Soil Science. 2014. Vol.47. № 12. P. 1187–1197].
18. *Zaidel'man F.R.* Gleeobrazovanie kak faktor pochvoobrazovaniya i degradacii pochv, sposoby ih zashhity [Gley formation as a factor of soil formation and degradation, methods of their protection] // Pochvovedenie [Eurasian Soil Science]. 2017. № 7. P. 849–859.
19. *Zaboeva I.V.* Pochvy i zemel'nye resursy Komi ASSR [Soils and land resources of the Komi ASSR]. Sykt'yvkar, 1975. 344 p.
20. *Aristarkhov A.* Sera v agrojekosistemah Rossii: monitoring sodержaniya v pochvah i effektivnost' ee primeneniya [Sulfur in agroecosystems of Russia: monitoring of the content in soils and the effectiveness of its use] // Mezhdunarodnyj sel'skohozjajstvennyj zhurnal [Intern. Agricultural J.]. 2016. № 5. P. 39–47.
21. *Maslova I.Ya.* Vozdejstvie sodержashhih seru ajerotehnogennykh veshhestv na nekotorye agrohimiicheski znachimye processy i svoystva pochv [The impact of sulfur-containing air-technogenic substances on some agrochemical significant processes and soil properties] // Agrohimiya [AgroChemistry]. 2008. № 6. P. 80–94.
22. *Umarov M.M., Kurakov A.V., Stepanov A.L.* Mikrobiologicheskaja transformacija azota v pochve [Microbiological transformation of nitrogen in soil]. Moscow: Geos, 2007. 137 p.
23. *Razgulin S.M.* Mineralization of nitrogen compounds in soils of south-taiga ecosystems // Eurasian Soil Science. 2010. Vol.43. № 6. P. 659–665.
24. *Mamaj A.V., Fedorets N.G., Stepanov A.L.* Processy azotifikacii i denitrifikacii v podzolistykh pochvah hvoynykh i melkolistvennykh lesov srednetaezhnoj podzony Karelii [Processes of nitrogen fixation and denitrification in podzolic soils of coniferous and small-leaved forests of the middle taiga subzone of Karelia] // Lesovedenie [Russian J. of Forest Science]. 2013. № 1. P. 66–74.
25. *Priputina I.V., Zubkova E.V., Komarov A.S.* Retrospektivnaja ocenka dinamiki obespechenosti azotom sosnovykh lesov blizhnego Podmoskov'ja po dannym fitoindikacii [Retrospective assessment of the dynamics of nitrogen supply in pine forests of Moscow vicinity based on phytoindication data] // Lesovedenie [Russian J. of Forest Science]. 2015. № 3. P. 172–181.
26. *Perel'man A.I., Kasimov N.S.* Geohimija landshafta [Geochemistry of landscapes]. Moscow: Astreya-2000, 1999. 768 p.
27. *Gerasimov A.O., Chugunova M.V., Polyak Yu.M.* Sezonnye izmeneniya protivogolodnykh sredstv v dernovo-podzolistoj pochve v laboratornom i polevom jeksperimente [Seasonal changes of anti-ice agents in soddy-podzolic soil in laboratory and field experiments] // Biosfera [Biosfera J.]. 2019. Vol. 11. № 4. P. 171–177.
28. Himicheskij analiz pochv. Voprosy i otvety [Chemical analysis of soils. Questions and answers] / *L.A. Vorobyeva, D.V. Ladonin, O.V. Lopukhina, T.A. Rudakova, A.V. Kiryushin*. Moscow: MGU, 2012. 186 p.
29. SanPiN 1.2.3685-21. Gigenicheskie normativy i trebovaniya k obespecheniju bezopasnosti i (ili) bezvrednosti dlja cheloveka faktorov sredy obitaniya [Hygienic standards and requirements for ensuring the safety and (or) harmlessness of environmental factors for humans. Intr. 01.03.2021. URL: <https://docs.cntd.ru/document/573500115> (accessed April 5, 2021).
30. *Beznosikov V.A., Lodygin E.D., Chukov S.N.* Landshaftno-geohimicheskaja ocenka fonovogo sodержaniya tjazhelykh metallov v pochvah taezhnoj zony [Landscape-geochemical assessment of the background content of heavy metals in the soils of the taiga zone] // Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Seriya 3. Biologija [Bull. Of St.Petersburg Univ. Series 3. Biology]. 2010. № 2. P. 114–128.
31. *Zonn S.V.* Zhelezo v pochvah (geneticheskie i geograficheskie aspekty) [Iron in soils (genetic and geographic aspects). Moscow: Nauka, 1982. 209 p.
32. *Prikaz Ministerstva prirodnykh resursov i ohrany okruzhajushhej sredy Respubliki Komi* ot 25 nojabrja 2009 g. № 529 «Ob ustanovlenii normativov fonovogo sodержaniya himicheskikh jelementov i uglevodorodov v pochvah Respubliki Komi» [Order of the Ministry of Natural Resources and Environmental Protection of the Komi Republic No. 529 dated November 25, 2009 "On establishing standards for the background content of chemical elements and hydrocarbons in the soils of the Komi Republic".
33. *Petrova E.E., Raikher E.V.* Vlijanie avtotransporta na nakoplenie cinka i svinca v pochvah i ih biologicheskoe pogloshhenie pshenicej mjad-

koj (*Triticumaestivum*) v pridorozhnyh agrocenozah (v uslovijah Alejskogo rajona Altajskogo kraja) [The influence of vehicles on the accumulation of zinc and lead in soils and their biological absorption by soft wheat (*Triticumaestivum*) in roadside agrocenoses (under the conditions of the Aleisky district of the Altai Territory)] // *Izvestija Altajskogo gosudarstvennogo universiteta* [Proc. of Altai State Univ.]. 2013. № 3–2(79). P. 42–46.

34. *Beznosikov V.A., Lodygin E.D.* Ecological-geochemical assessment of hydrocarbons in soils of Northeastern European Russia // *Eurasian Soil Science*. 2010. Vol. 43. № 5. P. 550–555.

Статья поступила в редакцию 30.09.2021.

УДК 579.2

DOI 10.19110/1994-5655-2021-5-61-65

И.Г. ШИРОКИХ^{*,}, Н.А. БОКОВ^{**,***},
Я.И. НАЗАРОВА^{**}**

ВЛИЯНИЕ ИСТОЧНИКОВ АЗОТА В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ НА РОСТ И ЦЕЛЛЮЛАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ СТРЕПТОМИЦЕТОВ

^{*} Институт биологии
ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
г. Сыктывкар

^{**} Федеральный аграрный научный центр
Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого,
г. Киров

^{***} Вятский государственный университет,
г. Киров

*irgenal@mail.ru,
nikita-bokov@mail.ru*

I.G. SHIROKIH^{*,}, N.A. BOKOV^{**,***},
YA.I. NAZAROVA^{**}**

IMPACT OF NITROGEN SOURCES IN THE NUTRIENT MEDIUM ON THE GROWTH AND CELLULASE ACTIVITY OF STREPTOMYCETES

^{*} Institute of Biology, Federal Research Centre
Komi Science Centre, Ural Branch, RAS,
Syktyvkar

^{**} N.V. Rudnitsky Federal Agrarian Science
Centre of the Northeast,
Kirov

^{***} Vyatka State University,
Kirov

Аннотация

Определены биомасса и целлюлазная активность двух перспективных почвенных изолятов стрептомицетов в зависимости от введения в среду органических (пептон, гидролизат казеина) и минеральных (NH_4Cl , NaNO_3 , NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KNO_3) источников азота. Для продукции целюлаз штаммами *Streptomyces* sp. Mb 4-2 и 1.3 наиболее предпочтительными явились неорганические соли – NH_4NO_3 и NH_4Cl соответственно. Для роста стрептомицетов и накопления биомассы лучшими источниками азота служили пептон и гидролизат казеина. Полученные результаты представляют интерес для разработки новых экологически чистых технологий с использованием стрептомицетов-целлюлолитиков.

Ключевые слова:

Streptomyces, источники азота, деструкция целлюлозы, активность целлюлаз, растительные материалы и отходы

Abstract

Biomass accumulation and cellulase activity were determined in two promising soil isolates during liquid phase cultivation depending on organic (peptone, casein hydrolysate) and mineral (NH_4Cl , NaNO_3 , NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KNO_3) nitrogen sources. The only source of carbon in the medium was straw (10b.%). Using two-factor analysis of variance, it was found that the production of cellulase complex enzymes is equally influenced by the nitrogen source ($F=225,92$; $p<0,0001$), the producer strain ($F=205,98$; $p<0,0001$), the interaction of these factors ($F=225,06$; $p<0,0001$). Inorganic nitrogen sources were the most preferred for cellulase production: NH_4NO_3 provided enzymatic activity in *Streptomyces* sp. Mb 4-2 is $912,82\pm60,40$ units/10 min /g, and NH_4Cl in *Streptomyces* sp. 1.3 $531,37\pm27,25$ units/10 min /g, which is 58–481 % and 34,5–409% more, respectively, than on other tested nitrogen sources. The accumulation of biomass during growth was more dependent on the nitrogen source ($F=65,47$; $p<0,0001$) than on the strain of streptomycetes ($F=18,65$; $p<0,0001$). The interaction of these factors did not have a significant effect on the accumulation of biomass ($F=1,11$; $p=0,38$). Peptone and casein hydrolysate became the best nitrogen source for the growth of streptomycetes, providing an average of 19 % more biomass than inorganic nitrogen sources. It is shown that the optimization of the nutrient medium by the nitrogen source makes it possible to regulate the growth rates of streptomycetes-producing cultures and achieve maximum cellulase yield. The results obtained are of interest for the development of new environmentally friendly technological processes using streptomycetes in the production of cellulase

complex enzymes and in the destruction of cellulose-containing agricultural waste.

Введение

В последние годы все больший интерес представляют экологически чистые технологии, внедряемые на предприятиях различных отраслей промышленности. При производстве товаров по экологически чистым технологиям используются материалы, оказывающие минимальное воздействие на окружающую среду. Особую популярность приобретают технологии рециклинга, позволяющие перерабатывать отходы и вторично запускать получаемый продукт в производственный цикл.

В этом контексте особый интерес представляет использование отходов сельского хозяйства. Отходы растениеводства в основном представлены лигноцеллюлозными субстратами (листья, стебли, шелуха, корни, другие неиспользованные части растений). Лигноцеллюлоза – основной структурный компонент растений, состоит из целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина. Наиболее ценной для промышленного производства является целлюлоза.

Известно об использовании целлюлозосодержащих отходов в качестве субстратов для культивирования микроорганизмов, предназначенных для получения клеточных белков, органических кислот, грибов, биологически активных вторичных метаболитов, ферментов, пребиотических олигосахаридов и в качестве источников ферментируемых сахаров при производстве биоэтанола второго поколения [1, 2]. Микробные ферменты активно участвуют в перечисленных процессах, но также могут сами по себе являться целевыми продуктами. Целлюлазы наиболее часто используются в пищевой, целлюлозно-бумажной, текстильной промышленности, производстве стиральных порошков и биоэтанола [2].

Деструкция целлюлозы является комплексным процессом, требующим совместного действия трех групп ферментов:

- эндоцеллюлазы (иначе – эндоглюканазы) (ЕС 3.2.1.4), которые случайным образом разрезают внутренние аморфные участки целлюлозной полисахаридной цепочки, образуя олигосахариды различной длины и, следовательно, новые восстанавливающие и невосстанавливающие концы, разрушаемые экзоцеллюлазами;

- экзоцеллюлазы (целлобиогидролазы (ЕС 3.2.1.91)), одна часть которых действует на восстанавливающий (со свободной ОН-группой) конец целлюлозы, другая – на невосстанавливающий, отщепляя целлобиозу;

- β-глюкозидазы (ЕС 3.2.1.21), гидролизующие растворимые олигосахара и целлобиозу до глюкозы [3–5].

Целлюлазы, используемые сегодня в промышленном производстве, вырабатываются в основном грибами [6]. Но в природе важную роль в

Keywords:

Streptomyces, nitrogen sources, cellulose degradation, cellulase activity, plant materials and waste

деградации и рециркуляции целлюлозы играют почвенные бактерии – стрептомицеты, имеющие сходные с грибами мицелиальную организацию и экологические функции. Стрептомицеты способны использовать широкий спектр источников углерода и азота, продуцировать антибиотики для снижения конкуренции за субстрат, формировать споры в условиях лимитации ресурсов [7, 8]. Существует ряд сообщений о производстве стрептомицетами целлюлаз и ксиланаз [9]. Являясь прокариотами, стрептомицеты легче поддаются генетическим манипуляциям и могут оказаться хорошими кандидатами в производстве целлюлозолитических ферментов. Помимо направленной селекции штаммов-продуцентов для увеличения продукции целлюлолитических ферментов в процессе ферментации растительных отходов зачастую производят оптимизацию состава питательной среды, варьируя в среде концентрацию катионов [9, 10], pH [11, 12] и источники азота [11, 13 – 15].

Цель работы – выявить оптимальные источники азота для жидкофазного культивирования двух штаммов стрептомицетов-целлюлолитиков.

Объекты и методы исследования

В работе были использованы два природных изолята из почв Кировской области – штаммы *Streptomyces* sp. МБ 4–2 и 1.3, показавшие ранее высокую целлюлазную активность при деградации соломы [16]. Для культивирования применяли жидкую питательную среду следующего состава (г/л): K_2HPO_4 – 2, NaCl – 2, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 1, $MnSO_4$ – 0,05, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,05, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ – 2. Устанавливали исходное значение pH 7,2. В качестве единственного источника углерода служила измельченная солома в количестве 1 об.%. Источники азота вносили в среду в зависимости от варианта, в эквимольных по азоту количествах (г/л): NH_4Cl – 2, $NaNO_3$ – 3,2, NH_4NO_3 – 1,5, $(NH_4)_2SO_4$ – 2,5, KNO_3 – 3,77, пептон – 10, гидролизат казеина – 10.

Стрептомицеты выращивали в конических стеклянных колбах объемом 250 мл, содержащих по 50 мл жидкой питательной среды. Инокулятом служили два агаровых блока (диаметром 10 мм), вырезанных керном из 5-суточных газонных культур, выращенных на овсяном агаре при 28 °С. Ферментацию проводили стационарно в течение 15 сут. при 28 °С. Повторность в эксперименте – 3-кратная. Биомассу стрептомицетов измеряли после центрифугирования жидких культур при 7000 об./мин в течение 10 мин и высушивания при 105 °С до постоянного веса. Целлюлазную активность определяли в надосадочной жидкости с реактивом на основе динитросалициловой кислоты (ДНС) спектрофотометрически (540 нм) [17]. Активность фермента выражали в условных единицах (усл. ед./10 мин·г), производя перерасчет на 1 г сухой биомассы бактерий.

Статистическая обработка результатов выполнена методом двухфакторного дисперсионного анализа с использованием программ Microsoft Excel и Statgraphics. Значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

В ходе работы изучили влияние органических и неорганических источников азота на накопление биомассы *Streptomyces* sp. 1.3 и Мб 4–2 в процессе жидкофазного стационарного роста культур. При культивировании стрептомицетов на средах с органическими источниками азота (гидролизат казеина, пептон) сухая биомасса продуцентов целлюлаз в среднем была выше, чем при культивировании этих же штаммов на средах с минеральными источниками азота (рис. 1). Оба штамма продемонстрировали максимальный уровень накопления биомассы за 15-суточный период на среде с пептоном: *Streptomyces* sp. Мб 4–2 – $602,6 \pm 12,9$ мг и *Streptomyces* sp. 1.3 – $578,3 \pm 21,5$ мг, что соответственно на 33,5 и 27,0 % больше, чем на минеральной питательной среде с NH_4Cl . Эти результаты совпадают с данными других работ по стрептомицетам, авторы которых также отмечают, что оптимальными для наращивания биомассы являются органические источники азота – мясной экстракт и пептон [11, 15].

Среди сравниваемых минеральных источников азота наибольшую продуктивность обоих штаммов поддерживал KNO_3 , минимальный уровень продуктивности обеспечивался введением в среду NaNO_3 . Биомасса стрептомицетов, выращенных в средах с добавлением других солей, различалась по вариантам незначительно.

Результаты двухфакторного дисперсионного анализа полученных в эксперименте данных показали, что форма доступного азота оказала на продуктивность биомассы в 3,5 раза более значительное влияние ($F=65,47$; $p<0,0001$), чем штамм стрептомицета ($F=18,65$; $p<0,0001$). Вклад взаимодейст-

вия этих факторов в варьирование показателя оценивался как незначительный ($F=1,11$; $p=0,38$).

Введение в среду различных источников азота оказало на целлюлазную активность стрептомицетов еще более выраженное влияние, чем на выход биомассы. Но, в отличие от биомассы, максимальной активности фермента содействовало введение в среду минеральных, а не органических источников азота. Ранее в доступной нам литературе об этом не упоминалось. Напротив, при изучении реакции стрептомицетов на различные источники азота лучшие результаты в отношении целлюлазной активности обеспечивались введением в питательные среды органических источников азота, таких как дрожжевой экстракт [13] и пептон [11, 14, 15]. В наших экспериментах максимальную целлюлазную активность на уровне $912,82 \pm 60,40$ ед./10 мин/г обеспечил штамм *Streptomyces* sp. Мб 4–2 при росте на среде с NH_4NO_3 (рис. 2). Это в 3,3–3,4 раза выше, чем при выращивании этого стрептомицета на средах, содержащих гидролизат казеина ($270,71 \pm 31,33$ усл. ед./10 мин /г) и пептон ($275,2 \pm 14,00$ усл. ед./10 мин /г). Максимальная целлюлазная активность штамма *Streptomyces* sp. 1.3 ($531,37 \pm 27,25$ усл. ед./10 мин /г) отмечена на среде с другим минеральным источником азота – NH_4Cl . В этих условиях ферментативная активность *Streptomyces* sp. 1.3 достоверно не отличалась от активности штамма *Streptomyces* sp. Мб 4–2 ($577,53 \pm 14,38$ усл. ед./10 мин /г). На средах с другими источниками азота как органическими, так и минеральными целлюлазная активность *Streptomyces* sp. 1.3 была достоверно ниже, варьируя в пределах от 129,8 (пептон) до 395,0 ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) усл. ед./10 мин /г.

Результаты статистической обработки данных по целлюлазной активности двух штаммов, полученные методом двухфакторного дисперсионного анализа, подтвердили, что на варьирование этого показателя практически в равной степени оказыва-

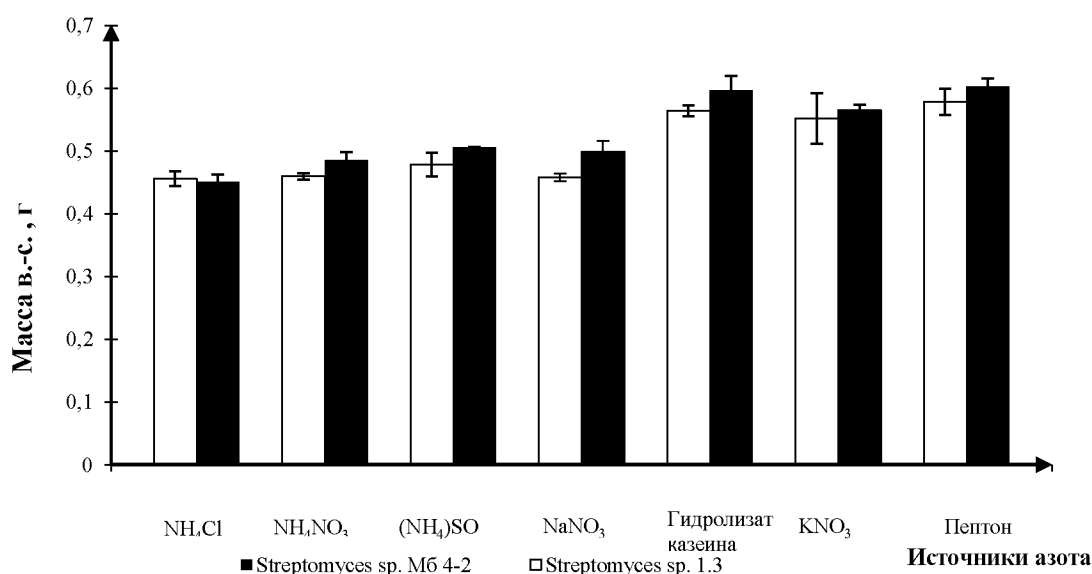


Рис. 1. Накопление биомассы двумя культурами стрептомицетов в зависимости от источника азота в жидкой питательной среде.

Fig.1. Accumulation of biomass by two streptomycetes cultures depending on the nitrogen source in a liquid nutrient medium.

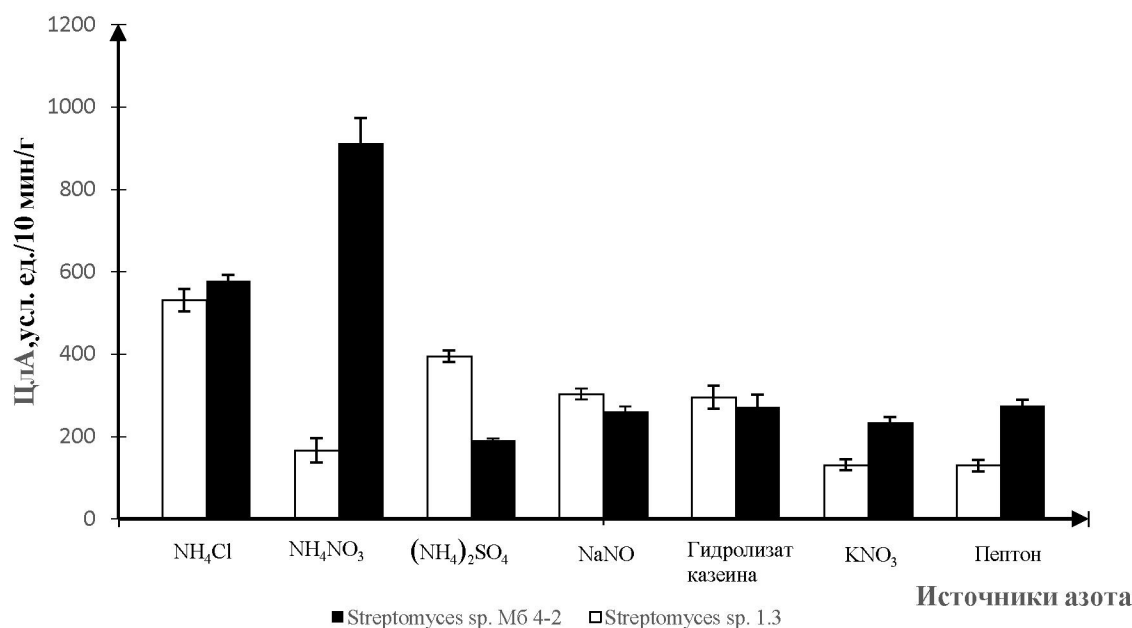


Рис. 2. Целлюлазная активность двух штаммов стрептомицетов в зависимости от источника азота в жидкой питательной среде.

Fig. 2. Cellulase activity of two strains of streptomycetes depending on the nitrogen source in a liquid nutrient medium.

ют влияние как источник азота ($F=225,92$; $p<0,0001$), так и штамм-продуцент ($F=205,98$; $p<0,0001$), а также взаимодействие этих факторов ($F=225,06$; $p<0,0001$).

Отсюда следует, что оптимизация состава питательной среды по источнику азота для реализации целлюлолитического потенциала отдельными культурами стрептомицетов должна носить индивидуальный характер. Замена одного компонента среды другим может обеспечить статистически значимое увеличение продукции целлюлазы. В отличие от имевшихся ранее в литературе сведений, максимальные значения целлюлазной активности штаммами *Streptomyces* sp. М6 4–2 и 1.3 были достигнуты на средах не с органическими, а с минеральными источниками азота – NH₄Cl и NH₄NO₃.

Установлено также значимое влияние источника азота на выход биомассы штаммов-продуцентов целлюлаз. В большей степени, чем неорганические соли, росту исследуемых культур стрептомицетов в условиях жидкофазного культивирования способствовали органические источники – гидролизат казеина и пептон, что совпадает с данными литературы. Штаммоспецифичность в реакции стрептомицетов-целлюлолитиков на те или иные источники азота по показателю накопления биомассы не прослеживалась.

Вывод

Таким образом, результаты проведенных экспериментов показали, что оптимизация питательной среды по источнику азота позволяет регулировать темпы роста культур стрептомицетов-продуцентов и добиваться максимального выхода целлюлазы. Полученные данные представляют интерес для разработки новых экологически чистых технологических процессов с использованием стреп-

томицетов в производстве ферментов целлюлазного комплекса и при деструкции целлюлозосодержащих отходов сельского хозяйства.

Литература – References

1. *Sánchez C.* Lignocellulosic Residues: Biodegradation and Bioconversion by Fungi // *Biotechnology Advances*. 2008. Vol. 27. P. 185–194. DOI:10.1016/j.biotechadv.2008.11.001
2. *Vermelho A.B., Supuran C.T., Guisan J.M.* Microbial enzyme: applications in industry and in bioremediation. *Enzyme Res.* 2012. Vol. 2012 P. 1–2. DOI: 10.1155/2012/980681
3. *Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology / L.R. Lynd, P.J. Weimer, W.H. van Zyl, I.S. Pretorius // Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2002. Vol. 66. P. 506–577. DOI: 10.1128/MMBR.66.3.506-577.2002
4. *Lee J.* Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol // *J. Bio-technol.* 1997. Vol. 56. P. 1–24. DOI: 10.1016/S0168-1656(97)00073-4
5. *Wilson D.B.* Three microbial strategies for plant cell wall degradation // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2008. Vol. 1125. P. 289–297. DOI: 10.1196/annals.1419.026
6. *Jayasekara S., Ratnayake R.* Microbial cellulases: An overview and applications. In *Cellulose*. Elsevier, 2019. P. 1–21. DOI: 10.5772/intechopen.84531
7. *Systems biology and biotechnology of Streptomyces species for the production of secondary metabolites / K.S. Hwang, H.U. Kim, P. Charusanti, B.O. Palsson, S.Y. Lee // Biotechnol Adv.* 2014. Vol. 32. № 2. P. 255–268. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2013.10.008

8. *Gopalakrishnan V., Srinivas S.L. Streptomyces*. In *Beneficial Microbes in Agro-Ecology*. Academic Press, 2020. P. 55–71. DOI:10.1016/B978-0-12-823414-3.00005-8.
9. *Saini A., Aggarwal N.K., Sharma A. Actinomycetes: a source of lignocellulolytic enzymes* // *Enzyme Res.* 2015. Vol. 2015. P. 1–15. DOI:10.1155/2015/279381
10. *Cellulolytic Streptomyces Sp. Isolated from a Highly Oligotrophic Niche Shows Potential for Hydrolyzing Agricultural Wastes* / *S. Celaya-Herrera, L.E. Casados-Vázquez, I. Valdez-Vázquez, F. Barona-Gómez, D.K. Bideshi, J.E. Barboza-Corona* // *BioEnergy Research*. 2021. Vol. 14. P. 333–343. DOI:10. 1007/s12155-020-10174-z
11. *Sureshkumar C., Munisamy P. Optimization of Process Parameters for Carboxymethyl Cellulase Production under Submerged Fermentation by Streptomyces lividians* // *Journal of Academia and Industrial Research*. 2015. Vol. 3. P. 371–379.
12. *Alam M., Sultana M., Anwar M.N. Isolation, identification and characterization of four cellulolytic actinomycetes and their cellulases* // *Chittagong University Journal of Biological Sciences*. 2013. Vol 6. P. 159–173. DOI:10.3329/cujbs.v6i1-2.17241
13. *Sinjaroonsak S., Chaiyaso T., H-Kittikun A. Optimization of Cellulase and Xylanase Productions by Streptomyces thermocoprophilus Strain TC13W Using Oil Palm Empty Fruit Bunch and Tuna Condensate as Substrates* // *Appl Biochem Biotechnol*. 2019. Vol. 189. № 1. P. 76–86. DOI: 10.1007/s12010-019-02986-3.
14. *Isolation Screening and Optimization of process parameters for enhanced production of cellulase by solid state fermentation* / *P.R. Yadav, P.B. Chauhan, M. Gahlout, H. Prajapat* // *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.* 2016. Vol. 3. № 5. P. 21–27.
15. *Optimization of extracellular endoxylanase, endoglucanase and peroxidase production by Streptomyces sp. F2621 isolated in Turkey* / *M. Tuncer, A. Kuru, M. Isikli, N. Sahin, F.G. Celenk* // *J Appl Microbiol.* 2004 Vol. 97. № 4. P. 783–791. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2004.02361.x.
16. *Сравнительная характеристика роста и целлюлазной активности стрептомицетов на различных субстратах* / *И.Г. Широких, Я.И. Назарова, Н.А. Боков, Т.Я. Ашихмина* // *Теоретическая и прикладная экология*. 2021. № 2. С. 122–127. DOI: 10.25750/1995-4301-2021-2-122-127
Sravnitel'naja harakteristika rosta i celljuzlaznoj aktivnosti streptomicetov na razlichnyh substratah [Comparative characteristics of the growth and cellulase activity of streptomyces on different substrates / *I.G. Shirokikh, Ja.I. Nazarova, N.A. Bokov, T.Ja. Ashihmina* // *Teoreticheskaja i prikladnaja ekologija* [Theoretical and applied ecology]. 2021. № 2. P. 122–127. DOI: 10.25750/1995-4301-2021-2-122-127
17. *Miller G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar* // *Analytical Chemistry*. 1959. V. 31. No. 3. P. 426–442. DOI: 10.1021/ac60147a030

Статья поступила в редакцию 05.10.2021.

УДК 546.791:546.44

DOI 10.19110/1994-5655-2021-5-66-71

**Л.М. ШАПОШНИКОВА, Н.Г. РАЧКОВА,
О.В. РАСКОША**

АККУМУЛЯЦИЯ УРАНА И РАДИЯ-226 ДИКОРАСТУЩИМИ РАСТЕНИЯМИ И ИХ ФИТОРЕМЕДИАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ

*Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
г. Сыктывкар*

*shaposhnikova.l.m@ib.komisc.ru,
rachkova@ib.komisc.ru,
raskosha@ib.komisc.ru*

**L.M. SHAPOSHNIKOVA, N.G. RACHKOVA,
O.V. RASKOSHA**

URANIUM AND RADIUM ACCUMULATION BY WILD PLANTS AND THEIR PHYTOREMEDIATION POTENTIAL

*Institute of Biology, Federal Research Centre
Komi Science Centre, Ural Branch, RAS,
Syktvykar*

Аннотация

В статье представлены результаты по изучению аккумуляции урана и радия-226 канареечником тростниковидным (*Phalaris arundinacea* L.) и осокой острой (*Carex acuta* L.), подтвержден их потенциал для использования в качестве фитостабилизаторов радиоактивных загрязнений. Выявлено, что аккумуляция урана и радия-226 из загрязненной пойменной аллювиально-дерновой почвы в надземной части растений невысокая и не позволяет отнести их к видам-концентраторам исследуемых радионуклидов. В то же время установлено, что уран и радий-226 преимущественно аккумулируются в корневой системе растений, которая и служит барьером для перехода радионуклидов в их надземную биомассу.

Ключевые слова:

уран, радий-226, аккумуляция, миграция, фитостабилизация, канареечник тростниковидный, осока

Abstract

The paper presents the results of studying the accumulation of uranium and radium-226 in canary grass (*Phalaris arundinacea* L.) and sedge (*Carex acuta* L.) in order to identify their role in the biogeochemical cycles of radionuclides, as well as their phytoremediation potential for use in remediation of radioactive contaminated territories. The content of radionuclides in soils has increased as a result of the activity of radium production enterprise in 1930-1950. Uranium content in the studied soil samples varied within 0.83–1.65 µg / g dry weight. Activity concentrations of radium-226 were in the range 1.82–37.6 Bq / g dry weight. The investigated plants were dug up by the roots. The root part was washed from the soil and separated from the aboveground biomass. In both parts of the plants, concentrations of uranium and radium-226 were determined. Based on the obtained data, bioconcentration factors (BCF) of radionuclides in both parts of the plants relative to the soil were calculated. Transfer factor TF (root / aboveground part) was also calculated as the ratio of the radionuclide concentrations in the aboveground part of plants and their roots. It was revealed that the accumulation of uranium and radium-226 in the aboveground part of the plants is low, which does not allow us to classify these species as concentrators of the studied radionuclides. BCFs (aboveground parts / soil) for uranium were ranged in 0.02–0.04. In the case of radium-226, BCFs varied from 0.007 to 0.12. The main part of uranium and radium-226 was accumulated in the root system of plants, which served as a barrier for the transfer of radionuclides to their aboveground parts. TFs (aboveground part / root) was 0.17–0.37 for uranium and 0.08–0.29 for radium. The obtained results indicate that canary grass and sedge contribute

to the stabilization of uranium and radium in the studied soil and have the potential to be used as phyto-stabilizers for these contaminants.

Введение

Рост ядерной промышленности с каждым годом увеличивает техногенную нагрузку на природные экосистемы. Важное место среди проблем, связанных с загрязнением, занимает радиационная безопасность. Так, добыча урановых руд сопровождается большим выбросом пылеобразующих радиоактивных частиц, а при переработке этого сырья образуется значительное количество отходов с повышенным содержанием радионуклидов ряда распада урана и актиноурана. По прогнозам экспертов [1], объемы добычи природного урана в ближайшей перспективе увеличатся в два раза. Ожидается, что в будущем этот показатель будет только расти, принося в жизнь новые экологические проблемы, связанные с процессами концентрирования и рассеяния естественных радиоактивных элементов в природных объектах.

Двойную роль в биогеохимических миграционных циклах радионуклидов способны играть растения. Являясь одним из ключевых звеньев пищевых цепей, они способствуют поступлению радионуклидов в организмы животных и человека, что в конечном итоге приводит к проблемам токсикологического и радиологического характера [2]. В то же время, благодаря аккумуляирующим функциям, растения приносят огромную пользу человечеству, выполняя важную роль в удалении загрязняющих веществ, в том числе радионуклидов, из окружающей среды и способствуя тем самым ее очищению. На этом их свойстве основаны фиторемедиационные технологии восстановления нарушенных территорий [3–6].

В Республике Коми имеются территории, подвергшиеся загрязнению природными радионуклидами более 60 лет назад вследствие добычи радия из пластовых вод [7], что привело к нарушению первоначального биогеоценоза. В процессе его восстановления формирование растительных сообществ происходило естественным образом. В настоящее время на этих загрязненных участках разнообразие сосудистых растений в своей географической и экологической структуре не отличается от фоновых территорий района, хотя на площадках с наибольшим уровнем радиационного и химического воздействия оно характеризуется все же меньшим богатством видов [8].

Цель работы – исследование аккумуляции урана и радия-226 некоторыми дикорастущими видами растений, произрастающими в условиях радиоактивного загрязнения. Изучение этих свойств растений может способствовать не только идентификации роли растительности в биогеохимических циклах радионуклидов и процессах самоочищения почв от поллютантов, но и выявлению видов, по-

Keywords:

uranium, radium-226, accumulation, migration, phytostabilization, canary grass, sedge

лезных для использования в фиторемедиационных мероприятиях.

Материалы и методы

Полевые наблюдения и отбор проб проводились в окрестностях пос. Водный Ухтинского района Республики Коми, где до 1947 г. действовало крупное предприятие по добыче радия из пластовых вод нефтяных месторождений, а позже, до 1957 г., – из отходов урановой промышленности [7]. Исследуемый участок площадью около 1 га является территорией бывшего химического завода, радиоактивное загрязнение которой произошло в результате сброса на поверхность почвы отработанных пластовых вод. В целом, участок характеризуется пойменной аллювиально-дерновой почвой, на которой произрастает луговая растительность. Однако примерно треть территории заболочена и занята осоковым сообществом растений. В 2018–2019 гг. здесь наряду с почвенным субстратом были отобраны образцы доминирующих видов многолетних растений канареечника тростниковидного (*Phalaris arundinacea* L.) и осоки острой (*Carex acuta* L.) для радиохимического определения содержания урана и радия-226 в их подземных (корни) и надземных частях. Для этого растения выкапывали вместе с корнями. Корневую часть отмывали от почвы и отделяли от надземной биомассы. На основе полученных данных о содержании урана и радия-226 в разных частях растений были вычислены коэффициенты накопления (КН) радионуклидов в них относительно почвы. Рассчитывали также коэффициент перехода КП (корень / надземная часть) как кратность концентрирования радионуклидов в надземной биомассе относительно корней растений.

Уран в растениях и почвах анализировали люминесцентным методом [9]. Чувствительность метода – 0.03 мкг/г при ошибке измерений ± 20 %. Радий-226 определяли эманационным методом [10]. Чувствительность метода – 2.0×10^{-12} г/г, погрешность измерений – 15 %. Все измерения осуществляли в трехкратных повторностях, расчеты были произведены на воздушно-сухое вещество. Статистическую обработку результатов проводили в программах Statistica 6.1 (StatSoft Inc.). Описательная статистика рассчитана при доверительном интервале 95 %. Достоверность различий для выборок оценивали по U-критерию Манна-Уитни (U-test).

Результаты и обсуждение

Содержание урана в исследованных образцах почв варьировало в пределах 0.83–1.65 мкг/г (табл. 1), что до 1.5 раз превышало его концентрации, характерные для фоновых аллювиальных почв региона [11]. Доля радиоактивного элемента, переносимая в надземную часть растений, была относи-

Таблица 1

Показатели аккумуляции урана разными видами растений

Table 1

Indicators of uranium accumulation by different plant species

Содержание U в почве, мкг/г	Содержание U в растениях, мкг/г		Коэффициенты накопления (КН)		КП (Надземная часть / корневая часть)
	Корневая часть	Надземная часть	Корневая часть / почва	Надземная часть / почва	
Канареечник тростниковидный					
1.60±0.23	0.07±0.01	0.02±0.003	0.05±0.008	0.01±0.001	0.30±0.04
1.47±0.19	0.08±0.02	0.01±0.001	0.05±0.006	0.01±0.001	0.17±0.03
1.32±0.19	0.06±0.01	0.01±0.001	0.05±0.007	0.01±0.001	0.18±0.03
Осока острая					
1.33±0.18	0.09±0.01	0.03±0.002	0.07±0.01	0.02±0.03	0.32±0.03
0.83±0.12	0.08±0.01	0.03±0.002	0.10±0.02	0.04±0.006	0.37±0.05

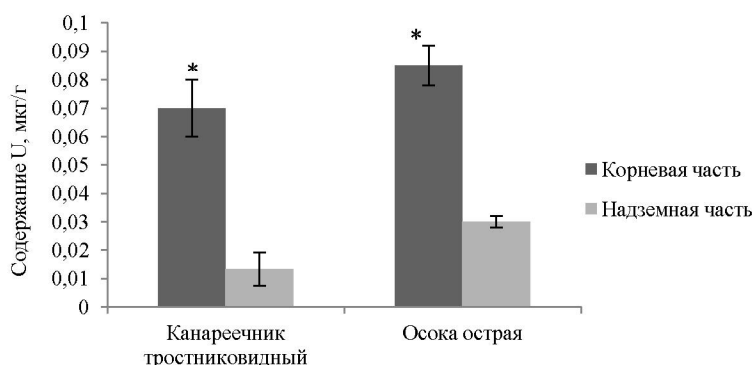


Рис. 1. Содержание урана в корневой и надземной частях растений.

Примечание: * – различия содержаний урана в корневой и надземной частях растений достоверны при $p \leq 0.01$.

Fig. 1. The content of uranium in the root and aboveground parts of plants.

Note: * – differences in uranium content in the root and aboveground parts of plants are significant at $p \leq 0.01$.

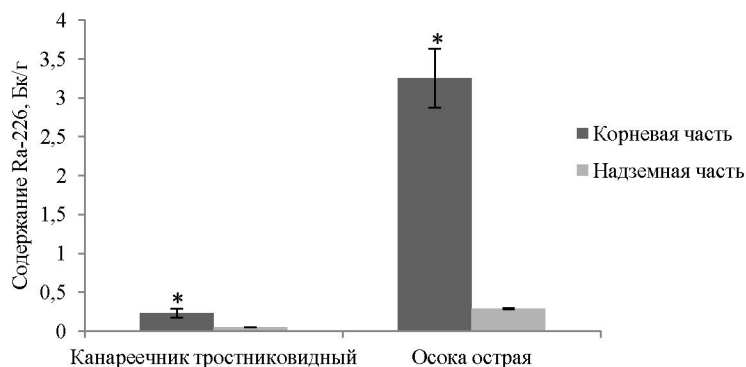


Рис. 2. Содержание радия-226 в корневой и надземной частях растений.

Примечание: * – различия содержаний радия-226 в корневой и надземной частях растений достоверны при $p \leq 0.01$.

Fig. 2. The content of radium-226 in the root and aboveground parts of plants.

Note: * – differences in radium-226 content in the root and aboveground parts of plants are significant at $p \leq 0.01$.

тельно невысокой и соответствовала КН (надземная часть / почва), изменяющимся в пределах 0.01–0.04.

Для всех исследованных образцов растений было характерно более высокое содержание U в их корневой части (рис. 1). Различия достоверны и в случае канареечника, и в случае осоки (U-test, $p \leq 0.01$). Коэффициенты перехода КП (корень / над-

земная часть) урана изменялись в пределах 0.17–0.37. Это свидетельствует о том, что основная доля урана, вовлекаемого в процесс биологического поглощения канареечником и осокой, накапливается в корневой части растений, и только до трети общего содержания радионуклида в исследуемых видах переходит в надземную биомассу.

Содержание радия-226 в исследуемых пробах почв варьировало от 1.82 до 37.6 Бк/г, что превышало соответствующий показатель для типичных аллювиальных пойменных почв [11]. Поступление радионуклида из этих образцов в надземную часть растений было сравнительно слабым. Так, КН в надземной части относительно почвы для канареечника составили 0.02–0.03, для осоки – 0.007 и 0.12. Значительная вариация КН в случае осоки связана с большим различием содержаний радия в исследуемых почвенных образцах. Как правило, мобильность и биологическая доступность радионуклида с ростом его концентрации в почве снижаются, что может отражаться на показателях его накопления растениями.

Подобно урану, содержания радия в корневой части растений были значительно выше (U-test, $p \leq 0.01$), чем в его надземной биомассе (рис. 2). Если в случае канареечника КП (надземная часть / корень) варьировали от 0.18 до 0.29, то в случае осоки их абсолютные значения оказались заметно меньше и изменялись от 0.08 до 0.10. При этом накопление радия в корнях растений относительно почвы было более высоким в сравнении с ураном. В случае осоки содержание радия в корневой части в одном из случаев достигало значений, соответствующих его содержанию в почве (табл. 2).

Таблица 2

Показатели аккумуляции радия-226 разными видами растений

Table 2

Indicators of radium-226 accumulation by different plant species

Содержание Ra-226 в почве, Бк/г	Содержание Ra-226 в растениях, Бк/г		Коэффициенты накопления (КН)		КП (надземная часть / корневая часть)
	Корневая часть	Надземная часть	Корневая часть / почва	Надземная часть / почва	
Канареечник тростниковидный					
2.20±0.27	0.22±0.03	0.05±0.003	0.10±0.03	0.02±0.002	0.23±0.03
1.96±0.21	0.28±0.04	0.05±0.004	0.14±0.03	0.03±0.004	0.18±0.2
1.82±0.19	0.17±0.01	0.05±0.003	0.10±0.02	0.03±0.004	0.29±0.03
Осока острая					
2.61±0.26	2.98±0.30	0.30±0.04	1.14±0.15	0.12±0.04	0.10±0.03
37.6±4.22	3.52±0.34	0.28±0.03	0.10±0.02	0.007±0.002	0.08±0.005

Известно, что по способности к накоплению радионуклидов, равно как и других химических элементов, различные виды растений сильно отличаются. Среди них специалисты обычно выделяют такие группы, как концентраторы металлов, индикаторы и эксклюдеры [12]. На свойстве растений накапливать металлы в высоких концентрациях в надземной части основана одна из методик фитодезактивации загрязненных территорий – фитоэкстракция [3]. Концентраторы (гиперконцентраторы) способны аккумулировать повышенные количества металлов в растительной ткани. В отношении урана таковым является подсолнечник (*Helianthus annuus*) [13, 14]. Известно, что хорошими аккумуляторами этого радиоактивного элемента являются наземные и водные мхи, лишайники [15, 16] и некоторые виды древесно-кустарниковой растительности. Во многом это связано с тем, что уран относится к элементам акропетального типа распределения, т.е. сравнительно более интенсивно накапливается в старых и многолетних органах и тканях растений [17]. Радий-226 также хорошо аккумулируется древесными и кустарниковыми видами растений, мхами, в меньшей степени – травами [18].

Согласно полученным данным, исследуемые нами виды растений нельзя считать концентраторами радионуклидов. Относительно низкие КН (надземная часть / почва), характеризующие канареечник тростниковидный и осоку острую, не позволяют их отнести к группе растительных организмов, способных выносить значительные количества урана и радия-226 на дневную поверхность. Как следствие, эти виды не представляются возможным использовать в качестве фитоэкстрагентов радионуклидов. Хотя перспективы использования канареечника в качестве фитоэкстрагента для некоторых микроэлементов, в основном за счет его большой биомассы, в литературе обсуждаются [19].

Наряду с концентраторами существует группа растений – фитостабилизаторов, в которых содержание металлов сравнительно ниже их содержания в среде произрастания. Несмотря на то, что эти растительные организмы обладают низким потенциалом извлечения металлов, они могут быть эффективны для целей стабилизации состояния металлов в почвах посредством сорбции корнями, осаждения, комплексообразования или снижения их валентности (подвижности) в ризосфере [3, 20]. Такие виды способны накапливать металлы из за-

грязненного субстрата корнями, но транспорт поллютантов и их проникновение в надземную биомассу ограничены [3]. Так, согласно А.Л. Ковалевскому [21], накопление урана на поверхности корней обусловлено переходом в восстановительной среде растворимых соединений U(VI) в нерастворимое состояние соединений U(IV). Часть урана при этом выделяется в почве в прикорневой зоне соответствующих растений в виде вторичных минералов. В целом же, пониженная подвижность радиоактивного элемента в растительной ткани может быть связана с тем, что он имеет тенденцию сорбироваться на клеточных стенках, поэтому его концентрация в подземной части растения обычно выше [14].

Анализ данных литературы показывает, что канареечник тростниковидный является хорошим фитостабилизатором в отношении нескольких микроэлементов. Так, по мнению авторов [20], растение представляет интерес для фитостабилизации загрязнений, связанных с такими металлами, как Со и Сd. Доказано, что лишь небольшая часть микроэлементов, захваченных корнями канареечника, попадает в его стебли и листья. Во всех исследованных нами образцах канареечника и осоки корни также выступали барьером для перехода урана и радия в надземные части растений. Барьерная роль корневой системы в случае накопления радия в исследованных растениях проявилась значительнее, чем для урана. Оба изучаемых вида, канареечник тростниковидный и осока острая, представляют собой крупные многолетние растения и имеют хорошую биомассу как в надземной, так и в корневой частях. Учитывая распространенность этих видов растений на исследуемом участке, можно утверждать, что они вносят заметный вклад в стабилизацию урана и радия в почве. Особенно это важно в случае осоки, которая произрастает в пойме на заболоченной части участка. Высокая степень накопления радионуклидов, в частности радия, в ее корневой системе будет способствовать не только снижению миграционной способности поллютантов, но и препятствовать рассеянию и выносу компонентов радиоактивного загрязнения в речную систему.

Заключение

Реабилитация территорий, подвергшихся радиоактивному загрязнению, является сложным и многозатратным процессом, тесно связанным с

проблемами перераспределения радионуклидов в биогеохимических циклах их миграции. Одним из направлений для снижения вероятности возникновения и уменьшения остроты подобных экологических проблем является стабилизация радиоэкологического состояния территорий посредством использования растений-фитостабилизаторов радионуклидов в почве. Результаты исследования аккумуляции урана и радия-226 канареечником тростниковидным и осокой показали слабое концентрирование радионуклидов в надземной части растений. В то же время накопление радиоактивных элементов в корневой системе растений, которая выступала барьером для перехода радионуклидов в их надземные части, было значительно выше. В целом, полученные результаты свидетельствуют о том, что канареечник и осока способствуют стабилизации урана и радия-226 в радиоактивно загрязненной пойменной аллювиально-луговой почве и, вследствие этого, перспективны для дальнейшего изучения с целью использования при реабилитации нарушенных территорий. Анализ результатов проведенного исследования в совокупности с данными литературы указывает на фиторемедиационный потенциал растений этих видов в отношении некоторых других токсичных микроэлементов, содержание которых в почве исследуемой загрязненной территории также повышено [7].

Исследования выполнены в рамках госзадания Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН № 0414-2018-0002 с частичной поддержкой гранта РФФИ и Правительства Республики Коми № 20-45-110009 p_a.

Литература

1. Назарова З.М., Овсейчук В.А., Лемент О.Ю. Рынок урана: современное состояние, проблемы и перспективы его развития // Проблемы современной экономики. 2016. № 2. С. 159–162.
2. Regulation of the Oxidative Processes in the Organs of Mice under the Effects of Chemical and Physical Factors at Low Doses / A.G. Kudyasheva, N.G. Zagorskaya, O.V. Raskosha, L.N. Shishkina // Biofizika. 2021. V. 66. № 4. P. 741–749.
3. Ali H., Khan E., Sajad M.A. Phytoremediation of heavy metals – concepts and applications // Chemosphere. 2013. V. 91. P. 869–881.
4. Evaluation of terrestrial plants extracts for uranium sorption and characterization of potent phytoconstituents / S. Sharma, B. Singh, S.K. Thulasidas, M.J. Kulkarni, V. Natarajan, V.K. Manchanda // International Journal of Phytoremediation. 2016. V. 18 (1). P. 10–15. DOI: 10.1080/15226514.2015.1045126
5. A review on in situ phytoremediation of mine tailings / L. Wang, B. Ji, Y. Hu, R. Liu, W. Sun // Chemosphere. 2017. V. 184. P. 594–600.
6. Pentyala V.B., Eapen S. High efficiency phytoextraction of uranium using *Vetiveria zizanioides* L. Nash // International Journal of Phytoremediation. 2020. V. 22 (1). P. 1137–1146. DOI: 10.1080/15226514.2020.1741506
7. Евсеева Т.И., Таскаев А.И., Кичигин А.И. Водный промысел. Сыктывкар, 2000. 39 с.
8. Species diversity of plant communities from territories anthropogenically contaminated with natural radionuclides / E.S. Belykh, T.A. Maystrenko, B.I. Grusdev, O.M. Vakhrusheva, A.V. Kaneva, V.G. Zainullin, A.V. Trapeznikov // Russian Journal of Ecology. 2015. V. 46 (5). P. 425–430.
9. Добролюбовская Т.С. Люминесцентный метод. Аналитическая химия урана. М.: Наука, 1962. С. 143–165.
10. Старик И.Е. Основы радиохимии. Л.: Наука, 1969. 247 с.
11. Тяжелые естественные радионуклиды в биосфере: Миграция и биологическое действие на популяции и биогеоценозы / Под ред. Р.М. Алексахина. М.: Наука, 1990. 368 с.
12. Baker A.J.M. Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to heavy metals // Journal of Plant Nutrition. 1981. V. 3. P. 643–654.
13. Removal of uranium from water using terrestrial plants / S. Dushenkov, D. Vasudev, Y. Kapulnik, D. Gleba, D. Fleisher, K.C. Ting, B. Ensley // Environment, Science and Technology. 1997. V. 31. P. 3468–3474.
14. Shahandeh H., Hossner L. Role of soil properties in phytoaccumulation of uranium // Water, Air and Soil Pollution. 2002. V. 141. P. 165–180.
15. Тумаева Н.А., Таскаев А.И. Миграция тяжелых естественных радионуклидов в условиях гумидной зоны. Л.: Наука, 1983. 232 с.
16. Uranium accumulation in aquatic macrophytes in an uraniumiferous region: Relevance to natural attenuation / C. Cordeiro, P. Favas, J. Pratas, S.K. Sarkar, P. Venkatachalam // Chemosphere. 2016. V. 156. P. 76–87.
17. Асварова Т.А. Содержание урана и тория в доминирующих видах растений Центрального Кавказа // Юг России: экология, развитие. 2008. № 2. С. 38–44.
18. Шапошникова Л.М. Основные факторы, влияющие на биологическое поглощение урана, радия и тория // Вестник ИБ Коми НЦ УрО РАН. 2017. № 3. С. 49–57.
19. Brezinova T., Vymazal J. Evaluation of heavy metals seasonal accumulation in *Phalaris arundinacea* in a constructed treatment wetland // Ecological Engineering. 2015. V. 79. P. 94–99. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.04.008>
20. Polechonska L., Klink A. Trace metal bioindication and phytoremediation potentialities of *Phalaris arundinacea* L. (reed canary grass) // Journal of Geochemical Exploration. 2014. V. 146. P. 27–33. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2014.07.012>
21. Ковалевский А.Л. О физиологических барьерах поглощения у растений по отношению к большим концентрациям урана в питающей среде // Теоретические и практические аспекты действия малых доз ионизирующих

излучений: Матер. Всесоюзного симпозиума. Сыктывкар, 1973. С. 92–94.

References

1. *Nazarova Z.M., Ovseichuk V.A., Lementa O.Yu.* Rynok urana: sovremennoe sostoyanie, problemy i perspektivy ego razvitiya [Uranium market: current state, problems and prospects of its development] // *Problemy sovremennoj ekonomiki* [Problems of modern economy]. 2016. No. 2. P.159–162.
2. Regulation of the Oxidative Processes in the Organs of Mice under the Effects of Chemical and Physical Factors at Low Doses / *A.G. Kudryasheva, N.G. Zagorskaya, O.V. Raskosha, L.N. Shishkina* // *Biofizika*. 2021. Vol. 66. №. 4. P. 741–749.
3. *Ali H., Khan E., Sajad M.A.* Phytoremediation of heavy metals – concepts and applications // *Chemosphere*. 2013. Vol. 91. P. 869–881.
4. Evaluation of terrestrial plants extracts for uranium sorption and characterization of potent phytoconstituents / *S. Sharma, B. Singh, S.K. Thulasidas, M.J. Kulkarni, V. Natarajan, V.K. Manchanda* // *Int. J. of Phytoremediation*. 2016. Vol. 18 (1). P. 10–15. DOI: 10.1080/15226514.2015.1045126
5. A review on in situ phytoremediation of mine tailings / *L. Wang, B. Ji, Y. Hu, R. Liu, W. Sun* // *Chemosphere*. 2017. V. 184. P. 594–600.
6. *Pentyala V.B., Eapen S.* High efficiency phytoextraction of uranium using *Vetiveria zizanioides* L. Nash // *Int. J. of Phytoremediation*. 2020. Vol. 22 (1). P. 1137–1146. DOI: 10.1080/15226514.2020.1741506
7. *Evseeva T.I., Taskaev A.I., Kichigin A.I.* Vodnyj promysel [Water fishing]. Syktyvkar, 2000. 39 p
8. Species diversity of plant communities from territories anthropogenically contaminated with natural radionuclides / *E.S. Belykh, T.A. Maystrenko, B.I. Grusdev, O.M. Vakhrusheva, A.V. Kaneva, V.G. Zainullin, A.V. Trapeznikov* // *Russian J. of Ecology*. 2015. Vol. 46 (5). P. 425–430.
9. *Dobrolyubskaya T.S.* Lyuminescentnyj metod. Analiticheskaya khimiya urana [Luminescent method. Analytical chemistry of uranium]. Moscow: Nauka, 1962. P. 143–165.
10. *Starik I.E.* Osnovy radiokhimii [Fundamentals of Radiochemistry]. Leningrad: Nauka, 1969. 247 p.
11. Tyazhelye estestvennye radionuklidy v biosfere: Migratsiya i biologicheskoe dejstvie na populyacii i biogeocenozy [Heavy natural radionuclides in the biosphere: Migration and biological effect on populations and biogeocenoses] / Ed. *R.M. Aleksakhin*. Moscow: Nauka, 1990. 368 p.
12. *Baker A.J.M.* Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to heavy metals // *J. of Plant Nutrition*. 1981. Vol. 3. P. 643–654.
13. Removal of uranium from water using terrestrial plants / *S. Dushenkov, D. Vasudev, Y. Kapulnik, D. Gleba, D. Fleisher, K.C. Ting, B. Ensley* // *Environment, Science and Technology*. 1997. Vol. 31. P. 3468–3474.
14. *Shahandeh H., Hossner L.* Role of soil properties in phytoaccumulation of uranium // *Water, Air and Soil Pollution*. 2002. Vol. 141. P. 165–180.
15. *Titaeva N.A., Taskaev A.I.* Migratsiya tyazhelyh estestvennyh radionuklidov v usloviyah gumidnoj zony [Migration of heavy natural radionuclides in a humid zone]. Leningrad: Nauka, 1983. 232 p.
16. Uranium accumulation in aquatic macrophytes in an uraniferous region: Relevance to natural attenuation / *C. Cordeiro, P. Favas, J. Pratas, S.K. Sarkar, P. Venkatachalam* // *Chemosphere*. 2016. Vol. 156. P. 76–87.
17. *Asvarova T.A.* Soderzhanie urana i toriya v dominiruyushchih vidah rastenij Central'nogo Kavkaza [The content of uranium and thorium in the dominant plant species of the Central Caucasus] // *Yug Rossii: ekologiya, razvitie* [South of Russia: ecology, development]. 2008. №. 2. P. 38–44.
18. *Shaposhnikova L.M.* Osnovnye faktory, vliyayushchie na biologicheskoe pogloshchenie urana, radiya i toriya [Main factors affecting the biological absorption of uranium, radium and thorium] // *Bull. of the Inst. of Biology, Komi Sci. Centre, Ural Branch, RAS*. 2017. № 3. P. 49–57.
19. *Brezinova T., Vymazal J.* Evaluation of heavy metals seasonal accumulation in *Phalaris arundinacea* in a constructed treatment wetland // *Ecological Engineering*. 2015. Vol. 79. P. 94–99. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoeng.2015.04.008>
20. *Polechonska L., Klink A.* Trace metal bioindication and phytoremediation potentialities of *Phalaris arundinacea* L. (reed canary grass) // *J. of Geochemical Exploration*. 2014. Vol. 146. P. 27–33. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2014.07.012>
21. *Kovalevsky A.L.* O fiziologicheskikh bar'erakh pogloshcheniya u rastenij po otnosheniyu k bol'shim koncentraciyam urana v pitayushchej srede [On physiological barriers of absorption in plants in relation to high concentrations of uranium in the nutrient medium] / *Teoreticheskie i prakticheskie aspekty dejstviya mal'nykh doz ioniziruyushchih izluchений* [Theoretical and practical aspects of the action of small doses of ionizing radiation]: Proc. of All-Union Symp. Syktyvkar, 1973. P. 92–94.

Статья поступила в редакцию 07.10.2021.

УДК 577.15:579.8

DOI 10.19110/1994-5655-2021-5-72-77

**А.А. ШУБАКОВ, В.В. ВОЛОДИН,
С.О. ВОЛОДИНА, В.В. МАРТЫНОВ**

СТУПЕНЧАТЫЙ ОТБОР ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ ПО ЦЕЛЛЮЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ КОЛОНИЙ ГРИБА *TRICHODERMA VIRIDE*

*Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
г. Сыктывкар*

*shubakov.anatol@mail.ru,
vladimir131035@yandex.ru,
svetlana20664@yandex.ru,
mar7inov.v@yandex.ru*

**A.A. SHUBAKOV, V.V. VOLODIN,
S.O. VOLODINA, V.V. MARTYNOV**

STEP-BY-STEP SELECTION OF HIGHLY PRODUCTIVE BY CELLULASE ACTIVITY COLONIES OF FUNGUS *TRICHODERMA VIRIDE*

*Institute of Biology, Federal Research Centre
Komi Science Centre, Ural Branch, RAS,
Syktyvkar*

Аннотация

В работе представлены результаты проведенного ступенчатого отбора высокопродуктивных по целлюлазной активности колоний гриба *Trichoderma viride* ВКПМ 13/10 (F-120). Для получения и отбора колоний *T. viride* 13/10 использовали плотные питательные среды, в которых источниками углерода являлись растворимые субстраты (2 % сахароза, 2 % натрий-карбоксиметилцеллюлоза) и нерастворимые, трудногидролизуемые субстраты (фильтровальная бумага Ватман № 1 и целлюлоза производства «Монди Сыктывкарский ЛПК»). Целлюлазную активность колоний *T. viride* 13/10 оценивали по осахариванию фильтровальной бумаги. В результате проведенной по разработанной нами схеме селекции штамма *T. viride* 13/10 удалось увеличить целлюлазную активность штамма по сравнению с его исходной активностью в 6,2–7,0 раза. Дальнейшая селекция, особенно с использованием мутагенных факторов, может еще более повысить уровень синтеза целлюлаз культурой гриба *T. viride*.

Ключевые слова:

грибы, Trichoderma viride, целлюлазы, селекция

Abstract

The paper presents the results of the stepwise selection of highly productive by cellulase activity colonies of the fungus *Trichoderma viride* ARCIM 13/10 (F-120). To obtain and select *T. viride* 13/10 colonies, dense nutrient media were used, in which the carbon sources were soluble substrates (2 % sucrose, 2 % sodium carboxymethyl cellulose) and insoluble, hardly hydrolyzable substrates (Whatman No. 1 filter paper and cellulose produced by JSC «Mondi Syktyvkar Timber Industry Complex»). Cellulase activity of *T. viride* 13/10 colonies was assessed by saccharification of filter paper. As a result of the selection of the *T. viride* 13/10 strain carried out according to the scheme developed by us, it was possible to increase the cellulase activity of the strain in comparison with its initial activity by 6,2–7,0 times. Further selection, especially with the use of mutagenic factors, can further increase the level of cellulase synthesis by the culture of the fungus *T. viride*.

Keywords:

fungi, Trichoderma viride, cellulases, selection

Введение

Ферментативный гидролиз целлюлозы происходит в результате последовательно-параллельного действия нескольких ферментов, входящих в

состав так называемого целлюлазного комплекса [1–4]. Целлюлазы, катализирующие гидролиз β -1,4-гликозидных связей целлюлозы, принадлежат к группе гликозидгидролаз и состоят из трех основных типов ферментов: эндоглюканазы (КФ 3.2.1.4), целлобиогидролазы (КФ 3.2.1.91) и β -глюкозидазы (КФ 3.2.1.21). Эндоглюканазы неупорядоченно гидролизуют в целлюлозе β -1-4-гликозидные связи с образованием целлоолигосахаридов. Целлобиогидролазы отщепляют целлобиозу с нередуцирующих концов целлоолигосахаридов, а β -глюкозидазы, или целлобиазы, гидролизуют целлобиозу, высвобождая две молекулы глюкозы [1, 5, 6].

Наиболее известными и используемыми в промышленности продуцентами целлюлаз являются грибы рода *Trichoderma* (*T. reesei*, *T. viride*). Они конвертируют целлюлозную биомассу до глюкозы, которая может быть использована для различных целей, таких как производство биоэтанола, в кормах для животных, в очистке сточных вод и пивоваренной промышленности [7, 8].

Одной из проблем промышленной биотехнологии является то, что многие штаммы-продуценты ферментов, в том числе и целлюлаз, в процессе периодических пересевов снижают свою активность. Это уменьшает выход целевого продукта и отрицательно сказывается на экономике производства. Решением данной проблемы является селекция высокопродуктивных штаммов-продуцентов ферментов [9].

То есть, наряду с поиском новых микроорганизмов с высоким уровнем биосинтеза внеклеточных ферментов, значительное развитие получили исследования по селекции более активных мутантов как новых, так и отобранных ранее [10].

Начало интенсивной селекции штаммов-продуцентов гидролитических ферментов было положено в 70-х г. XX в. работами Мандельс с сотрудниками, сообщившими о получении двух мутантов гриба *Trichoderma reesei*, обладавших высокой целлюлазной активностью. Авторы использовали традиционный селекционный прием обработки штамма дикого типа мутагенными факторами в сочетании со ступенчатым отбором. В результате общую активность внеклеточных целлюлаз, образуемых этой культурой, удалось повысить сначала в два, а затем еще в 1,4 раза [11, 12].

Для получения высоких уровней активности внеклеточных ферментов целлюлаз проводят оптимизацию параметров ферментации микроорганизмов – продуцентов ферментов, включая состав питательной среды для культивирования, оптимальные время культивирования, pH среды и температура культивирования [13]. Для повышения выхода целлюлаз, их активности и стабильности используют различные методы селекции и мутагенеза [14, 15].

Цель работы – отбор высокопродуктивных по целлюлазной активности колоний штамма *Trichoderma viride* ВКПМ F-13/10 на основе трудногидролизуемых целлюлозных материалов – фильтровальная бумага и целлюлоза производства «Монди Сыктывкарский ЛПК».

Материалы и методы

Объект исследования – продуцент целлюлолитических ферментов штамм мицелиального гриба *Trichoderma viride* ВКПМ 13/10 (F-120). Культуру поддерживали на агаризованной среде Ролена-Тома (РТ) при температуре +4 °С.

В качестве посевного материала использовали споровые суспензии *T. viride* 13/10 в стерильной дистиллированной воде. Засев производили в расчете 0,5 мл споровой суспензии на 100 мл жидкой питательной среды. За основу была принята питательная среда Ролена-Тома (РТ) следующего состава (%): $C_4H_4O_6(NH_4)_2$ – 0,33; KH_2PO_4 – 0,2; K_2SO_4 – 0,02; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,02; кукурузный экстракт – 1,0; раствор микроэлементов – 0,1 мл на 100 мл среды. Раствор микроэлементов имел следующий состав (%): $MnSO_4 \times 5H_2O$ – 0,008; $CuSO_4 \times 5H_2O$ – 0,04; $ZnSO_4 \times 7H_2O$ – 0,08; $Co(NO_3)_2 \times 6H_2O$ – 0,01; $FeSO_4 \times 7H_2O$ – 0,1; $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \times 4H_2O$ – 0,03; H_3BO_3 – 0,006; $CaCl_2 \times 6H_2O$ – 0,1.

Другой питательной средой для культивирования *T. viride* 13/10 служила разработанная нами среда, обозначенная как среда № 1, следующего состава (г/л): $(NH_4)_2SO_4$ – 5,0; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,5; KH_2PO_4 – 2,0; раствор микроэлементов – 0,1 мл на 100 мл среды. Раствор микроэлементов имел состав, аналогичный таковому для среды РТ.

Легкомогализируемыми источниками углерода в среде для культивирования *T. viride* являлись сахароза (2 %) или Na-карбоксиметилцеллюлоза (Na-KМЦ, 2 %). Трудногидролизуемыми лигноцеллюлозными материалами служили фильтровальная бумага Ватман № 1 и целлюлоза производства «Монди Сыктывкарский ЛПК».

При получении плотной агаризованной среды к жидкой среде добавляли 3 % агара.

Культуру гриба выращивали в колбах при перемешивании (220 об/мин) с объемом питательной среды 100 мл при 24 °С. Исходное значение pH среды было 5,0 без дальнейшего регулирования в процессе культивирования.

Общую целлюлазную активность по осаживанию фильтровальной бумаги (АФБ) определяли по методу Родионовой с соавт. [16]. Полоски фильтровальной бумаги размером 1 см×6 см помещали в две стеклянные пробирки, в которые добавляли 1 мл 0,05 М натрий-ацетатного буфера (pH 5,0) и 1 мл соответствующе разбавленного ферментного раствора. Пробирки инкубировали в водяном термостате при 50 °С в течение 1 ч., после чего из каждой пробирки отбирали по 1 мл раствора и определяли в них редуцирующие сахара по методу Нельсона-Шомоди [17, 18]. За одну единицу АФБ принимали такое количество фермента, которое освобождало при данных условиях из фильтровальной бумаги 1 мкмоль эквивалентов глюкозы за 1 ч.

Вес сухой биомассы определяли центрифугированием грибных культур в пробирках Эппендорфа, после чего пробирки высушивали до постоянного веса при 60 °С.

Цифровые данные в статье представляют собой средние величины, полученные в результате

трех независимо проведенных друг от друга экспериментов.

Результаты и обсуждение

Метод одно- и многоступенчатого отбора, применяемый в научных исследованиях при селекции высокоактивных продуцентов ферментов, довольно трудоемок и для получения штаммов со значительным увеличением активности ферментов требуется продолжительное время. Поэтому для ограничения числа вариантов, проверяемых в ходе отбора, создают селективные условия для первичной оценки мутантов по признаку, легче тестируемому, чем продуктивность культуры в отношении биосинтеза ферментов. В этом случае отбор мутантов проводят на агаризованных средах с труднометаболизируемым субстратом, основываясь на признаке размера колоний. У более крупных колоний затем проверяют активность ферментов [11, 19]. Поэтому в нашей работе в процессе ступенчатого отбора высокоактивных по целлюлазной активности колоний гриба *Trichoderma viride* в качестве труднометаболизируемых субстратов мы использовали фильтровальную бумагу Ватман № 1 и целлюлозу, произведенную на «Монди Сыктывкарский ЛПК».

Определение исходной целлюлазной активности гриба *Trichoderma viride* ВКПМ 13/10 (F-120). Исходная культура *T. viride* 13/10 в течение более чем 20 лет хранилась в пробирках на скошенной агаризованной среде Ролена-Тома РТ с 2 % сахарозы при температуре +4 °С при регулярных пересевах на свежие питательные среды один раз в два–три месяца. В пробирку с культурой *T. viride*

13/10 добавляли 5 мл стерильной дистиллированной воды с целью получения суспензии спор. Из пробирки со споровой суспензией *T. viride* были засеяны колбы со 100 мл жидкой питательной среды РТ, содержащей в качестве источника углерода 2 % сахарозы. Засев производили из расчета 0,5 мл споровой суспензии на 100 мл среды. Культивирование проводилось на качалке (220 об/мин) при температуре 24 °С. Через 4 и 5 суток были определены вес сухой биомассы и в фильтратах культуральной жидкости – общая целлюлазная активность по осахариванию фильтровальной бумаги – АФБ (табл. 1).

Как видно из табл. 1, исходная целлюлазная активность культуры гриба *T. viride* составляла 0,8–0,9 ед/мл АФБ, а удельная АФБ – 0,3 ед/мг с.б.

Культивирование *T. viride* 13/10 на плотной агаризованной среде. На 1-м этапе ступенчатого отбора культуру гриба *T. viride* рассевали в чашки Петри на поверхности плотной агаризованной среды РТ, содержащей в качестве источника углерода 2 % сахарозы, с целью получения изолированных колоний. Исходная споровая суспензия гриба была разведена в 10⁵ раз. Затем отбирали по 0,1 мл разведенной споровой суспензии и растирали ее стерильным шпателем Дригальского в чашках Петри по поверхности плотной среды. Выращивание колоний проводили в термостате при 28 °С. Каждая отдельная спора *T. viride* давала отдельную, изолированную колонию и через семь суток культивирования отбирали колонии визуально по морфологическим признакам (диаметр колонии) с наилучшими, и в качестве контроля – со средними и наихудшими показателями роста. Отобранные колонии были обозначены следующим образом: 1–1, 1–2 – колонии с наилучшими показателями роста; 2–1, 2–2 – со средними показателями; 3–1, 3–2 – колонии с наихудшими показателями роста.

Отобранные колонии *T. viride* культивировали в жидкой питательной среде РТ с 2 % сахарозы. Предварительно из центра каждой колонии гриба микробиологической иглой были вырезаны диски с культурой, которые были перенесены в соответствующую колбу с жидкой средой РТ. После двух суток культивирования определяли вес сухой биомассы и общую целлюлазную активность (табл. 2).

Как видно из табл. 2, колонии с наилучшими морфологическими показателями роста синтезировали больше всего целлюлаз. АФБ их составляет 1,3–1,4 ед/мл, а удельная АФБ – 0,11 ед/мг сухой биомассы (с.б.). Несколько ниже целлюлазная активность была в фильтратах после культивирования колоний со средними показателями роста: 0,5–0,8 ед/мл АФБ и удельная АФБ – 0,04–0,07 ед/мг с.б. Колонии с наихудшими морфологическими показателями роста обладали довольно низкой целлюлазной активностью на порядок ниже по сравнению с колониями с наилучшими морфологическими показателями роста: 0,1–0,2 ед/мл АФБ, удельная АФБ – 0,01–0,02 ед/мг с.б.

Таким образом, АФБ колоний с наилучшими морфологическими показателями роста увеличилась от исходной 0,7–0,8 до 1,3–1,4 ед/мл.

Таблица 1

Исходная общая целлюлазная активность по осахариванию фильтровальной бумаги (АФБ) штамма *Trichoderma viride* 13/10

Table 1

Initial total cellulase activity for saccharification of filter paper (FPA) of strain *Trichoderma viride* 13/10

Время, сутки	Вес сухой биомассы, г/л	АФБ, ед/мл	Удельная АФБ, ед/мг с.б.
4	2,7	0,8	0,3
5	3,0	0,9	0,3

Таблица 2

АФБ отобранных по морфологическим показателям роста колоний *Trichoderma viride* 13/10 через двое суток культивирования в жидкой среде РТ с 2 % сахарозы

Table 2

FPA of *Trichoderma viride* 13/10 colonies selected according to morphological growth parameters after 2 days of cultivation in a liquid RT medium with 2 % sucrose

Колония	Вес сухой биомассы, г/л	АФБ, ед/мл	Удельная АФБ, ед/мг с.б.
1–1	12,9	1,4	0,11
1–2	11,6	1,3	0,11
2–1	11,9	0,8	0,07
2–2	12,8	0,5	0,04
3–1	11,4	0,1	0,01
3–2	11,3	0,2	0,02

Исходя из полученных результатов, можно заключить, что у штамма *T. viride* 13/10 обнаруживается взаимосвязь между интенсивностью роста культуры и синтезом целлюлолитических ферментов. Чем более активный рост культуры на плотной среде, тем более интенсивно происходит синтез целлюлаз.

Культивирование *T. viride* 13/10 на плотной агаризованной среде с трудногидролизуемым лигноцеллюлозным материалом. На втором этапе селекции культуры *T. viride* 13/10, отобранные по морфологическим показателям роста, переседали из колб в чашки Петри с агаризованной средой РТ, содержащей в качестве источника углерода трудногидролизуемый субстрат – фильтровальную бумагу Ватман № 1 (ФБ) или целлюлозу (Ц) производства «Монди Сыктывкарский ЛПК». В плотной среде вырезали лунки, в которые засевали культуры *T. viride* (1–1, 1–2, 2–1, 2–2, 3–1, 3–2): по 0,2 мл культуры из колб в каждую лунку. После этого чашки Петри помещали в термостат для выращивания при 28 °С в течение 10 суток.

Далее выросшие в лунках колонии переседали в колбы с жидкой питательной средой РТ, содержащей в качестве источника углерода 2 % сахарозы. Через пять суток культивирования *T. viride* на качалке были определены вес сухой биомассы и в фильтрах – общая целлюлазная активность (табл. 3).

Как видно из табл. 3, после выращивания *T. viride* на плотной среде с трудногидролизуемым субстратом и дальнейшего культивирования колоний на жидкой среде РТ с 2 % сахарозы общая целлюлазная активность несколько увеличилась как в случае фильтровальной бумаги, так и в случае целлюлозы. АФБ колоний, отобранных по наилучшим морфологическим показателям роста, увеличилась до 2,0–2,5 ед/мл, что выше по сравнению с исходной активностью в 2,9–3,1 раза. АФБ других колоний повысилась незначительно.

Для дальнейшей селекции была отобрана колония 1–2 *T. viride* 13/10, секретирующая в жидкой среде достаточно большое количество целлюлаз (АФБ 2,4 ед/мл).

Колонию 1–2 переседали из колбы в чашки Петри с агаризованной средой № 1, содержащей в качестве источника углерода фильтровальную бумагу. В плотной среде вырезали лунки, в которые вносили по 0,2 мл жидкой культуры колонии 1–2 *T. viride* 13/10. Чашки помещали в термостат при 28 °С для выращивания колоний в течение 10 суток.

После этого визуально по морфологическим показателям роста и степени деструкции фильтровальной бумаги были отобраны пять колоний *T. viride*: Т–1, Т–2, Т–3, Т–4, Т–5.

Далее отобранные колонии *T. viride* переседали в колбы с жидкой питательной средой № 1, содержащей в качестве источника углерода 2 % Na-KMЦ. Через пять суток культивирования

при 28 °С были определены вес сухой биомассы и в фильтрах – общая целлюлазная активность (табл. 4).

Как видно из табл. 4, общая целлюлазная активность по сравнению с колонией Т–1 не увеличилась для колонии Т–2 (АФБ 2,4 ед/мл), но у остальных четырех колоний активность возросла до 2,5–3,3 ед/мл.

На основании наибольшей целлюлазной активности (АФБ – 3,3 ед/мл, удельная АФБ – 0,73 ед/мг с.б.) для дальнейшей селекции была использована колония Т–3 *T. viride* 13/10.

В последующих пяти проведенных циклах селекции колония Т–3 *T. viride* 13/10 переседалась на плотную среду № 1 с фильтровальной бумагой. На основании степени гидролиза фильтровальной бумаги отбирались

Таблица 3
АФБ выросших на плотной среде РТ с трудногидролизуемым субстратом колоний *Trichoderma viride* 13/10 через пять суток культивирования в жидкой среде РТ с 2 % сахарозы

Table 3

FPA of colonies of *Trichoderma viride* 13/10 grown on a dense RT medium with a hardly hydrolysable substrate after 5 days of cultivation in a liquid RT medium with 2% sucrose

Колония	Субстрат	Вес сухой биомассы, г/л	АФБ, ед/мл	Удельная АФБ, ед/мг с.б.
1–1	ФБ	6,2	2,0	0,32
1–2	ФБ	9,4	2,4	0,26
2–1	ФБ	7,0	0,7	0,10
2–2	ФБ	9,3	0,7	0,08
3–1	ФБ	7,1	0,1	0,01
3–2	ФБ	7,1	0,3	0,04
1–1	Ц	6,1	2,2	0,36
1–2	Ц	8,7	2,5	0,29
2–1	Ц	7,7	0,8	0,10
2–2	Ц	7,9	0,9	0,11
3–1	Ц	7,6	0,2	0,03
3–2	Ц	6,9	0,4	0,06

Таблица 4
АФБ выросших на плотной среде № 1 с фильтровальной бумагой колоний *Trichoderma viride* 13/10 через пять суток культивирования в жидкой среде № 1 с 2 % Na-KMЦ

Table 4

FPA of colonies of *Trichoderma viride* 13/10 grown on a dense medium No. 1 with filter paper after 5 days of cultivation in a liquid medium No. 1 with 2 % Na-KMC

Колония	Вес сухой биомассы, г/л	АФБ, ед/мл	Удельная АФБ, ед/мг с.б.
Т–1	4,2	2,8	0,67
Т–2	3,8	2,4	0,63
Т–3	4,5	3,3	0,73
Т–4	4,0	2,6	0,65
Т–5	4,1	2,5	0,61

наиболее активные колонии, АФБ которых проверялась при культивировании в колбах на жидкой среде № 1 с 2 % Na-KMЦ.

В результате проведенных экспериментов была отобрана колония Т-36, обладающая наибольшей целлюлазной активностью (АФБ – 5,6 ед/мл, удельная АФБ – 1,4 ед/мг с.б.) по сравнению со всеми другими испытанными колониями *T. viride* 13/10.

Культура *T. viride* с наибольшей целлюлазной активностью была пересеяна в пробирки со скошенной агаризованной средой РТ для хранения при температуре +4 °С. Полученная колония *T. viride* с высокой целлюлазной активностью в лиофилизированном состоянии может храниться долгое время без снижения своей продуктивности.

Заключение

На основании проведенных исследований можно заключить, что в результате ступенчатого отбора высокопродуктивных по целлюлазной активности колоний гриба *Trichoderma viride* отобрана колония с высокой целлюлазной активностью. При этом, общая целлюлазная активность отобранной колонии штамма *T. viride* ВКПМ F-13/10 по сравнению с исходной активностью была увеличена в 6,2–7,0 раза. Дальнейшая селекция, особенно с использованием мутагенных факторов, может еще больше повысить уровень синтеза целлюлаз культурой гриба *T. viride*.

Исследования проведены в рамках темы НИР ГР №АААА-А17-117121270025-1.

Литература

1. Клесов А.А., Григораш С.Ю. Ферментативный гидролиз целлюлозы III. Закономерности образования глюкозы и целлобиозы при действии полиферментных целлюлазных систем на нерастворимую (природную) целлюлозу // Биоорг. химия. 1981. Т. 7. № 10. С. 1538–1552.
2. Fungal cellulases / C.M. Payne, B.C. Knott, H.B. Mayes, H. Hansson, M.E. Himmel, M. Sandgren, J. Stahlberg, G.T. Beckham // Chem. Rev. 2015. Vol. 115. P. 1308–1448.
3. Roth J.C.G., Michele Hoeltz M., Benitez L.B. Current approaches and trends in the production of microbial cellulases using residual lignocellulosic biomass: a bibliometric analysis of the last 10 years // Arch. Microbiol. 2020. Vol. 202. P. 935–951.
4. An overview on the recent developments in fungal cellulase production and their industrial applications / A. Singh, S. Bajar, A. Devi, D. Pant // Bioresour. Technol. Rep. 2021. Vol. 14. Article 100652.
5. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology / L.R. Lynd, P.J. Weimer, W.H. van Zyl, I.S. Pretorius // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2002. Vol. 66. № 3. P. 506–577.
6. Kumar A., Gautam A., Dutt D. Biotechnological transformation of lignocellulosic biomass in to industrial products: An Overview // Adv. Biosci. Biotechnol. 2016. Vol. 7. P. 149–168.
7. An overview on fungal cellulases with an industrial perspective / S. Sajith, P. Priji, S. Sreedevi, S. Behjamin // J. Nutr. Food Sci. 2016. Vol. 6. № 1. P. 1–13.
8. Microbial cellulases: A review on strain development, purification, characterization and their industrial applications / H. Sher, N. Zeb, S. Zeb, A. Ali, B. Aleem, F. Iftikhar, S.U. Rahman, M.H. Rashid // J. Bacteriol. Mycol. 2021. Vol. 8. № 5. P. 1–15.
9. Zhang Y.-H.P., Himmel M.E., Mielenz J.R. Outlook for cellulase improvement: Screening and selection strategies // Biotechnol. Adv. 2006. Vol. 24. № 5. P. 452–481.
10. Селекция мутантного штамма *Aspergillus alliaceus* – продуцента пектингидролаз / P.B. Михайлова, А.Г. Лобанок, Л.И. Сапунова, Ж.Ф. Шишко, И.Е. Зенкович // Прикл. биохим. микробиол. 1998. Т. 34. № 1. С. 83–86.
11. Клесов А.А. Целлюлолитические микроорганизмы и ферменты // Итоги науки и техники. Серия Биотехнология. 1988. Т. 10. 224 с.
12. Клесов А.А., Виноградова Л.Г. Биотехнология ферментативного превращения целлюлозы // Итоги науки и техники. Серия Биотехнология. 1988. Т. 12. 154 с.
13. Enhanced cellulase production of the *Trichoderma viride* mutated by microwave and ultraviolet / X.-H. Li, H.-J. Yang, B. Roy, E.Y. Park, L.-J. Jiang, D. Wang, Y.-G. Miao // Microbiol. Res. 2010. Vol. 165. P. 190–198.
14. Mandels M., Weber J., Parizek R. Enhanced cellulase production by a mutant of *Trichoderma viride* // Appl. Microbiol. 1971. Vol. 21. P. 152–154.
15. Получение и свойства мутантов *Penicillium verruculosum* с повышенным образованием целлюлаз и ксиланаз / И.В. Соловьева, О.Н. Окунев, В.В. Вельков, А.В. Кошелев, Т.В. Бубнова, Е.Г. Кондратьева, А.А. Скомаровский, А.П. Сеницын // Микробиология. 2005. Т. 74. № 2. С. 172–178.
16. Родионова Н.А., Тиунова Н.А., Фениксова Р.В. Методы определения целлюлазной активности // Прикл. биохим. микробиол. 1966. Т. 2. Вып. 2. С. 197–205.
17. Nelson N. A photometric adaptation of the determination of reducing sugars // J. Biol. Chem. 1944. Vol. 153. P. 375–380.
18. Somogyi M. A new reagent for the determination of sugars // J. Biol. Chem. 1945. Vol. 160. P. 61–68.
19. A novel strain of *Trichoderma viride* shows complete lignocellulolytic activities / K. Neethu, M. Rubeena, S. Sajith, S. Sreedevi, P. Priji, K.N. Unni, M.K.S. Josh, V.N. Jisha, S. Pradeep, S. Benjamin // Adv. Biosci. Biotechnol. 2012. Vol. 3. No. 8. P. 1160–1166.

References

1. Klesov A.A., Grigorash S.Yu. Fermentativnyj gidroliz celljulozy III. Zakonomernosti obrazovaniya gljukozy i cellobiozy pri dejstvii polifermentnyh celljulaznyh sistem na nerastvorimuju (prirodnuju) celljulozu [Enzymatic hydrolysis of cellulose III. Regularities of the formation of glucose and cellobiose under the action of

- polyenzyme cellulase systems on insoluble (natural) cellulose] // Bioorg. chemistry. 1981. Vol. 7. № 10. P. 1538–1552.
2. Fungal cellulases / C.M. Payne, B.C. Knott, H.B. Mayes, H. Hansson, M.E. Himmel, M. Sandgren, J. Stahlberg, G.T. Beckham // Chem. Rev. 2015. Vol. 115. P. 1308–1448.
3. Roth J.C.G. Michele Hoeltz M., Benitez L.B. Current approaches and trends in the production of microbial cellulases using residual lignocellulosic biomass: a bibliometric analysis of the last 10 years // Arch. Microbiol. 2020. Vol. 202. P. 935–951.
4. An overview on the recent developments in fungal cellulase production and their industrial applications / A. Singh, S. Bajar, A. Devi, D. Pant // Bioresour. Technol. Rep. 2021. Vol. 14. Article 100652.
5. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology / L.R. Lynd, P.J. Weimer, W.H. van Zyl, I.S. Pretorius // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2002. Vol. 66. № 3. P. 506–577.
6. Kumar A., Gautam A., Dutt D. Biotechnological transformation of lignocellulosic biomass in to industrial products: An Overview // Adv. Biosci. Biotechnol. 2016. Vol. 7. P. 149–168.
7. An overview on fungal cellulases with an industrial perspective / S. Sajith, P. Priji, S. Sreedevi, S. Behjamin // J. Nutr. Food Sci. 2016. Vol. 6. № 1. P. 1–13.
8. Microbial cellulases: A review on strain development, purification, characterization and their industrial applications / H.Sher, N.Zeb, S.Zeb, A. Ali, B. Aleem, F. Iftikhar, S.U. Rahman, M.H. Rashid // J. Bacteriol. Mycol. 2021. Vol. 8. № 5. P. 1–15.
9. Zhang Y.-H.P., Himmel M.E, Mielenz J.R. Outlook for cellulase improvement: Screening and selection strategies // Biotechnol. Adv. 2006. Vol. 24. № 5. P. 452–481.
10. Selekcija mutantnogo shtamma *Aspergillus alliaceus* – producenta pektinidrolaz [Selection of a mutant strain of *Aspergillus alliaceus* – a producer of pectin hydrolases] / R.V. Mikhailova, A.G. Lobanok, L.I. Sapunova, Zh.F. Shishko, I.E. Zenkovich // Prikl. biohim. mikrobiol. [Appl. Biochem. Microbiol.]. 1998. Vol. 34. № 1. P. 83–86.
11. Klesov A.A. Celljuloliticheskie mikroorganizmy i fermenty [Cellulolytic microorganisms and enzymes] // Itogi nauki i tehniki, serija Biotehnologija [Results of Science and Technology, Biotechnology series] 1988. Vol. 10. 224 p.
12. Klesov A.A., Vinogradova L.G. Biotehnologija fermentativnogo prevrashhenija celljulozy [Biotechnology of enzymatic transformation of cellulose] // Itogi nauki i tehniki, serija Biotehnologija [Results of science and technology, Biotechnology series]. 1988. Vol. 12. 154 p.
13. Enhanced cellulase production of the *Trichoderma viride* mutated by microwawe and ultraviolet / X.-H Li., H.-J.Yang, B.Roy, E.Y. Park, L.-J. Jiang, D. Wang, Y.-G. Miao // Microbiol. Res. 2010. Vol. 165. P. 190–198.
14. Mandels M., Weber J., Parizek R. Enhanced cellulase production by a mutant of *Trichoderma viride* // Appl. Microbiol. 1971. Vol. 21. P. 152–154.
15. Poluchenie i svojstva mutantov *Penicillium verruculosum* s povyshennym obrazovaniem celljulaz i ksilanaz [The selection and properties of *Penicillium verruculosum* mutants with enhanced production of cellulases and xylanases] / I.V. Solovyeva, O.N. Okunev, V.V. Vel'kov, A.V. Koshelev, T.V. Bubnova, E.G. Kondratyeva, A.A. Skomarovsky, A.P. Sinitsyn // Mikrobiologija. [Microbiology] 2005. Vol. 74. № 2. P. 172–178.
16. Rodionova N.A., Tiunova N.A., Feniksova R.V. Metody opredeleniya celljulaznoj aktivnosti [Methods for determining cellulase activity] // Prikl. biohim. mikrobiol. [Appl. Biochem. Microbiol.]. 1966. Vol. 2. Issue 2. P. 197–205.
17. Nelson N. A photometric adaptation of the determination of reducing sugars // J. Biol. Chem. 1944. Vol. 153. P. 375–380.
18. Somogyi M. A new reagent for the determination of sugars // J. Biol. Chem. 1945. Vol. 160. P. 61–68.
19. A novel strain of *Trichoderma viride* shows complete lignocellulolytic activities / K. Neethu, M. Rubeena, S. Sajith, S.Sreedevi, P. Priji, K.N. Unni, M.K.S. Josh, V.N. Jisha, S. Pradeep, S. Benjamin // Adv. Biosci. Biotechnol. 2012. Vol. 3. No. 8. P. 1160–1166.

Статья поступила в редакцию 26.10.2021.

УДК 581.192:615.32:547.918

DOI 10.19110/1994-5655-2021-5-78-87

Т.М. ШИРШОВА, И.В. БЕШЛЕЙ, К.Г. УФИМЦЕВ

**РАСТЕНИЯ СЕМЕЙСТВА ГВОЗДИЧНЫЕ
(CARYOPHYLLACEAE) –
РАСПРОСТРАНЕНИЕ, СОДЕРЖАНИЕ
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ,
БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА**

*Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
г. Сыктывкар*

shirshova@ib.komisc.ru

T.I. SHIRSHOVA, I.V. BESHLEY, K.G. UFIMTSEV

**PLANTS OF THE CARNATION FAMILY
(CARYOPHYLLACEAE) – DISTRIBUTION,
CONTENT OF BIOLOGICALLY ACTIVE
SUBSTANCES, BIOLOGICAL PROPERTIES**

*Institute of Biology, Federal Research Centre
Komi Science Centre, Ural Branch, RAS,
Syktывkar*

Аннотация

В статье приведены сведения о распространении в мире и на территории Республики Коми растений одного из наиболее крупных семейств в порядке гвоздичных – Caryophyllaceae, содержании в них биологически активных веществ и их полезных свойствах. По последним данным, семейство Гвоздичные включает 2 456 видов, относящихся к 91 роду, представители которого широко распространены практически по всем континентам Земли. Гвоздичные содержат большое разнообразие вторичных метаболитов, многие из которых проявляют интересную биологическую и фармакологическую активность: стероидные и тритерпеновые сапонины, алкалоиды, витамины, органические кислоты, флавоноиды, фитоэкдистероиды, летучие вещества, фенолы и другие биологически активные соединения. Наличие данных веществ обуславливает применение отдельных видов семейства в народной и официальной медицине. В настоящем обзоре основное внимание уделяется фитохимическому разнообразию вторичных метаболитов и их биологической активности, в том числе новые данные о содержании сапонинов в представителях гвоздичных из флоры Республики Коми. На территории республики произрастает 83 вида, относящиеся к 23 родам, большая часть из которых не исследована на содержание сапонинов.

Ключевые слова:

Гвоздичные (Caryophyllaceae), вторичные метаболиты, стероидные и тритерпеновые сапонины, фитоэкдистероиды, фитохимическое разнообразие, биологическая активность, фармакология

Abstract

The paper deals with the distribution, in the world and on the territory of the Komi Republic, of plants of one of the largest families in the order of carnations – Caryophyllaceae, the content of biologically active substances in them and their useful properties. According to the latest data, the Carnation family includes 2,456 species belonging to 91 genera, which representatives are widely distributed on almost all continents of the Earth. Cloves contain a wide variety of secondary metabolites, many of which exhibit interesting biological and pharmacological activity: steroid and triterpene saponins, alkaloids, vitamins, organic acids, flavonoids, phytoecdysteroids, volatile substances, phenols and other biologically active compounds. The presence of these substances determines the use of certain types of the family in folk and conventional medicine. This review focuses on the phytochemical diversity of secondary metabolites and their biological activity, including new data on the content of saponins in representatives of carnations from the flora of the Komi Republic.

83 species belonging to 23 genera grow on the territory of the republic, most of which have not been studied for the content of saponins.

Keywords:

Carnations family (Caryophyllaceae), secondary metabolites, steroid and triterpene saponins, phytoecdysteroids, phytochemical diversity, pharmacology

Введение

Растения, метаболитами которых является целая плеяда биологически активных веществ (БАВ), проявляющих физиологическую, антимикробную, геропротекторную и другие виды активности, многие годы вызывают активный интерес ученых разных научных направлений. К таким объектам относятся растения семейства Caryophyllaceae (Гвоздичные), одного из наиболее крупных семейств в порядке гвоздичных. По последним данным сайта The Plant List [1], семейство включает 2 456 видов, относящихся к 91 роду. Согласно другим данным – 104 рода с более чем 2 тыс. видов [2]. Один только род *Silene* насчитывает более 700 видов (выделено 39 разделов) однолетних, двулетних и многолетних растений, распространенных в основном в умеренных зонах не только Северного полушария Евразии и Америки, но и в Африке [3]. Гвоздичные можно встретить в самых различных местообитаниях на всех континентах земного шара. Представители этого семейства произрастают в тундре, среди них много лесных и луговых растений. Особенно широко гвоздичные представлены в умеренных областях северного полушария, причем наибольшее число родов и видов сосредоточено в Средиземноморье, Западной и Средней Азии [4].

Представители семейства Caryophyllaceae содержат большое разнообразие вторичных метаболитов, многие из которых проявляют интересную биологическую и фармакологическую активность. Только из растений рода *Silene* было выделено более 450 соединений, включающих такие важные классы, как тритерпеновые сапонины, фитоэкдистероиды, алкалоиды, витамины, органические кислоты, флавоноиды, летучие вещества, фенолы [2]. Наличие данных веществ обуславливает применение отдельных видов семейства в народной и официальной медицине [5]. К ним относятся: Грыжник гладкий (*Herniaria glabra*), представители родов Качим (*Gypsophila*), Колючелистник (*Acanthophyllum*), Смолевка (*Silene*).

Название грыжник растение *Herniaria glabra* получило потому, что его успешно применяют для лечения грыж, используя припарки из распаренной травы. Надземная часть грыжника гладкого содержит кумарины герниарин и умбеллиферон (до 0,8 %), которые придают сильный запах высушенной траве, флавоноиды (кверцетин и его производные, гиперозид, гликозиды изорамнетина, рутин, глабросид), дубильные вещества (свыше 3 %), тритерпеновые сапонины (5–16 %), органические кислоты (глицоловую, глицериновую, салициловую, феруловую, кофейную, ванилиновую, протокатеховую, п-кумаровую, п-гидроксibenзойную), эфирное масло (до 0,6 %), витамин С, каротин (провитамин А), антоцианы,

следы неприятно пахнущего алкалоида паронихина, алкалоид ликорин, аллантоин, углеводы, минеральные соли (железа, меди, марганца, цинка и т.д.) [6, 7]. Хотя грыжник относится к ядовитым растениям, при правильном использовании он влияет на процесс лечения многих болезней. Отвары и настои травы грыжника обладают сильным мочегонным действием, его используют при водянке, заболеваниях почек и мочевого пузыря, для снижения кровяного давления и проявляют противомикробные свойства при гонорейном воспалении мочевыводящих путей [6].

Качим метельчатый (*Gypsophila paniculata*) – многолетнее травянистое растение, повсеместно встречающееся в Средней Азии, западной части Сибири, на юго-востоке России и Украины [7]. В народе его также называют кучерявкой и перекаати-полем. Сырье используют как слабительное и отхаркивающее средства, при болезнях печени. Экстракты растения проявляют антибактериальные свойства [8]. Корни качима метельчатого, благодаря высокому содержанию сапонинов (от 6 до 20 %), используют как источник их получения, а также в пищевой промышленности для изготовления шипучих напитков, халвы и кремов. Причем корни двулетних растений по весу и содержанию сапонинов в 1,5–2 раза превосходят корни многолетних дикорастущих экземпляров [9]. Такой широкий спектр действия обусловлен богатым химическим составом растения, которое содержит аскорбиновую кислоту, флавоноиды (апигенин, витексин, сапонаретин, качимозид), тритерпеновые сапонины, в том числе гликозиды гипсогенина и квиллайевой кислоты, и множество других БАВ [8, 10].

Большой интерес и значение представляет род *Silene*, включающий в себя ряд культурных видов и широко распространенных сорняков [11]. *S. acaulis* (L.) Jacq., *S. italica* (L.) Pers. (syn. *S. Multifida* Edgew.) и *S. regia* Sims культивируются как красиво цветущие декоративные растения [12], проявляющие, кроме того, антимикробные свойства (*S. multifida*). Фитохимические исследования этого рода привели к выделению ряда фитоэкдистероидов, тритерпеновых сапонинов [2], терпеноидов, бензолонидов, флавоноидов [13], антоцианидинов, N-содержащие соединения [14], стерины и витамины [15].

Многие виды гвоздичных, произрастающие на пастбищных лугах и в степях, используются как кормовые травы. Наибольшую ценность представляют гвоздика дельтовидная, или травянка (*Dianthus deltoides* L.) и мягковолосник водяной *Stellaria aquatica* (L.) Scop., (syn. *Myosoton aquaticum* (L.) Moench). Гвоздика травянка – типичный европейский вид, который представляет собой многолетнее травянистое растение высотой до 45 см с супро-

тивными длинными листьями. Растет она обычно на каменистых пустырях, в травяных зарослях, на лугах, в разреженных лесах, сухих борах, вырубках, на придорожных луговинах. Размножается гвоздика травянка семенами [6]. Применяют гвоздику в народной медицине, собирая надземную часть растения во время цветения. Настои травы гвоздики дельтовидной обладают кровоостанавливающими, обезболивающими и противовоспалительными свойствами. Чаще всего в народной медицине их применяют при маточных и геморроидальных кровотечениях. Препараты гвоздики возбуждают и повышают тонус гладких мышц матки, не вызывая при этом побочных явлений. Настои не обладают местным раздражающим действием и не токсичны. Кроме того, настои и припарки гвоздики дельтовидной используют для лечения ревматизма и при аллергических проявлениях [6].

Мягковолосник водяной, или м. водный (*St. aquatica*) – многолетник, высота которого может составлять 20–70 см. Стебли его в верхней части опушены, а в нижней – голые. Листья у мягковолосника яйцевидные, а соцветия представляют собой полузонтик. В природных условиях это растение встречается в европейской части России, на Кавказе, в Средней Азии, на Дальнем Востоке, в Сибири. В надземной части содержатся флавоноиды [16]. Используется в качестве настоя при гриже, женских болезнях, кашле, при ревматизме в виде припарок [17], при опухолях селезенки и желудка [18].

Некоторые представители этого семейства опасны для человека и животных. Самым известным растением, относящимся к этой группе, является куколь обыкновенный (*Agrostemma githago* L.), семена которого ядовиты [8]. Исследования лекарственных свойств куколя показали, что его экстракты обладают антигельминтным и отхаркивающим действием, экстракты семян – диуретическими свойствами, однако из-за ядовитости в официальной медицине куколь не применяется [19]. Семена его содержат около 7 % ядовитого гликозида питагина (агростемина), который действует на сердце, нервную систему и разрушает красные кровяные тельца. Примесь семян куколя в муке придает ей горький привкус, а в количестве 0,5 % может быть опасной для здоровья человека [4].

Удивительными и многообразными полезными свойствами обладает Звездчатка средняя (*Stellaria media* (L.) Vill.), известная также под названиями мокрица, канареечная трава [6, 20]. Это однолетнее травянистое теневыносливое растение, причисляемое к сорнякам, евразийско-североамериканский вид, произрастающий как в субтропиках и тропиках, так и в районах с умеренным и холодным климатом. Она встречается практически на всей территории России. Чаще всего растение обитает в лесу по сырым лесным дорогам и полянам, на огородах и придомовых территориях, сорных местах [6, 20]. В огородах является злостным сорняком, бороться с которым трудно из-за большого количества семян. Одно растение дает, по разным данным, от 2–3 [21] до 15 тыс. семян [22], которые сохраняют всхожесть в почве в течение двух–пяти лет. Размножается также вегетативно укоренением

стеблей. Развивается с ранней весны до наступления заморозков, давая за вегетационный период два–три поколения [21]. В надземной части звездчатки средней содержится много каротина и особенно аскорбиновой кислоты (до 65 мг%). Надземную зеленую часть растения используют в пищу как в сыром виде – при приготовлении салатов, так и отваренными – вместо шпината в винегреты, борщи и как приправу ко вторым блюдам. Широкое применение в фитотерапии трава мокрица получила, благодаря богатому набору БАВ. Она содержит алкалоиды [23], тритерпеновые гликозиды, флавоноиды, дубильные вещества, до 65 мг% аскорбиновой кислоты [6, 20], витамины Е, К [8]. В свежем виде мокрицу применяют при болезнях почек, печени, легких, сердца, как диуретическое и слабительное средство. В народной медицине коми применяют как противочинготное, антисептическое и противовоспалительное средство [20, 24].

Многие виды гвоздичных являются источниками тритерпеновых сапонинов – хорошо изученного класса соединений растительного происхождения. Они широко распространены в растительном царстве, некоторых морских организмах и морской флоре и фауне [25]. Большой интерес к изучению этих молекул связан с их структурным разнообразием, способностью к образованию сложных смесей с интересными биологическими свойствами. Сапонины олеананового типа представляют основную фракцию сапонинов в семействе Caryophyllaceae. Согласно литературным данным, наиболее широко распространенными в семействе Caryophyllaceae сапогенинами являются гипсогенин, гипсогеновая, квиллайевая, олеаноловая кислоты и их производные (рисунок) [10]. Гипсогенин обнаружен у 46 % исследованных видов. Наибольшим накоплением этого сапогенина отличается род *Gypsophila* L., в котором 75 % исследованных видов содержат гипсогенин. Он встречается в три раза чаще, чем гипсогеновая или квиллайевая кислоты [26].

Известно, что многие представители данного класса веществ обладают адаптогенными, иммуномодулирующими, противоопухолевыми, тонизирующими и другими свойствами, проявляя высокую биологическую активность различной направлен-

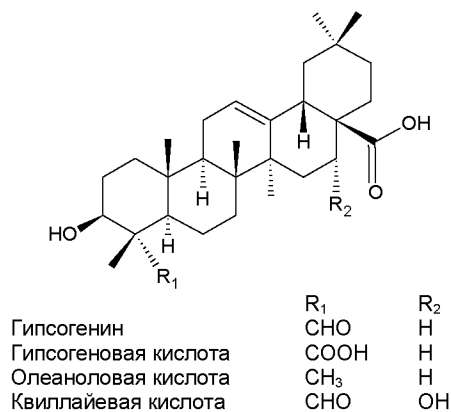


Рис. Структуры сапогенинов растений семейства Caryophyllaceae.

Fig. Structures of sapogenins of plants of the Caryophyllaceae family.

сти, в том числе седативную, противовоспалительную, отхаркивающую, противомикробную и другие [27]. Самыми известными сапонинсодержащими растениями семейства являются *Saponaria officinalis* L. (мыльнянка), *Gypsophila paniculata* (Качим метельчатый, или перекасти-поле) и *Acanthophyllum gypsophiloides* Regel (Туркестанский мыльный корень). Наличие этих веществ обуславливает применение отдельных видов семейства – *Herniaria glabra*, представителей родов *Gypsophila*, *Acanthophyllum*, *Silene* – в народной и официальной медицине. Содержание сапонинов зависит от фазы развития, части растения, сезона и может достигать 20 % сухой массы у некоторых видов. Наиболее высокое содержание этих соединений чаще всего наблюдается в корнях и семенах [28].

Благодаря наличию широкого спектра БАВ, растения семейства Caryophyllaceae обладают разнообразной биологической активностью: многие представители рода *Silene* (*S. multifida*, *S. vulgaris*, *S. csereii* subsp. *aeoniopsis*, *S. gynodioca*, *S. spargulifolia*, *S. swertiifolia*) проявляют сильную антибактериальную активность по отношению к грамположительным и грамотрицательным бактериям, в частности гемофильной палочки, синегнойной палочки и бациллы эхиноцереус [2, 12, 29], а также противогрибковую и противовирусную (*S. vulgaris*) по отношению к вирусу простого герпеса (ВПГ) и парагриппа [30]. Экстракты некоторых представителей этого рода, содержащие большое количество фенолов и флавоноидов (например, *S. swertiifolia*, *S. spargulifolia*, *S. guntensis*), проявляют высокую антиоксидантную активность [31].

Для некоторых видов растений этого семейства (*S. jensseensis* и *S. fortunei*) была установлена противоопухолевая активность [32]. Кроме того, обнаружена значительная адаптогенная и актопротекторная активность общего экдистероидного препарата из *S. viridiflora* («Сиверинол») и *S. brachiuca* («Силекбин») *in vivo* [33].

Цель настоящей работы – скрининг представителей семейства гвоздичные, относящихся к родам *Silene* и *Stellaria*, из разных местообитаний Республики Коми на содержание тритерпеновых гликозидов.

Материал и методы

Тестировали водно-спиртовые экстракты девяти видов семейства гвоздичные, относящихся к родам *Silene* и *Stellaria*, из разных местообитаний Республики Коми на содержание сапонинов методом ТСХ. Для этого предварительно обезжиренное воздушно-сухое сырье подвергали трехкратной экстракции 70 %-ным водным этанолом при комнатной температуре и постоянном перемешивании. Экстракты объединили и отфильтровали через складчатый фильтр. ТСХ-тестирование проводили на пластинах «Sorbfil» (Россия) в системах растворителей хлороформ–этанол–вода в соотношении (v/v/v) 65:24:4. Обнаруживали сапонины нагреванием обработанных 20 %-ным водным раствором серной кислоты высушенных пластин при температуре 110 °С до появления фиолетовых пятен. В качестве стандартов для идентификации использо-

вали спиростаноловый гликозид дельтонин и тритерпеновый гликозид кортузозид А, выделенный из растения *Primula matthioli* L. [34].

Результаты и обсуждение

На территории Республики Коми произрастает 83 вида гвоздичных, относящихся к 23 родам [35], большая часть из которых не исследована на содержание сапонинов. Число видов растений семейства Caryophyllaceae в локальных флорах южных районов республики колеблется от 17 до 24 и занимает пятое место среди десяти ведущих по видовому разнообразию семейств [36]. Среди них наиболее часто встречающиеся – растения видов *Stellaria* и *Silene*.

Звездчатка средняя (*Stellaria media* (L.) Vill.) – один из самых распространенных злостных сорняков на территории республики. Она произрастает повсеместно – на огородах, в посевах зерновых, посадках картофеля, на сорных местах, торфяных кучах. На Крайнем Севере часто встречается в поселениях и их окрестностях [20]. Растение находит широкое применение как в свежем виде, так и в виде настоек, экстрактов. В народной медицине коми применяют как противогрибковое, антисептическое и противовоспалительное средство [24].

Звездчатка ланцетолистная (*Stellaria holostea* L.) произрастает в травянистых хвойных, смешанных, березовых и осиновых лесах, среди кустарников, в долинах рек, на опушках, вырубках в южной и средней подзонах тайги [20]. На севере республики растет в верховьях р. Мезени, на реках Печоре, Ижме и Сыне. Растение ядовито. В народной медицине Удмуртии применяли при кашле, простуде, ломоте в суставах, а также как сердечно-сосудистое, противовоспалительное средство. Согласно автору [37], в звездчатке ланцетолистной обнаружены сапонины тритерпенового ряда. Других сведений о химическом составе не имеется.

Смолевка обыкновенная (*Silene vulgaris* (Moench) Garcke) встречается повсеместно в лесной зоне европейского Северо-Востока России. На территории Республики Коми местообитания смолевки обыкновенной были выявлены на песчаных берегах рек Сысолы и Вычегды. Чаще всего она обитает на задерненных краевых участках заливных лугов. Анализ экстрактов растения показал присутствие в нем экдистероидов, в том числе 20-гидрокси-экдизона, и наличие полипидина В как основного их компонента [38].

Смолевка татарская (*Silene tatarica* (L.) Pers.) встречается преимущественно на песчаном субстрате по всей таежной зоне – на борových террасах, прирусловом аллювии, в лишайниковых борах, на сухих лугах и залежах, гарях, вдоль транспортных магистралей. На Севере – в низовьях рек Печоры, Колвы, Усы. Благодаря содержанию экдистероидов, является перспективным растением для получения адаптогенных и тонизирующих препаратов [20]. В народной медицине коми отвары некоторых видов смолевки употребляли как общеукрепляющее средство [24].

Смолка обыкновенная (*Silene viscaria* (syn. *Steris viscaria* (L.) Rafin.)) – вид, приуроченный к юж-

ным районам республики, произрастает в бассейнах рек Сысолы и Летки. Растет на сухих злаково-разнотравных лугах, песчаной пойменной террасе, лужайках среди боровых сосняков, лесных опушках, иногда на железнодорожных насыпях. Содержит сапонины, флавоноиды, кумарины, следы алкалоидов [20]. Оказывает желчегонное, отхаркивающее действие, при длительной желтухе применяют настои, при кожных заболеваниях – наружно [39].

Как отмечено в литературе [38], многие представители рода *Silene* характеризуются высоким содержанием экдистероидов. С этой точки зрения представляют интерес и растения рода *Stellaria*, в некоторых представителях которого также обнаружены экдистероиды. О содержании сапонинов в представителях этих видов из флоры Республики Коми сведений мало. В табл.1 приведен список наиболее распространенных видов семейства Са-

Таблица 1
Список наиболее распространенных видов семейства *Caryophyllaceae* флоры Республики Коми
Table 1

List of the most common species of the Caryophyllaceae family of the Komi Republic flora

№ п/п	Род	Видовое название	Наличие сапонинов	Генин
1	<i>Cerastium</i>	<i>Cerastium alpinum</i> L. (ясколка альпийская)	Нет данных	Нет данных
2		<i>Cerastium arvense</i> L. (я. полевая)	+	?
3		<i>Cerastium davuricum</i> Fisch. ex Spreng. (я. даурская)	+	?
4		<i>Cerastium fontanum</i> subsp. <i>vulgare</i> (Hartm.) Greuter & Burdet syn. <i>Cerastium holsteoides</i> Fries (я. дернистая)	+	?
5		<i>Cerastium regelii</i> Ostenf. (я. Переля)	Нет данных	Нет данных
6		<i>Cerastium pauciflorum</i> Stev. et Ser. (я. малоцветковая)	Нет данных	Нет данных
7	<i>Dianthus</i>	<i>Dianthus deltoides</i> L. (гвоздика травянка)	+	Гипсогенин, гипсогеновая кислота
8		<i>Dianthus chinensis</i> L. (г. китайская)	+	Производное гипсогеновой кислоты
9		<i>Dianthus repens</i> Willd. (г. ползучая)	Нет данных	Нет данных
10		<i>Dianthus superbus</i> L. (г. пышная)	+	Гипсогеновая кислота
11	<i>Lychnis</i>	<i>Lychnis samojedorum</i> Perf. (зорька самоедов, з. сибирская самоедов, лихнис ненецкий, ложнозорька самоедов)	Нет данных	Нет данных
12	<i>Silene</i>	<i>Silene acaulis</i> (L.) Jacq. (смолевка бесстебельная)	+	?
13		<i>Silene amoena</i> L. (с. приятная)	+	?
14		<i>Silene dichotoma</i> Ehrh. (с. вильчатая)	+	?
15		<i>Silene flos-cuculi</i> L. (к. цвет обыкновенный)	+	Гипсогенин (?) Федергенин
16		<i>Silene graminifolia</i> Oth. (смолевка злаколистная)	+	?
17		<i>Silene involucrata</i> (Cham. & Schldt.) Bocquet. syn. <i>Gastrolychnis affinis</i> (Vahl ex Fries) Tolm. et Kozhanczikov (гастролихнис родственный, г. сходный, г. тонкий, г. узкоцветковый тоненький, дрема родственная, д. сходная, д. тонкая, д. узкоцветковая тоненькая)	Нет данных	Нет данных
18		<i>Silene latifolia</i> Poir. (дрема белая, смолевка белая)	+	Гипсогенин (?)
19		<i>Silene multiflora</i> (Ehrh.) Pers. (смолевка многоцветковая)	+	?
20		<i>Silene tatarica</i> (L.) Pers. (смолевка татарская)	Нет данных	Нет данных
21		<i>Silene uralensis</i> ssp. <i>apetala</i> (L.) Bocquet (гастролихнис безлепестный, дрема безлепестная, дремовидка безлепестная)	Нет данных	Нет данных
22		<i>Silene viscaria</i> (L.) Jess. (смолка обыкновенная, с. клейкая)	+	Гипсогенин
23		<i>Silene vulgaris</i> (Moench) Garcke (смолевка обыкновенная, хлопущка обыкновенная)	+	Гипсогенин, квиллайевая кислота
24	<i>Stellaria</i>	<i>Stellaria bungeana</i> Fenzl (звездчатка Бунге)	+	Сапонины тритерпенового ряда
25		<i>Stellaria calycantha</i> (Ledeb.) Bong. (звездчатка чашечкоцветковая)	Нет данных	Нет данных
26		<i>Stellaria crassifolia</i> Ehrh. (звездчатка толстолистная)	Нет данных	Нет данных
27		<i>Stellaria fennica</i> (Murb.) Perf. (звездчатка финская)	Нет данных	Нет данных
28		<i>Stellaria graminea</i> L. (звездчатка злаковая, з. злаковидная, з. злаколистная, з. злачная, или пьяная трава)	+	Сапонины тритерпенового ряда
29		<i>Stellaria hebecalyx</i> Fenzl (звездчатка пушисточашечная, з. пушисточашечковая)	Нет данных	Нет данных
30		<i>Stellaria holostea</i> L. (звездчатка ланцетовидная, з. лесная, з. жестколистная, з. ланцетолистная)	+	Сапонины тритерпенового ряда
31		<i>Stellaria humifusa</i> Rottb. (звездчатка приземистая)	Нет данных	Нет данных
32		<i>Stellaria longifolia</i> Muehl. ex Willd. (звездчатка длиннолистная, з. раскидистая)	Нет данных	Нет данных
33		<i>Stellaria longipes</i> Goldie	Нет данных	Нет данных
34		<i>Stellaria media</i> (L.) Vill. (звездчатка средняя)	+	Гипсогенин (?) Гидроксилированные производные олеаноловой кислоты
35		<i>Stellaria nemorum</i> L. (звездчатка дубравная)	Нет данных	Нет данных
36		<i>Stellaria palustris</i> Retz. (звездчатка болотная)	Нет данных	Нет данных
37		<i>Stellaria peduncularis</i> Bunge (звездчатка Бунге)	Нет данных	Нет данных
38		<i>Stellaria uliginosa</i> Murr. syn. <i>Stellaria alsine</i> Grimm. (звездчатка топяная)	Нет данных	Нет данных

Примечание: ? – структура соединения не определена.
Note: ? – the compound structure is not defined.

губеркулосе флоры Республики Коми, а также сведения о содержании в них сапонинов и их генинов. Эколого-географическая характеристика пунктов сбора исследуемых видов растений семейства Caryophyllaceae из флоры Республики Коми приведена в табл. 2.

ТСХ-тестирование девяти образцов растений видов *Stellaria* и *Silene* семейства гвоздичных из флоры Республики Коми показало наличие сапонинов во всех растениях. В экстрактах двух из них – *Silene flos-cuculi* и *Stellaria bungeana*, обнаружены соединения, совпадающие по коэффициенту подвижности с известными соединениями – тритерпеновым гликозидом кортузозидом А и стероидным гликозидом дельтонином.

По данным ТСХ-анализа, все экстракты содержат от двух до семи соединений тритерпеновой природы (табл. 3). Наибольшим количеством отличается экстракт *S. flos-cuculi*, в котором обнаружено семь веществ. Главными по содержанию в экстракте этого вида являются соединения с коэффициентом подвижности $R_f = 0.36$ и 0.49 . Последнее соединение также преобладает в экстракте *S. latifolia*. Для всех видов *Silene*, кроме *S. viscaria*, характерно присутствие вещества, совпадающего по коэффициенту подвижности с тритерпеновым гликозидом кортузозидом А ($R_f = 0.17$), и соединения с $R_f = 0.61$. В большинстве видов рода *Stellaria* также обнаружено соединение с $R_f = 0.61$. В экстрактах *St. holostea* и *St. palustris* присутствует компонент с R_f

Таблица 2
Эколого-географическая характеристика пунктов сбора исследуемых видов растений семейства Caryophyllaceae из флоры Республики Коми

Table 2
Ecological and geographical characteristics of the gathering points of the studied Caryophyllaceae family plants from the Komi Republic flora

№ п/п	Род	Видовое название	Место сбора, координаты	Дата сбора
1	<i>Silene</i> (смолевка)	<i>Silene viscaria</i> (L.) Jess. (смолка клейкая, с. липкая, зорька клейкая, смолевка)	73-й км трассы Сыктывкар – Ухта, правая обочина, фаза массового цветения	10.07.2020
2		<i>Silene latifolia</i> Poir. (дрема белая, смолевка белая)	Ухтинский район, левый берег р. Тобысь, 2 км вниз по течению от устья р. Ухтарка, пойменный разнотравный луг, 63° 21' 28" с.ш., 52° 54' 46" в.д., 147 м над ур.м.	2.07.2020
3		<i>Silene vulgaris</i> (Moench) Garcke (смолевка обыкновенная, хлопущка)		
4		<i>Silene flos-cuculi</i> L. (кукушкин цвет обыкновенный)		
5	<i>Stellaria</i> (звездчатка)	<i>Stellaria graminea</i> L. (звездчатка злаковая, з. злаковидная, пьяная трава)	Вуктыльский р-н, р. Торговая, 64° 09' 36.9" с.ш., 59° 23' 31.7" в.д.	27.07.2020
6		<i>Stellaria holostea</i> L. (звездчатка ланцетовидная, з. лесная, з. жестколистная, з. ланцетолистная)		
7		<i>Stellaria uliginosa</i> Murr. (звездчатка топяная)		
8		<i>Stellaria bungeana</i> Fenzl (звездчатка Бунге)		
9		<i>Stellaria palustris</i> Ehrh. ex Hoffm. (звездчатка болотная)		

Таблица 3
Результаты ТСХ-анализа образцов растений семейства Caryophyllaceae из флоры Республики Коми на содержание тритерпеновых гликозидов

Table 3
Results of TLC-analysis of the Caryophyllaceae family plants from the Komi Republic flora for the content of triterpene glycosides

№ п/п	Вид растения, стандарт	Значения коэффициентов подвижности, R_f								
1	<i>Silene viscaria</i>	–	–	–	0.37*	–	–	–	0.61	–
2	<i>Silene vulgaris</i>	0.16	–	–	–	–	–	–	0.61	0.70*
3	<i>Silene latifolia</i>	0.17	–	–	0.37	–	–	–	0.62	0.70*
4	<i>Silene flos-cuculi</i>	0.16	–	0.28	0.37	–	0.49	0.52	0.61	0.70*
5	<i>Stellaria graminea</i>	0.15	–	–	0.35	–	–	–	–	–
6	<i>Stellaria holostea</i>	0.17	–	–	–	–	–	–	0.61*	–
7	<i>Stellaria uliginosa</i>	–	–	–	0.37	–	–	–	0.61	0.70*
8	<i>Stellaria bungeana</i>	–	0.19	0.25	0.36	–	–	–	0.61*	–
9	<i>Stellaria palustris</i>	0.15	–	–	0.38	0.42	–	–	0.61	–
10	Кортузозид А	0.17								
11	Дельтонин			0.26						

Примечание: * – компонент обнаружен в следовых количествах; прочерк – вещество не обнаружено; жирным шрифтом выделены вещества с наиболее интенсивным окрашиванием (мажорные компоненты).
Note: * – the component was found in trace amounts; dash – the substance was not found; substances with the most intense staining (major components) are given in bold.

=0.17 (кортузозид А). В *St. holostea* в качестве основного компонента обнаружено соединение с $R_f = 0.25$, с совпадающим со стероидным гликозидом дельтонином. Это же соединение присутствует в экстракте *S. flos-cuculi*.

Закключение

Перспективность исследований растений семейства Гвоздичные (Caryophyllaceae Juss.) не вызывает сомнений. Широкое распространение гвоздичных в природе, в том числе и во флоре Республики Коми, доступность, информация о многообразном применении их в народной медицине, а также результаты современных исследований, показавших, что многие представители этого семейства являются источниками тритерпеновых сапонинов, экистероидов, алкалоидов, флавоноидов и др. БАВ, которые проявляют высокую биологическую активность различной направленности, в том числе противовоспалительную, противомикробную, антифунгальную, и обладают адаптогенными, иммуномодулирующими, противоопухолевыми, тонизирующими свойствами.

Тестирование методом ТСХ экстрактов девяти видов растений семейства Гвоздичные (Caryophyllaceae Juss.) флоры Республики Коми на наличие сапонинов: *Silene vulgaris* (Moench) Garcke, *Silene latifolia* Poir., *Silene flos-cuculi* L., *Silene viscaria* (L.) Jess., *Stellaria graminea* L., *Stellaria holostea* L., *Stellaria uliginosa* Murr., *Stellaria bungeana* Fenzl и *Stellaria palustris* Ehrh. ex Hoffm., показало присутствие во всех видах от двух до семи соединений тритерпеновой природы, причем в растениях *S. uliginosa* и *S. palustris* сапонины идентифицированы впервые. В экстрактах двух растений – *Silene flos-cuculi* и *Stellaria bungeana*, обнаружены соединения, совпадающие по коэффициенту подвижности как с тритерпеновым гликозидом кортузозидом А, так и со стероидным гликозидом дельтонином.

Авторы благодарят к.б.н., научного сотрудника Отдела флоры и растительности Севера В.А. Канева за предоставление дикорастущих образцов растений семейства Гвоздичные.

Работа выполнена в рамках темы госзадания: «Разработка биокаталитических систем на основе ферментов, микроорганизмов и растительных клеток, их иммобилизованных форм и ассоциаций для переработки растительного сырья, получения биологически активных веществ, биотоплива, ремедиации загрязненных почв и очистки сточных вод», № госрегистрации АААА-А17-117121270025-1.

Литература

1. Cañm The Plant List. A working list of all plant species. www.theplantlist.org
2. Mamadalieva N.Z., Lafont R., Wink M. Diversity of secondary metabolites in the genus *Silene* L. (Caryophyllaceae) – structures, distribution, and biological properties // Diversity. 2014. Vol. 6. № 3. P. 415–499. <https://doi.org/10.3390/d6030415>.
3. Greuter W. *Silene* (Caryophyllaceae) in Greece: a subgeneric and sectional classification // Taxon. 1995. Vol. 44. № 4. P. 543–581. <https://doi.org/10.2307/1223499>.
4. Жизнь растений. Т. 5. Ч. 1. Цветковые растения. М.: Просвещение, 1980. 430 с.
5. Попов А.П. Лекарственные растения в народной медицине. Киев, 1970. 314 с.
6. Сафонов Н.Н. Полный атлас лекарственных растений. М., 2005. 312 с.
7. Большой энциклопедический словарь лекарственных растений. СПб., 2015. 759 с.
8. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Magnoliaceae – Limoniaceae. Л., 1984. Т. 1. 460 с.
9. Губанов И.А., Крылова И.Л., Тихонова В.Л. Дикорастущие полезные растения СССР. М., 1976. 360 с.
10. Böttger S., Melzig M.F. Triterpenoid saponins of the Caryophyllaceae and Illecebraceae family // Phytochem. Lett. 2011. Vol. 4. № 2: P. 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2010.08.003>.
11. The origin and number of introductions of the Hawaiian endemic *Silene* species (Caryophyllaceae) / F. Eggens, M. Popp, M. Nepokroeff, W.L. Wagner, B. Oxelman // Am. J. Bot. 2007. Vol. 94. № 2. P. 210–218. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.2.210>.
12. Antimicrobial properties of *Silene multifida* (Adams) Rohrb. plant extract / O. Erturk, H. Kati, N. Yayli, Z. Demirbag // Turk. J. Biol. 2006. Vol. 30. P. 17–21.
13. Darmograi V. Flavonoids of plants of the genera *Silene* and *Otites* adans, family Caryophyllaceae // Chem. Nat. Compd. 1977. Vol. 13. P. 102–103.
14. Dötterl S., Wolfe L.M., Jürgens A. Qualitative and quantitative analyses of flower scent in *Silene latifolia* // Phytochem. 2005. Vol. 66. № 2. P. 203–213. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.12.002>.
15. Chemical composition of *Silene viridiflora* / N.E. Eshmirzaeva, N.K. Khidyrova, M. Khodzhaeva, L.G. Mezhlumyan, K.M. Shakhdiyaytov // Chem. Nat. Compd. 2005. Vol. 41. № 4. P. 451–453. <https://doi.org/10.1007/s10600-005-0175-y>.
16. Обследование растений флоры Северо-Запада РСФСР на содержание флавоноидов, кумаринов, проазуленов и др. физиологически активных веществ / Б.А. Шухободский, Л.П. Маркова, Л.В. Кузьмина, Л.А. Бакина, В.В. Алексеев, А.А. Щелокова, Г.Н. Юрашевская, Т.И. Мартинсон, С.Я. Тюлин // Биология растений – источников фенольных соединений и алкалоидов. Л., 1972. С. 117–135.
17. Дерябина Ф.И. Материалы по изучению народной медицины Коми-Пермяцкого национального округа // Науч. тр. Перм. фармацевт. ин-та. Пермь, 1969. Вып. 3. С. 193–200.
18. Hartwell J.L. Plants used against cancer. A survey // Lloydia. 1968. Vol. 31. № 2. P. 71–170.
19. Дикорастущие полезные растения России. 2001. СПб., 663 с.

20. Растения-продуценты важнейших классов биологически активных веществ / В.В. Володин, Б.И. Груздев, В.А. Мартыненко, В.А. Канев. Сыктывкар, 2014. 206 с.
21. Никитин В.В. Сорные растения флоры СССР. Л.: Наука, 1983. 454 с.
22. Клаассен Х., Фрайтаг Й. Сорные растения, распространение и вредоносность. Определение видов / Перевод с немец. Мюнстер, 2004. 260 с.
23. Кормовая характеристика растений Крайнего Севера / В.Д. Александрова, В.Н. Андреев, Т.В. Вахтина, Р.А. Дыдина, Г.И. Карев, В.В. Петровский, В.Ф. Шамурин // Растительность Крайнего Севера СССР и ее освоение. Вып. 5. М.; Л., 1964. 484 с.
24. Ильина И.В. Народная медицина коми. Сыктывкар, 1997. 120 с.
25. Garai S. Triterpenoid saponins // Nat. Prod. Chem. Res. 2014. Vol. 2. № 6. P. 1–13. <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000148>.
26. Даников Н.И. Целебные ядовитые растения. М.: Риполл Классик, 2005. 512 с.
27. The biological action of saponins in animal systems: a review / G. Francis Z., Kerem, H.P.S. Makkar, K. Becker // Brit. J. Nutr. 2002. Vol. 88. № 6. P. 587–605. <https://doi.org/10.1079/BJN2002725>.
28. Henry M., Rochd M., Bennini B. Biosynthesis and accumulation of saponins in *Gypsophila paniculata* // Phytochem. 1991. Vol. 30. № 6. P. 1819–1821. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)85020-Z](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)85020-Z).
29. Karamian R., Ghasemlou F. Screening of total phenol and flavonoid content, antioxidant and antibacterial activities of the methanolic extracts of three *Silene* species from Iran // Int. J. Agric. Crop Sci. 2013. Vol. 5. № 3. P. 305–312.
30. Orhan I., Deliorman-Orhan D., Özçelik B. Antiviral activity and cytotoxicity of the lipophilic extracts of various edible plants and their fatty acids // Food Chem. 2009. Vol. 115. № 2. P. 701–705. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.024>.
31. Phytoecdysteroids of *Silene guntensis* and their in vitro cytotoxic and antioxidant activity / N.Z. Mamadalieva, M.Z. El-Readi, A.A. Janibekov, A. Tahrani, M. Wink // Z. Naturforschung. 2011. Vol. 66. №. 5–6. P. 215–224.
32. Saponins-mediated potentiation of Cisplatin accumulation and cytotoxicity in human colon cancer cells / G. Gaidi, M. Correia, B. Chaffert, J.-L. Beltramo, H. Wagner, M.-A. Lacaille-Dubois // Planta Med. 2002. Vol. 68. № 1. P. 70–72. <https://doi.org/10.1055/s-2002-19873>.
33. Джахангирова М.А. Фармакологическое исследование суммарных экидистероидсодержащих препаратов из *Silene brahuica*, *Silene viridiflora* и *Ajuga turkestanica* в качестве актопротекторных средств: Автореф. дис... канд. фарм. наук. Ташкент, 2007. 25 с.
34. Тритерпеновый гликозид из растения *Cortusa matthioli* L. / И.В. Беислей, Т.И. Ширшова, В.В. Володин, К.Г. Уфимцев, Н.Г. Колотыркина, И.Н. Алексеев, С.А. Патов // Хим. раст. сырья. 2019. № 4. С. 243–248.
35. Флора северо-востока европейской части СССР. Т. 2. Семейства Суреевые – Caryophyllaceae. Л.: Наука, 1976. 316 с.
36. Мартыненко В.А., Груздев Б.И., Канев В.А. Локальные флоры таежной зоны Республики Коми. Сыктывкар, 2008. 76 с.
37. Баранова О.Г. Местная флора Удмуртии. Ижевск, 2002. 199 с.
38. Фитоекдистероиды / Под. ред. В.В. Володиной. СПб.: Наука, 2003. 293 с.
39. Махлаюк В.П. Лекарственные растения в народной медицине. М., 1992. 477 с.

References

1. The Plant List. A working list of all plant species. www.theplantlist.org
2. Mamadalieva N.Z., Lafont R., Wink M. Diversity of secondary metabolites in the genus *Silene* L. (Caryophyllaceae) — structures, distribution, and biological properties // Diversity. 2014. Vol. 6. № 3. P. 415–499. <https://doi.org/10.3390/d6030415>.
3. Greuter W. *Silene* (Caryophyllaceae) in Greece: a subgeneric and sectional classification // Taxon. 1995. Vol. 44. № 4. P. 543–581. <https://doi.org/10.2307/1223499>.
4. Zhizn' rastenij. Tsvetkovye rasteniya [Plant life. Flowering plants]. Vol. 5. Part 1. Moscow: Prosveschenie, 1980. 430 p.
5. Popov A.P. Lekarstvennye rasteniya v narodnoj medicine [Medicinal plants in traditional medicine]. Kiev, 1970. 314 p.
6. Safonov N.N. Polnyj atlas lekarstvennyh rastenij [Complete atlas of medicinal plants]. Moscow. 2005. 312 p.
7. Bol'shoj enciklopedicheskij slovar' lekarstvennyh rastenij [Large encyclopedic dictionary of medicinal plants]. St. Petersburg. 2015. 759 p.
8. Rastitel'nye resursy SSSR: Tsvetkovye rasteniya, ih Himicheskij sostav, ispol'zovanie; Semejstva Magnoliaceae - Limoniaceae [Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition, use; Family Magnoliaceae - Limoniaceae]. Leningrad. 1984. Vol. 1. 460 p.
9. Gubanov I.A., Krylova I.L., Tikhonova V.L. Dikorastushchie poleznye rasteniya SSSR [Wild-growing useful plants of the USSR]. Moscow. 1976. 360 p.
10. Böttger S., Melzig M.F. Triterpenoid saponins of the Caryophyllaceae and Illecebraceae family // Phytochem. Lett. 2011. Vol. 4. № 2. P. 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2010.08.003>.
11. The origin and number of introductions of the Hawaiian endemic *Silene* species (Caryophyllaceae) / F. Eggen, M. Popp, M. Nepokroeff, W.L. Wagner, B. Oxelman // Am. J. Bot.

2007. Vol. 94. № 2. P. 210–218. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.2.210>.
12. Antimicrobial properties of *Silene multifida* (Adams) Rohrb. plant extract / O. Erturk, H. Kati, N. Yayli, Z. Demirbag // Turk. J. Biol. 2006. Vol. 30. P. 17–21.
13. Darmograi V. Flavonoids of plants of the genera *Silene* and *Otites* adans, family Caryophyllaceae // Chem. Nat. Compd. 1977. Vol. 13. P. 102–103.
14. Dötterl S., Wolfe L.M., Jürgens A. Qualitative and quantitative analyses of flower scent in *Silene latifolia* // Phytochem. 2005. Vol. 66. № 2. P. 203–213. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.12.002>.
15. Chemical composition of *Silene viridiflora* / N.E. Eshmirzaeva, N.K. Khidyrova, M. Khodzhaeva, L.G. Mezhlumyan, K.M. Shakhdiyotov // Chem. Nat. Compd. 2005. Vol. 41. № 4. P. 451–453. <https://doi.org/10.1007/s10600-005-0175-y>.
16. Obsledovanie rastenij flory Severo-Zapada RSFSR na sodержanie flavonoidov, kumarinov, proazulenov i dr. fiziologicheskii aktivnykh veshchestv [Examination of plants of the flora of the North-West of the RSFSR for the content of flavonoids, coumarins, proazulens, and other physiologically active substances] / B.A. Shukhobodsky, L.P. Markova, L.V. Kuzmina, L.A. Bakina, V.V. Alekseev, A.A. Shchelokova, G.N. Yurashevskaya, T.I. Martinson, S.Ya. Tyulin // Biologiya rastenij – istochnikov fenol'nykh soedinenij i alkaloidov [Biology of plants – sources of phenolic compounds and alkaloids]. Leningrad, 1972. P. 117–135.
17. Deryabina F.I. Materialy po izucheniyu narodnoj mediciny Komi-Permyatskogo nacional'nogo okruga [Materials on the study of traditional medicine of the Komi-Permian National Okrug] // Nauchnye trudy Permskogo farmaceuticheskogo instituta [Sci. works of the Perm Pharmaceutical Institute]. Perm, 1969. Issue 3. P. 193–200.
18. Hartwell J.L. Plants used against cancer. A survey // Lloydia. 1968. Vol. 31. № 2. P. 71–170.
19. Dikorastushhie poleznye rasteniya Rossii [Wild-growing useful plants of Russia]. 2001. St.Petersburg. 663 p.
20. Rasteniya-producenty vazhnejshih klassov biologicheskii aktivnykh veshchestv [Plants-producers of the most important classes of biologically active substances] / V.V. Volodin, B.I. Gruzdev, V.A. Martynenko, V.A. Kanev. Syktывkar, 2014. 206 p.
21. Nikitin V.V. Sornye rasteniya flory SSSR [Weed plants of the flora of the USSR]. Leningrad: Nauka, 1983. 454 p.
22. Klaassen Kh., Frajtag J. Sornye rasteniya, rasprostranenie i vredonosnost'. Opredelenie vidov [Weed plants, distribution and harmfulness. Definition of species] / Transl. from Germ. Mьnster, 2004. 260 p.
23. Kormovaya harakteristika rastenij Krajnego Severa [Forage characteristics of plants of the Far North] / V.D. Aleksandrova, V.N. Andreev, T.V. Vakhtina, R.A. Dydina, G.I. Karev, V.V. Petrovsky, V.F. Shamurin // Rastitelnost' Krajnego Severa SSSR i ee osvoenie [Vegetation of the Far North of the USSR and its development]. Issue 5. Moscow; Leningrad, 1964. 484 p.
24. Ilyina I.V. Narodnaya medicina komi [Traditional medicine of Komi]. Syktывkar, 1997. 120 p.
25. Garai S. Triterpenoid saponins // Nat. Prod. Chem. Res. 2014. Vol. 2. № 6. P. 1–13. <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000148>.
26. Danikov N.I. Celebnye yadovitye rasteniya [Healing poisonous plants]. Moscow: Ripoll Klassik, 2005. 512 p.
27. The biological action of saponins in animal systems: a review / G. Francis Z., Kerem, H.P.S. Makkar, K. Becker // Brit. J. Nutr. 2002. Vol. 88. № 6. P. 587–605. <https://doi.org/10.1079/BJN2002725>.
28. Henry M., Rochd M., Bennini B. Biosynthesis and accumulation of saponins in *Gypsophila paniculata*. – Phytochem. 1991. Vol. 30. № 6. P. 1819–1821. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)85020-Z](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)85020-Z).
29. Karamian R., Ghasemlou F. Screening of total phenol and flavonoid content, antioxidant and antibacterial activities of the methanolic extracts of three *Silene* species from Iran // Int. J. Agric. Crop Sci. 2013. Vol. 5. № 3. P. 305–312.
30. Orhan I., Deliorman-Orhan D., Özçelik B. Antiviral activity and cytotoxicity of the lipophilic extracts of various edible plants and their fatty acids // Food Chem. 2009. Vol. 115. № 2. P. 701–705. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.024>.
31. Phytoecdysteroids of *Silene guntensis* and their in vitro cyto-toxic and antioxidant activity / N.Z. Mamadalieva, M.Z. El-Readi, A.A. Janibekov, A. Tahrani, M. Wink // Z. Naturforschung. 2011. Vol. 66. №. 5–6. P. 215–224.
32. Saponins-mediated potentiation of Cisplatin accumulation and cytotoxicity in human colon cancer cells / G. Gaidi, M. Correia, B. Chauffert, J.-L. Beltramo, H. Wagner, M.-A. Lacaille-Dubois // Planta Med. 2002. Vol. 68. № 1. P. 70–72. <https://doi.org/10.1055/s-2002-19873>.
33. Dzhakhangirova M.A. Farmakologicheskoe issledovanie summarnykh ekdisteroidsoderzhashchih preparatov iz *Silene brahuica*, *Silene viridiflora* i *Ajuga turkestanica* v kachestve aktoprotekturnykh sredstv [The pharmacologic investigation of the sum ecdysteroid-containing preparations obtained from *Silene brahuica*, *Silene viridiflora* and *Ajuga turkestanica* plants as actoprotector means]: Abstract of diss... Cand. Sci. (Pharmacol.). Tashkent, 2007. 25 p.
34. Triterpenovyj glikozid iz rasteniya *Cortusa matthioli* L. [Triterpene glycoside from the plant of *Cortusa matthioli* L.]/ I.V. Beshley, T.I. Shirshova, V.V. Volodin, K.G. Ufimtsev,

- N.G. Kolotyrkina, I.N. Alekseev, S.A. Patov* // *Khimiya rastitelnogo syrya* [chemistry of plant raw materials]. 2019. № 4. P. 243–248.
35. *Flora severo-vostoka evropejskoj chasti SSSR* Caryophyllaceae [Flora of the north-east of the European part of the USSR]. Vol 2. Semejstva Cyperaceae [Cyperaceae – Caryophyllaceae families]. Leningrad: Nauka, 1976. 316 p.
36. *Martynenko V.A., Gruzdev B.I., Kanev V.A.* Lokalnye flory taezhnoj zony Respubliki Komi [Local floras of the taiga zone of the Komi Republic]. Syktyvkar, 2008. 76 p.
37. *Baranova O.G.* Mestnaya flora Udmurtii [Local flora of Udmurtia]. Izhevsk, 2002. 199 p.
38. Fitoekdistteroidy [*Phytoecdysteroids*] / Ed. V.V. Volodin. St.Petersburg: Nauka, 2003. 293 p.
39. *Makhlayuk V.P.* Lekarstvennye rasteniya v narodnoj medicine [Medicinal plants in traditional medicine]. Moscow, 1992. 477 p.

Статья поступила в редакцию 26.10.2021.

УДК 631.147:502.55

DOI 10.19110/1994-5655-2021-5-88-91

Л.В. ПИЛИП*, Н.В. СЫРЧИНА,
Т.Я. АШИХМИНА*****

ПРОМЫШЛЕННЫЕ СВИНОКОМПЛЕКСЫ КАК ИСТОЧНИКИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

**Вятский государственный
агротехнологический университет,
г. Киров*

***Вятский государственный университет,
г. Киров*

****Институт биологии
ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
г. Сыктывкар*

*pilip_larisa@mail.ru,
nvms1956@mail.ru*

L.V. PILIP*, N.V. SYRCHINA,
T.YA. ASHIKHMINA*****

INDUSTRIAL PIG FARMS AS SOURCES OF ENVIRONMENTAL POLLUTION WITH HEAVY METALS

**Vyatka State Agrotechnological University,
Kirov*

***Vyatka State University,
Kirov*

****Institute of Biology, Federal Research Centre
Komi Science Centre, Ural Branch, RAS,
Syktuykar*

Аннотация

В статье представлены результаты исследований содержания тяжелых металлов в почвах, источником которых являются свиные навозные стоки – отходы промышленных свинокомплексов. Длительное внесение в почвы навозных стоков, содержащих значительное количество цинка и меди, а также малогумусированных органических соединений, может привести к деградации агроземов. Источником поступления в навозные стоки тяжелых металлов (Cu и Zn) являются минеральные добавки для животных. Наиболее выражен эффект накопления у меди как в отношении подвижной, так и валовой форм. Для предотвращения деградации почв, находящихся в районах размещения свинокомплексов, необходима разработка системы нормирования внесения навозных стоков в агроземы с учетом содержания в них тяжелых металлов.

Ключевые слова:

навозные стоки свиноферм, микроэлементы, тяжелые металлы, загрязнение почв

Abstract

The paper presents the results of studies of the content of heavy metals in soils, the source of which is pig manure runoff - waste from industrial pig farms. Prolonged introduction of manure effluents into the soil containing a significant amount of zinc and copper, as well as low-concentration organic compounds, can lead to degradation of agrozeams. The source of heavy metals (Cu and Zn) entering the manure drains are mineral additives for animals. The accumulation effect of copper is most pronounced in both mobile and gross forms. To prevent the degradation of soils in the areas where pig farms are located, it is necessary to develop a system for rationing the introduction of manure effluents into agrozeams, taking into account the content of heavy metals in them.

Keywords:

pig farm manure effluents, trace elements, heavy metals, soil pollution

Введение

Увеличение нагрузки на окружающую среду за счет интенсификации производства сельскохозяйственной продукции на предприятиях агропромышленного комплекса является актуальной проблемой [1–3]. Особую экологическую опасность представляет основной отход промышленного свиноводства – навозные стоки (НС), расчетный объем которых в РФ в 2020 г. составил около 800 млн. т. В РФ указом Президента утверждена стратегия научно-технологического развития (в редакции от 15.03.

2021 № 143), в которой обозначены приоритетные направления, среди прочих прописан «переход к высокопродуктивному и экологически чистому агро- и аквахозяйству, разработка и внедрение систем рационального применения средств химической и биологической защиты сельскохозяйственных растений и животных, хранение и эффективная переработка сельскохозяйственной продукции, создание безопасных и качественных, в том числе функциональных, продуктов питания» (<http://kremlin.ru>). Программа ускоренного импортозамещения 2015–2020 гг. была сориентирована на прирост производства продуктов животноводства за счет ввода в эксплуатацию новых промышленных производств и успешно реализована. Производство продуктов животноводства в РФ (скот и птица на убой в живом весе) за 5 лет возросло на 16,6 %, причем в первую очередь за счет развития отраслей свиноводства и птицеводства. Отмечено увеличение показателей на 38,5 и 11,2 % соответственно в данных отраслях (<https://rosstat.gov.ru/folder/11188>). В свиноводстве были реализованы проекты дополнительной мощностью на 1 млн. т в живом весе, а в 2020 г. по сравнению с предыдущим годом производство свинины выросло на 350 тыс. т (+9 %). В период с 2010 по 2019 г. было введено в эксплуатацию и реконструировано 298 объектов, а доля животных выросла до 55 %, с прогнозом увеличения к 2025 г. до 70 % (<https://www.agroinvestor.ru/rating/article/35762>). Однако перечисленные успехи привели к образованию больших объемов отходов животноводческих комплексов. Согласно справочнику ФККО, навоз животных и помет птиц относятся к отходам III, IV и V классов опасности. Наибольшую опасность представляют свежий бесподстильный навоз свиней, навозные стоки (НС) и помет птиц. Основным методом утилизации данных отходов является внесение их в почву близлежащих к комплексам сельскохозяйственных угодий. В состав стандартных минеральных добавок, используемых в свиноводстве, входят соединения Fe, Zn, Cu, Mn, Se, Co, I [4,5], при этом содержание и соотношение отдельных микроэлементов в различных добавках изменяются в широких пределах и зависят от пола, возраста, назначения животных, состава используемых кормов, условий содержания и технологии откорма [6]. В составе НС в почву поступают тяжелые металлы (ТМ) совместно с широким спектром разнообразных малогумусированных органических компонентов (аминокислоты, амины, индолы, фенолы), что приводит к образованию хорошо растворимых комплексов. Естественные процессы, приводящие к связыванию ТМ в почвах, нарушаются, а миграционная способность экотоксикантов увеличивается.

Цель исследований – изучение влияния навозных стоков на содержание тяжелых элементов в почвах вблизи крупных свинокомплексов для выявления проблемных мест в утилизации данного вида отходов.

Материалы и методы

Пробы почвы (экспериментальные образцы) для проведения исследований отбирали в сентябре 2020 г. на пахотном поле, в которое на протяжении

5 лет в качестве жидкого органического удобрения (ЖОУ) вносились обезвреженные НС. Обезвреживание проводилось путем сепарации на жидкую и твердую фракции и последующего длительного выдерживания (на протяжении 6 месяцев) жидкой фракции в открытых лагунах. Твердая фракция после вылеживания на твердых забетонированных площадках также вносилась в почву в виде твердого органического удобрения. Нормы внесения НС рассчитывались в соответствии с рекомендациями агрохимической службы свиноводческого комплекса. Контрольные образцы почв отбирали на покрытом кустарником участке, расположенном в 150 м от границ пахотного поля. Механический состав почв определяли полевым методом. Согласно результатам, по механическому составу почвы соответствовали средним суглинкам.

Отбор точечных проб проводили на глубину пахотного слоя, согласно ГОСТ Р 58595-2019. Для отбора проб использовали ручной почвенный бур. Отбор проб почвы с контрольных участков производили также ручным буром на такую же глубину. Из точечных проб составляли объединенные пробы массой 500 г. Анализ проб выполняли через 7 суток после отбора. Пробы анализировали по следующим показателям: pH_{H_2O} , pH_{KCl} , содержание органического вещества, содержание Zn, Cu, Pb, Cd. Используемые методы анализа представлены в таблице.

Результаты и обсуждение

Коэффициент усвоения микроэлементов из корма никогда не достигает 100 %. Неусвоенные из кормов микроэлементы попадают с НС в почву, оказывая существенное влияние на баланс и состояние ТМ в окружающей среде. Ситуация усугубляется тем, что практически все НС поступают в почву, расположенные в непосредственной близости от свиноферм, таким образом возникает эффект их концентрирования. С учетом того, что содержание Cu в НС в среднем достигает 20 мг/кг, а Zn – 55 мг/кг [7, 8], ежегодное поступление этих элементов в окружающую среду от свинокомплекса на 108 тыс. голов составит до 8 и 22 т соответственно. При этом вынос Cu с урожаем зерновых находится в пределах 7–20 г/га, вынос Zn – 50–80 г/га. Таким образом для безопасной утилизации 8 т Cu потребуется по крайней мере 400 тыс. га пашни. Содержание ТМ в исследуемых образцах представлено в таблице.

Zn и Cu входят в состав минеральных подкормок для животных. Pb и Cd не относятся к числу биогенных и в состав подкормок не включаются, но присутствуют в НС как загрязняющий компонент кормов. Кислотность и содержание в почвах органического вещества оценивали в связи с тем, что соответствующие показатели могут оказать непосредственное влияние на подвижность ТМ в почвах и последующую эколого-токсикологическую оценку.

Исследуемые экспериментальные образцы почвы характеризуются как сильногумусированные, слабокислые. Внесение НС приводит к аккумуляции в почвах таких элементов, как Cu и Zn, включаемых в состав минеральных добавок для животных. Наиболее выражен эффект накопления у Cu как в от-

Содержание тяжелых металлов в отобранных образцах почвы
The content of heavy metals in the selected soil samples

Показатели	Метод анализа	Экспериментальные образцы		Контрольные образцы	
		Валовая форма	Подвижная форма	Валовая форма	Подвижная форма
Zn, мг/кг	ФР.1.31.2018.31189	53,85±17,77	3,21±1,07	46,13±15,22	2,88±0,96
Cu, мг/кг	ФР.1.31.2018.31189	20,68±4,76	2,93±0,66	12,03±3,01	1,21±0,30
Cd, мг/кг	ФР.1.31.2018.31189	0,23±0,07	0,08±0,03	0,21±0,06	0,07±0,03
Pb, мг/кг	ФР.1.31.2018.31189	7,79±1,95	0,81±0,20	5,30±1,32	0,54±0,13
pH _{H2O} , ед. pH	ГОСТ 26423-85	6,2±0,1		6,7±0,1	
pH _{KCl} , ед. pH	ГОСТ 26483-85	5,4±0,1		6,2±0,1	
Органическое вещество, %	ГОСТ 26213-91 (метод Тюрина в модификации ЦИНАО)	2,7±0,4		1,6±0,3	

ношении подвижной, так и валовой форм. Следует отметить, что прослеживается некоторая тенденция к накоплению в агроземах Cd и Pb. Контрольные образцы относятся к нейтральным почвам с низкой степенью гумусированности и характеризуются значительно меньшим содержанием ТМ.

Закключение

Систематическое внесение завышенных объемов НС приводит к существенному накоплению в агроземах ТМ. Вероятными источниками поступления ТМ в почву сельскохозяйственных угодий являются сбалансированные по микроэлементам премиксы для животных. Длительное внесение в почвы НС, содержащих значительное количество ТМ и малогумусированных органических соединений, может привести к деградации агроземов, используемых для утилизации отходов свиноводства.

Площадь пахотных земель свинокомплексов должна быть достаточной для внесения всей массы органических удобрений, без причинения вреда окружающей среде. Нормы внесения НС в качестве органических удобрений следует рассчитывать с учетом количества содержащихся в них тяжелых металлов.

Загрязнение окружающей среды отходами животноводческих и птицеводческих комплексов происходит из-за несовершенства применяемых технологий и технических средств. Навоз животных/помет птиц относятся к экономически значимым отходам, переработка которых необходима и целесообразна как с экологической, так и экономической позиций.

Литература

1. Пилип Л.В., Сырчина Н.В. Экологическая проблема отрасли свиноводства // Материалы XIV Международной научно-практической конференции «Аграрная наука – сельскому хозяйству». Барнаул, 2019. С. 193–196.
2. Пилип Л.В., Сырчина Н.В. Новые подходы к дезодорации свиного навоза // Иппология и ветеринария. 2018. № 4 (30). С. 99–106.
3. Снижение эмиссии запахообразующих веществ в условиях промышленных свиноводческих предприятий / Ю.Н. Терентьев, Н.В. Сырчина, Т.Я. Ашихмина, Л.В. Пилип // Теоретическая и прикладная экология. 2019. № 2. С. 113–120.

4. Использование различных форм микроэлементов в кормлении молодняка свиней / М.Г. Чабеев, Р.В. Некрасов, Н.И. Анисова, В.П. Надеев, А.А. Зорикова // Достижения науки и техники АПК. 2013. № 3. С. 29–30.
5. Влияние свиного навоза на агроэкологическую характеристику светло-серой лесной почвы / В.И. Титова, Л.Д. Варламова, Р.Н. Рыбин, Т.В. Андропова // Пермский аграрный вестник. 2019. № 3 (27). С. 79–86.
6. Информационно-технический справочник по наилучшим доступным технологиям (ИТС 41-2017 – Интенсивное разведение свиней) [Электронный ресурс]. URL: <http://docs.cntd.ru/document/556173711> (дата обращения 15 октября 2021 г.).
7. Крисанов Д.П., Петин А.Н. Сельскохозяйственные отходы и их дальнейшее использование с целью улучшения физико-химического состава почв на примере предприятий Красноярского района Белгородской области // Материалы III Международн. науч. экологической конф. «Проблемы рекультивации отходов быта, промышленного и сельскохозяйственного производства». Краснодар, 2013. С. 126–131.
8. Селюкова С.В. Тяжелые металлы в органических удобрениях // Агрохимический вестник. 2016. № 5. С. 47–51.

References

1. Pilip L.V., Syrchina N.V. Ekologicheskaya problema otrasli svinovodstva [Ecological problem of pig breeding industry] // Materials of the XIV Intern. Sci. Pract. Conf. "Agrarian science to agriculture". Barnaul, 2019. P. 193–196.
2. Pilip L.V., Syrchina N.V. Novye podkhody k dezodoratsii svinogo navoza [New approaches to deodorization of pig manure] // Hippology and veterinary medicine. 2018. No. 4 (30). P. 99–106.
3. Snizhenie emissii zapakhoobrazuyushchikh veshchestv v usloviyakh promyshlennykh svinovodcheskikh predpriyatiy [Reducing the emission of odorforming substances in the conditions of industrial pig-breeding enterprises] / Yu.N. Terentyev, N.V. Syrchina, T.Ya. Ashikhmina, L.V. Pilip // Theoretical and applied ecology. 2019. No. 2. P. 113–120.
4. Ispolzovanie razlichnykh form mikroelementov v kormlenii molodnyaka sviney [The use of var-

- ious forms of trace elements in feeding young pigs] / *M.G. Chabaev, R.V. Nekrasov, N.I. Anisova, V.P. Nadeev, A.A. Zorikova* // Achievements of science and technology of the agro-industrial complex. 2013. No. 3. P. 29–30.
5. Influence of pig manure on agroecological characteristics of light gray forest soil / *V.I. Titova, L.D. Varlamova, R.N. Rybin, T.V. Andronova* // Perm Agrarian Bull. 2019. No. 3 (27). P. 79–86.
 6. Informatsionno-tekhnichestkiy spravochnik po nailuchshim dostupnym tekhnologiyam (ITS 41-2017 – Intensivnoe razvedenie sviney) [Information and Technical Handbook on the best available technologies (ITS 41-2017 - Intensive pig breeding)]. URL: <http://docs.cntd.ru/document/556173711> (accessed October 15, 2021).
 7. *Krisanov D.P., Petin A.N.* Selskokhozyaystvennye otkhody i ikh dalneyshee ispolzovanie s tselyu uluchsheniya fiziko-khimicheskogo sostava pochv na primere predpriyatiy Krasnoyarskogo rayona Belgorodskoy oblasti [Agricultural waste and their further use in order to improve the physico-chemical composition of soils on the example of enterprises of the Krasnoyarsk district of the Belgorod region] // Proc. of the III Intern. Sci. Ecological Conf. “Problems of recultivation of household waste, industrial and agricultural production”. Krasnodar, 2013. P. 126–131.
 8. *Selyukova S.V.* Tyazhelye metally v organicheskikh udobreniyakh [Heavy metals in organic fertilizers] // Agrochemical Bull. 2016. No. 5. P. 47–51.

Статья поступила в редакцию 28.10.2021.

УДК 631. 81
DOI 10.19110/1994-5655-2021-5-92-96

Н.В. СЫРЧИНА*, Т.Я. АШИХМИНА*,,
Г.Я. КАНТОР*,**, С.Г. СКУГОРЕВА****

**ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
ГЛАУКОНИТСОДЕРЖАЩИХ ХВОСТОВ
ОБОГАЩЕНИЯ ФОСФОРИТОВ
ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ПОДВИЖНОСТИ
НИКЕЛЯ В ПОЧВАХ**

**Вятский государственный университет,
г. Киров*

***Институт биологии ФИЦ
Коми НЦ УрО РАН,
г. Сыктывкар*

*nvms1956@mail.ru,
usr08619@vyatsu.ru,
grigory_kantor@mail.ru,
skugoreva@mail.ru*

N.B. SYRCHINA*, T.YA. ASHIKHMINA*,,
G.YA. KANTOR*,**, S.G. SKUGOREVA****

**PROSPECTS FOR USING
GLAUCONITE-CONTAINING TAILS AFTER
ENRICHMENT OF PHOSPHORITES
TO REDUCE NICKEL MOBILITY IN SOILS**

**Vyatka State University,
Kirov*

***Institute of Biology, Federal Research Centre
Komi Science Centre, Ural Branch, RAS,
Syktyvkar*

Аннотация

Глауконитсодержащие хвосты обогащения фосфоритов (ХО) и удобрения на их основе могут найти применение в качестве натуральных экологически безопасных мелиорантов для загрязненных никелем почв. Преимуществом ХО, по сравнению с известковыми материалами, является наличие в составе К, Р, S, комплекса микроэлементов. Внесение ХО приводит к обогащению почвы не только элементами, входящими в их состав, но и связанными формами азота. Накопление связанного азота происходит в результате активации процессов фиксации N₂ почвенными микроорганизмами. Использование ХО в качестве натуральных почвенных мелиорантов позволит существенно снизить количество отходов, образующихся при добыче и обогащении фосфатного сырья.

Ключевые слова:

хвосты обогащения фосфоритов, глауконит, почвенные мелиоранты, никель

Abstract

The phosphorite enrichment tailings (ET) of the Vyatka-Kama deposit are a valuable agrochemical raw material containing phosphorus, potassium, sulfur and a complex of deficient microelements. The presence of an effective natural sorbent glauconite (up to 70 %), lime and phosphate materials in ET plant makes it possible to use them as ameliorants for the rehabilitation of soils contaminated with heavy metals, in particular nickel.

As a result of laboratory studies, it was found that the introduction of natural and ground ET, as well as fertilizers based on them in a dosage of 0.25 g per kg of soil leads to a decrease in the mobility of nickel in average by 35 %. The decrease in the mobility of Ni may be due to the adsorption of this element on glauconite. The possibility of the formation of poorly soluble nickel phosphates cannot be ruled out either.

The introduction of ET leads not only to a decrease in the mobility of Ni, but also to the enrichment of the soil with phosphorus, potassium, sulfur, and nitrogen. The accumulation of bound forms of nitrogen in the soil is due to the activation of microbiological processes of nitrogen fixation.

The agrochemically valuable composition is an important advantage of ET in comparison with lime materials used for binding Ni. Enrichment tailings are distinguished by environmental safety, low cost and availability. The use of ET as natural soil ameliorants will allow us to develop the technology of complex processing of extracted phosphate raw materials and significantly reduce the amount of waste generated during the extraction and enrichment of phosphate raw materials.

Keywords:

phosphorite enrichment tailings, glauconite, soil ameliorants, nickel

Введение

Никель относят к числу условно эссенциальных элементов, потребность в которых у живых организмов чрезвычайно мала и полностью удовлетворяется за счет естественного содержания соответствующих элементов в окружающей среде [1]. Повышение содержания Ni в почвах, обусловленное хозяйственной и производственной деятельностью человека, приводит к неблагоприятным экологическим последствиям: снижению продуктивности и биоразнообразия естественных биоценозов, падению урожайности выращиваемых культур, чрезмерному накоплению Ni в зерне и другой растениеводческой продукции. Возможность включения земель с повышенным содержанием Ni в сельскохозяйственный оборот представляет серьезную проблему. Основной вклад в загрязнение почв Ni вносят такие отрасли производства, как цветная металлургия, машиностроение, приборостроение, обработка металлов, добыча и переработка руды, а также работающие на угле и мазуте предприятия теплоэнергетики, транспорт и др. [2].

Ориентировочно допустимые концентрации Ni (валовое содержание) в почве населенных мест и сельскохозяйственных угодий с учетом фона, согласно СанПиН 1.2.3685-21, установлены на уровне 20 мг/кг для песчаных и супесчаных; 40 мг/кг – для кислых ($pH_{KCl} < 5,5$) суглинистых и глинистых; 80 мг/кг – для близких к нейтральным ($pH_{KCl} > 5,5$) и нейтральных суглинистых и глинистых почв. Широкий интервал ОДК обусловлен выраженной зависимостью подвижности Ni от состава и структуры почвы. Наибольшая подвижность и, соответственно, экотоксичность Ni наблюдается на легких кислых почвах. Поскольку повышение pH способствует переводу Ni в связанное состояние, для реабилитации Ni-загрязненных почв чаще всего используется прием известкования. Кроме известия уменьшению подвижности Ni в той или иной степени может способствовать внесение суперфосфата, фосфоритной муки, торфа, цеолита, вермикулита, сульфидов и некоторых других материалов, наилучший результат при этом обеспечивает внесение высоких норм известия (8 и более т/га) [3, 4]. Эффективность использования остальных мелиорантов разными авторами оценивается неоднозначно и требует дополнительных исследований.

Цель настоящей работы – изучение возможности применения глауконитсодержащих хвостов обогащения фосфоритов и удобрений на их основе для реабилитации загрязненных никелем почв.

Материалы и методы

Выбор объекта исследований обусловлен следующими факторами:

- хвосты обогащения (ХО) содержат комплекс агрохимически ценных компонентов (глауконит, фосфаты, известковые материалы), способных снижать подвижность Ni за счет адсорбции или химического связывания элемента в малорастворимые соединения (фосфаты, карбонаты, гидроксиды) [5];

- ХО являются экологически безопасным, дешевым и доступным материалом [6];

- использование ХО в качестве мелиорантов позволит внедрить технологию комплексной переработки добываемого фосфатного сырья и существенно снизить количество образующихся отходов.

Для выполнения исследований использовали образцы ХО, отобранные на территории хвостохранилища Верхнекамского фосфоритового рудника в октябре 2020 г. Образцы представляли собой относительно однородный сыпучий материал зеленовато-серого цвета. Содержание фракции с размером частиц 0,045–0,5 мм – 72 %; более 0,5 мм – 10; менее 0,045 мм – 18 %.

Состав ХО включал следующие основные минералы, масс. %: глауконит – 68,0; франколит (фторкарбонатапатит) – 7,0; кварц – 12,0; кальцит – 3,5; примеси (гипс, барит, гидраты оксидов, оксиды, сульфиды Fe) – 9,5. Отдельные минералы образовывали между собой трудно разделяемые сростки, что существенно затрудняло проведение количественного минералогического анализа. Содержание агрохимически значимых элементов в ХО, масс. %: P_2O_5 – 6,1; K_2O – 3,5; CaO – 19,2; $Fe_{общ}$ – 9,5; $S_{общ}$ – 1,1. Содержание Cd составило менее 0,2 мг/кг.

Хвосты обогащения вносили в почву в натуральном виде, в виде муки (тонина помола < 0,18 мм) и в форме органоминерального удобрения (ОМУ), содержащего, кроме молотых ХО, торф, торфогель (продукт обработки водно-торфяной пульпы методом ультразвуковой кавитации), фосфоритную муку, сульфат аммония и хлорид калия. Содержание элементов минерального питания в ОМУ составляло, масс. %: N – 6,0; P_2O_5 – 6,0; K_2O – 6,0; S – 7,0; содержание органического вещества – 10,0. Торфогель включали в состав ОМУ в качестве связующего и источника гумусовых кислот.

Все исследования проводили в лабораторных условиях. Образцы почвы для выполнения экспериментов отбирали в черте г. Кирова вблизи автомобильной трассы. В табл. 1 приведены данные, характеризующие свойства отобранных образцов.

Добавки (натуральные ХО, молотые ХО, ОМУ) вносили в воздушно-сухую почву в дозировке 0,25 г/кг. Почву с добавками перемешивали, загружали в пластиковые контейнеры и увлажняли деионизированной водой до влажности 60 %. Контейнеры накрывали микроперфорированной полипропиленовой пленкой и выдерживали в течение всего эксперимента при температуре 22 ± 2 °C в условиях естественного освещения. Отбор проб для анализа проводили через 28 дней после внесения добавок в почву.

Варианты эксперимента: 1) почва + натуральные ХО; 2) почва + молотые ХО; 3) почва + ОМУ; 4) почва без добавок (контроль).

Содержание в почве подвижных форм Ni определяли атомно-абсорбционным методом с помощью спектрометра ААС «Спектр-5-4»; содержание ионов K^+ , SO_4^{2-} , NO_3^- в почвенной вытяжке (соотношение почва : деионизированная вода = 1 : 5) – методом ионной хроматографии на хроматографе «Стайер» по ФР.1.31.2008.01738 и ФР.1.31.2008.01724, затем пересчитывали содержание ионов на

Таблица 1

Свойства почвы, используемой для выполнения исследований

Table 1

Properties of the soil used for research

№	Показатели	Значение	Метод анализа
2	pH _{H2O} , ед. pH	6,9±0,1	Ионометрический по ГОСТ 26423-85
	pH _{KCl} , ед. pH	6,1±0,1	Ионометрический по ГОСТ Р 58594-2019
3	Органическое вещество, %	2,8±0,7	Метод Тюрина в модификации ЦИНАО по ГОСТ 26213-91
4	Подвижные соединения фосфора (P ₂ O ₅), мг/кг	45,0±9,0	Фотометрический по ГОСТ Р 54650-2011
5	Подвижные соединения калия (K ₂ O), мг/кг	105±16	Пламенная фотометрия по ГОСТ Р 54650-2011
6	Нитраты, мг/кг	3,8±0,6	Ионометрический по ГОСТ 26951-86
7	Подвижные соединения серы (S), мг/кг	6,4±0,5	Метод ЦИНАО по ГОСТ 26490-85
8	Механический состав	супесчаная	По Н.А. Качинскому мокрым методом (метод скатывания)
9	Каталазная активность, (O ₂ см ³ /(г мин.))	1,3±0,1	Газиметрический метод по Ф.Х. Хазиеву

сухую почву; обменную кислотность – ионометрическим методом по ГОСТ Р 58594-2019; P₂O₅_{подв.} – по ГОСТ Р 54650-2011.

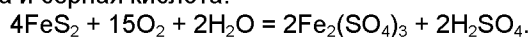
Эксперимент проводили в трех повторностях. Статистическую обработку полученных данных выполняли в программе Microsoft Excel по общепринятым методикам.

Результаты и обсуждение

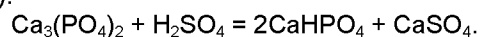
Результаты эксперимента приведены в табл. 2 (средние арифметические значения показателей и среднеквадратические отклонения).

Согласно полученным данным, внесение в почву натуральных и молотых ХО, а также ОМУ на их основе приводит к статистически значимому уменьшению содержания подвижных форм Ni. Снижение подвижности Ni может быть обусловлено адсорбцией этого элемента на глауконите [7]. Нельзя исключать и возможность образования малорастворимых фосфатов никеля.

Содержание агрохимически значимых элементов (N, P, K, S) в почве под влиянием внесенных добавок увеличилось. Основными источниками сульфатов в вариантах 1 и 2 могут выступать легко окисляемые соединения серы, содержащиеся в ХО, например, пирит. Пирит в аэробных условиях достаточно быстро окисляется тионовыми бактериями, при этом образуются растворимые сульфаты железа и серная кислота:



Соответствующий процесс обеспечивает не только повышение содержания подвижной серы, но и способствует переводу содержащихся в ХО труднорастворимых фосфатов (средних фосфатов) в более доступные для растений формы (гидрофосфаты):



Источником калия в вариантах 1 и 2 является глауконит, в варианте 3 – глауконит и хлорид калия. Включение в состав ОМУ хлорида калия и сульфата аммония приводит к более существенному накоплению подвижных форм K, P и S в варианте 3 по сравнению с остальными вариантами.

Нитратные формы азота с ХО и ОМУ в почву не вносили, тем не менее во всех вариантах эксперимента по сравнению с контролем содержание нитратов увеличилось. Накопление в почве нитратов обусловлено активацией процессов фиксации атмосферного азота почвенными микроорганизмами под влиянием содержащегося в ХО глауконита. В состав глауконита входит такой микроэлемент, как Со. Необходимость Со для микробиологической фиксации молекулярного азота хорошо известна [8, 9]. Способностью к фиксации атмосферного азота обладают многие почвенные микроорганизмы. К настоящему времени такая способность обнаружена практически у всех групп прокариот: фототрофов, хемолитотрофов, гетеротрофов, аэробов, анаэробов, микроаэрофилов, трихомных, почкующихся и мицелиальных микроорганизмов, эубактерий и

Таблица 2

Состав и свойства почвы

Table 2

Composition and properties of the soil

Показатели	№ варианта			
	1	2	3	4 (Контроль)
Ni _{подв.} , мг/кг	1,78±0,13	1,63±0,19	1,90±0,21	2,63±0,18
pH _{KCl} , ед. pH	6,0±0,1	6,0±0,1	6,0±0,2	5,8±0,1
P ₂ O ₅ _{подв.} , %	55±6	65±8	95,6±2,3	45±9
K ₂ O _(водораств.) , мг/кг	10,3±2,1	9,1±2,1	34±11	4,6±1,8
SO ₄ ²⁻ , мг/кг	46±5	48±6	380±120	29±4
NO ₃ ⁻ , мг/кг	46±7	48±6	57±9	23±6

Примечание: * жирным шрифтом выделены статистически значимые различия между контролем и экспериментом (p > 0.95).

Note: * statistically significant differences between the control and the experiment are given in bold (p > 0.95).

архей [10]. Управление процессом азотификации имеет особенно большое значение в условиях адаптивного земледелия, так как дает возможность успешно решать основную задачу – получение необходимого количества высококачественной продукции при экономном расходовании природных ресурсов (питательных веществ почвы, энергии, воды и пр.).

Выводы

Результаты выполненных исследований свидетельствуют о том, что глауконитсодержащие хвосты обогащения фосфоритов и удобрения на их основе могут найти применение в качестве эффективных мелиорантов для почв, загрязненных никелем. Внесение ХО приводит не только к снижению подвижности Ni, но и к обогащению почвы фосфором, калием, серой и азотом. Агрохимически ценный состав является важным преимуществом ХО по сравнению с применяемыми для связывания Ni карбонатами. Использование ХО в качестве натуральных почвенных мелиорантов позволит существенно снизить количество отходов, образующихся при добыче и обогащении фосфатного сырья.

Литература

1. Зайцев В.Ф., Щербакова Е.Н. Содержание некоторых тяжелых металлов в органах и тканях Волжской стерляди (*A. stellatus*) // Вестник АГТУ. 2006. № 3. С. 119–124.
2. Плеханова И.О., Зарубина А.П., Плеханов С.Е. Экоотоксикологическая оценка загрязнения никелем почв и водных сред, сопредельных дерново-подзолистым почвам // Вестник Московского университета. Серия 17. Почвоведение. 2017. № 2. С. 24–31.
3. Кончик Г.Н., Захаренко А.И. Влияние различных мелиорантов на подвижность и токсичность никеля и меди в загрязненных почвах // Вестник Московского университета. Серия 17. Почвоведение. 2014. № 1. С. 32–37.
4. Леднев А.В., Ложкин А.В., Поздеев Г.А. Ремедиация агродерново-подзолистой почвы, загрязненной никелем // Российская сельскохозяйственная наука. 2019. № 6. С. 31–35. DOI: 10.31857/S2500-26272019631-35
5. Хвосты обогащения фосфоритов Вятско-Камского месторождения как вторичные материальные ресурсы для производства натуральных удобрений / Н.В. Сырчина, Н.Н. Богатырева, Т.Я. Ашихмина, Г.Я. Кантор // Теоретическая и прикладная экология. 2021. № 2. С. 102–106. DOI: 10.25750/1995-4301-2021-2-102-106.
6. Перспективы использования хвостов обогащения фосфоритов в качестве удобрений для органического земледелия / Н.В. Сырчина, Т.Я. Ашихмина, Н.Н. Богатырёва, Г.Я. Кантор // Теоретическая и прикладная экология. 2020. № 1. С. 160–166. DOI: 10.25750/1995-4301-2020-1-160-166
7. Беленова С.В., Вигдорович В.И., Цыганкова Л.Е. Сорбция катионов Ni(II) из хлоридных растворов концентратом глауконита // Вестник ТГУ. 2015. Т. 20. Вып. 2. С. 397–403.
8. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. М.: Мир, 1989. 439 с.
9. Определение стимулирующего и токсического воздействия нанопорошков меди и кобальта на проростки риса / И.В. Обидина, Г.И. Чурилов, С.Д. Полищук, А.Ю. Тарара, С.С. Гомозова, Н.Б. Рыбин, Л.Е. Амплеева // Вестник НВГУ. 2020. № 2. С. 42–52.
10. Осипов А.И. Биологический круговорот азота атмосферы // Известия СПбГАУ. 2016. № 42. С. 97–103.

References

1. Zaitsev V.F., Shcherbakova E.N. Soderzhanie nekotoryh tzhazhelyh metallov v organah i tkanjah Volzhskoj sterljadi (*A. stellatus*) [Content of some heavy metals in organs and tissues of the Volga sterlet (*Acipenser stellatus*)] // Vestnik AGTU [Bull. of Astrakhan State Techn. Univ.]. 2006. No. 3. P. 119–124.
2. Plekhanova I.O., Zarubina A.P., Plekhanov S.E. Ekotoksikologicheskaja ocenka zagrjaznenija nikelom pochv i vodnyh sred, sopredel'nyh derno-vo-podzolistym pochvam [Ecotoxicological assessment of nickel pollution of soils and aquatic environments adjacent to sod-podzolic soils] // Vestnik Moskovskogo universiteta [Bull. of Moscow Univ.]. Series 17. Soil science. 2017. No. 2. P. 24–31.
3. Koptsik G.N., Zakharenko A.I. Vlijanie razlichnyh meliorantov na podvizhnost' i toksichnost' nikelja i medi v zagrjaznennyh pochvah [Influence of various ameliorants on the mobility and toxicity of nickel and copper in contaminated soils] // Vestnik Moskovskogo universiteta [Bull. of the Moscow Univ.]. Series 17. Soil science. 2014. No. 1. P. 32–37.
4. Lednev A.V., Lozhkin A.V., Pozdееv G.A. Remediacija agroderново-podzolistoj pochvy, zagrjaznennoj nikelom [Remediation of agro-sodpodzolic soil contaminated with nickel] // Rossijskaja sel'skohozjajstvennaja nauka [Russian agricultural science]. 2019. No. 6. P. 31–35. DOI: 10.31857 / S2500-26272019631-35
5. Hvosty obogashhenija fosforitov Vjatsko-Kamskogo mestorozhdenija kak vtorichnye material'nye resursy dlja proizvodstva natural'nyh udobrenij [Tailings of enrichment of phosphorites of the Vyatka-Kamsk deposit as secondary material resources for the production of natural fertilizers] / N.V. Syrchina, N.N. Bogatyryeva, T.Ya. Ashikhmina, G.Ya. Kantor // Teoreticheskaja i prikladnaja jekologija [Theoretical and Applied Ecology]. 2021. No. 2. S. 102–106. DOI: 10.25750/ 1995-4301-2021-2-102-106.
6. Perspektivy ispol'zovaniya hvostov obogashhenija fosforitov v kachestve udobrenij dlja organicheskogo zemledelija [Prospects for the use of phosphorite enrichment tailings as fertilizers for organic farming] / N.V. Syrchina, T.Ya. Ashikhmina, N.N. Bogatyryova, G.Ya. Kantor // Teoreticheskaja i prikladnaja jekologija [Theoretical and Applied Ecology]. 2020. No. 1. P. 160–166. DOI: 10.25750/ 1995-4301-2020-1-160-166
7. Belenova S.V., Vigdorovich V.I., Tsygankova L.E. Sorbcija kationov Ni(II) iz hloridnyh rastvorov

- koncentratom glaukonita [Sorption of Ni (II) cations from chloride solutions with glauconite concentrate] // Vestnik TSU [Bull. of Tomsk State Univ.]. 2015. Vol. 20. No. 2. P. 397-403.
8. *Kabata-Pendias A., Pendias H.* Mikrojelementy v pochvah i rastenijah [Trace elements in soils and plants]. Moscow: Mir, 1989. 439 p.
9. Opređenje stimulirujushhego i toksi-cheskogo vozdejstvija nanoporoshkov medi i kobal'ta na prorostki risa [Determination of the stimulating and toxic effects of copper and cobalt nanoparticles on rice seedlings] / *I.V. Obidina, G.I. Churilov, S.D. Polishchuk, A.Yu. Tarara, S.S. Gomozova, N.V. Rybin., L.E. Ampleeva* // Vestnik NVGU [Bull. of Nizhnevartovsk State Univ.]. 2020. No. 2. P. 42–52.
10. *Osipov A.I.* Biologicheskij krugovorot azota atmosfery [Biological cycle of atmospheric nitrogen] // Izvestiya SPbGAU [Bull. of St. Petersburg State Agrarian Univ.]. 2016. No. 42. P. 97–103.

Статья поступила в редакцию 11.11.2021.

УДК 577.24:577.214.5575.832
DOI 10.19110/1994-5655-2021-5-97-103

И.А. СОЛОВЬЕВ^{*,}, Е.В. ЩЕГОЛЕВА^{*},
М.В. ШАПОШНИКОВ^{*}, А.А. МОСКАЛЕВ^{*}**

**ВЗАИМОСВЯЗЬ ИНКРЕМЕНТОВ
ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ И МАССЫ
ТЕЛА *DROSOPHILA MELANOGASTER*
С ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ
ГЕНОВ ЦИРКАДНЫХ РИТМОВ В УСЛОВИЯХ
КУЛЬТИВИРОВАНИЯ С ПОВЫШЕННЫМ
СОДЕРЖАНИЕМ БЕЛКА**

**Лаборатория геропротекторных
и радиопротекторных технологий,
Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
г. Сыктывкар*

***Медицинский институт ФГБОУ ВО
«Сыктывкарский государственный
университет имени Питирима Сорокина»,
г. Сыктывкар*

amoskalev@ib.komisc.ru

I.A. SOLOVEV^{*,}, E.V. SHCHEGOLEVA^{*},
M.V. SHAPOSHNIKOV^{*}, A.A. MOSKALEV^{*}**

**DROSOPHILA BODY MASS ON AD LIBITUM
MEDIUM CORRELATES WITH LIFESPAN
INCREMENTS OBSERVED
AS THE PHENOTYPES
OF CIRCADIAN RHYTHM GENES
OVEREXPRESSION IN THE FAT BODY**

**Laboratory of Geroprotective
and Radioprotective Technologies, Institute
of Biology, Federal Research Centre Komi
Science Centre, Ural Branch, RAS,
Syktyvkar*

***Medical Institute of Pitirim Sorokin Syktyvkar
State University,
Syktyvkar*

Аннотация

Ритмичное функционирование молекулярных циркадных часов в различных тканях и питание оказывают значительное влияние на продолжительность и качество жизни, а также скорость старения организмов. Известно, что масса тела коррелирует с экспрессией множества различных генов и риском летального исхода в различных возрастах. В настоящем исследовании предпринята попытка выявить закономерности в реализации генетической информации под давлением различных факторов, в частности способность эктопической экспрессии генов циркадных ритмов в жировом теле и мышцах влиять на массу тела в условиях, когда организм получает пищу с различными концентрациями белка. Используются трансгенные линии *Drosophila melanogaster*, несущие в промоторах генов циркадных ритмов (*cry*, *per*, *tim*, *clk*, *cyc*) UAS последовательности, усиливающие экспрессию, и линии, позволяющие индуцировать экспрессию тканеспецифичные *GSG-311-2* (мышцы) и *P{Switch1}106* (жировое тело). Измеряли на аналитических весах Mettler Toledo массу тела дрозофил и устанавливали корреляцию с инкрементами продолжительности жизни в ответ на сверхэкспрессию генов циркадных ритмов из ранее опубликованных данных. Установлена сильная корреляционная зависимость инкрементов массы тела и продолжительности жизни в случае сверхэкспрессии генов циркадных ритмов в жировом теле в условиях культивирования с повышенным содержанием белка, по Спирмену коэффициент корреляции составил 0.955. На основании полученных результатов и данных о высоком эволюционном консерватизме вовлеченных в процесс сигнальных путей (человеческие сигнальные пути эволюционно близки дрозофилиным каскадам) сделаны обобщения относительно негативных последствий использования высокобелковых диет в целях снижения массы тела на фоне нарушений циркадного ритма, которые широко распространены в мегаполисах.

Ключевые слова:

масса тела, Drosophila, продолжительность жизни, сверхэкспрессия, циркадные ритмы, белковая диета

Abstract

The rhythmic functioning of the molecular circadian clock in various tissues and nutrition has a significant impact on the duration and quality of life, as well as the rate of aging of organisms. It is known that body weight correlates with the expression of various genes and the risk of death at different ages.

In this study, an attempt was made to identify patterns in realization of genetic information under the influence of various factors, in particular, the ability of ectopic expression of cir-

cadian rhythm genes in the fat body and muscles to influence body weight in conditions when media contain different concentrations of protein.

We used transgenic *Drosophila melanogaster* lines carrying UAS sequences in promoters of circadian rhythm genes (*cry*, *per*, *tim*, *clk*, *cyc*), that enhance expression, and lines that allow to induce the expression of tissue-specific *GSG-311-2* (muscles) and P {Switch1} 106 (fat body). *Drosophila* body mass was measured on “Mettler Toledo” analytical scales, and a correlation with lifespan increments in response to overexpression of circadian rhythm genes from previously published data was established.

A strong correlation was found between the increments of body weight and lifespan in the case of overexpression of circadian rhythm genes in

the fat body against the background of a protein-rich diet; according to Spearman, the correlation coefficient was 0.955.

Based on the results obtained and data on the high evolutionary conservatism of the signaling pathways involved in the process (human signaling pathways are evolutionarily close to *Drosophila* cascades), generalizations were made regarding the negative consequences of using high-protein diets to reduce the body weight against the background of circadian rhythm disorders that are widespread in megacities.

Keywords:

body mass, Drosophila, circadian rhythms, lifespan, overexpression, high-protein diet

Введение

Генетический контроль циркадных ритмов осуществляется группой последовательностей в совокупности называемых циркадными часами клетки [1]. Циркадный осциллятор дрозофилы представлен ключевыми генами *Clock*, *cycle*, *period*, *timeless* и *cryptochrome* (сокращенно – *Clk*, *cyc*, *per*, *tim* и *cry*); молекулярный механизм функционирует по принципу обратной связи: димер CLK/CYC прикрепляется к промоторам *per* и *tim*, а также множества других генов, инициируя их транскрипцию [2]. В предутренние часы белковые продукты генов *per* и *tim* накапливаются, затем на рассвете связываются с притерпевшим конформационные перестройки, индуцированные квантами света, белком CRY, формируя стабильный тример, который имеет сродство к комплексу CLK/CYC и останавливает транскрипцию всех последовательностей, в промоторах которых последний прикреплен в течение ночи [3]. Ранее было показано, что значительный вклад в продолжительность жизни дрозофилы вносят гены циркадных ритмов, эктопически экспрессируемые в центральной нервной системе и периферических тканях [4]. Механизмы генетического контроля метаболизма, реализуемые циркадными часами клетки, вовлечены также в формирование эффекта продления жизни при ограничении калорийности питания. Установлено, что эктопическая кондиционная экспрессия криптохрома в периферических тканях дрозофилы способна модифицировать пищевое поведение [5, 6].

Ограничение калорийности питания (англ. Diet restriction, caloric restriction, DR, CR) – это режим кормления, характеризующийся пониженным потреблением одного или нескольких макронутриентов (белков, липидов и углеводов) без недоедания [7,8]. DR известен как одно из самых эффективных вмешательств в процесс старения [8,9]. Доказано, что DR продлевает жизнь различным модельным организмам, включая дрожжи, червей, мух и грызунов [8,9]. Эффект увеличения продолжитель-

ности жизни от ограничения рациона поддерживается различными молекулярными механизмами, включая ингибирование инсулин/IGF-1 и mTOR/S6K сигнальных путей активации сиртуинов и 4E-BP. Данные вмешательства вызывают усиление аутофагии, а также снижение уровней p53, активацию FOXO посредством подавления INR, повышая устойчивость организма к стрессу [8].

В настоящей работе мы попытались установить связь различных фенотипов (массы тела и продолжительности жизни) у дрозофил, сверхэкспрессирующих гены циркадных ритмов в жировом теле и мышцах, проведя корреляционный анализ инкрементов этих показателей, используя данные ранее опубликованных работ [3,10] и результаты новых экспериментов.

Масса тела и индекс массы тела (для человека) являются одними из наиболее информативных количественных показателей, отражающих состояние различных функциональных систем организма в процессе старения [11]. Устойчивость циркадного ритма сна и бодрствования также является неотъемлемым атрибутом при оценке качества жизни и здоровья в старости [12]. Гены-детерминанты циркадных ритмов (в единстве с белковыми продуктами, образующими центральный осциллятор клетки) не только поддерживают цикл сна и бодрствования, но и осуществляют контроль метаболизма [13].

Цель данного исследования – выявить наличие корреляции эффектов кондиционной эктопической сверхэкспрессии генов циркадных ритмов в жировом теле (аналог печени) и мышечной ткани плодовых мух в условиях, когда особи получают пищу с различными концентрациями белка.

Материалы и методы

Трансгенные линии *Drosophila melanogaster* *y*, *w*;UAS-*cry12/TM2* (трансген располагается на третьей хромосоме) [14]; *y*, *w*;UAS-*cry24/CyO* (трансген располагается на второй хромосоме) – обе конст-

рукции являются несущими дополнительные копии гена *cry* (криптохром) в сопровождении промоторной последовательности UAS (upstream activating sequence) [14]; w; UAS-*per10* (несет единственную дополнительную копию *per*) [15]; w; UAS-*per2.4* (несет две дополнительные копии гена *per*) – трансгены включают в себя одну и две дополнительные копии гена *per* под контролем активирующей последовательности UAS [16]. w; P{UAS-CYC.HA} – несет дополнительную копию гена *cycle* (ортолог гена *Bmal1*), находящийся под контролем промотора UAS [17]. Белок, кодируемый этим геном, образует димер CLK/CYC, который запускает транскрипцию *tim* и *per* [18]. y, w; P{tim-HA} – трансген снабжен геном *tim*, управляемым UAS последовательностью, расположенной в промоторе [18]. w; P{UAS-Clk.HA} – несет дополнительную копию гена *Clk* под промотором UAS [18].

w; Sp/CyO; P{MHC-GeneSwitch} (сокращенно GSG-311-2) – линия снабжена индуцируемой мифепристоном бинарной системой GAL4, функционирующей исключительно в миоцитах, поскольку снабжена тканеспецифичным промотором. w{1118}; P{w[+mW.hs]=Switch1}106 (сокращенно P{Switch1}106) – линия с мифепристон-индуцибельным GAL4 в жировом теле [19]. Мухи были получены из Bloomington Stock Center (США).

Активация сверхэкспрессии. Для индукции генов циркадных ритмов использовали RU486-активируемый бинарный GeneSwitch [20]. Особей, экспрессирующих кондиционно гены-регуляторы циркадных ритмов в мускулатуре и жировом теле, получали от скрещиваний самцов линии GS-Gal4, снабженных тканеспецифичными энхансерами/промоторами, и виргинных самок, несущих конструкцию с UAS последовательностью в промоторе. В питательную среду потомству добавляли мифепристон (RU486, Sigma, США), который связывается с химерной белковой молекулой, состоящей из активного центра прогестеронового рецептора, запускающего конформационные перестройки транскрипционного фактора GAL4, который связывает UAS-последовательность, тем самым активируя экспрессию генов интереса.

Раствор мифепристона готовили на 96 %-ном этаноле, использовалась концентрация в 25 мг/мл. Для приготовления рабочего раствора стоковый разбавляли в 100 раз, после чего вносили по 200 мкл в каждую пробирку на среду для особей, содержащих мифепристон-индуцибельную конструкцию. Для изучения влияния ограничительной диеты на массу тела дрозофил контрольную (без сверхэкспрессии) и опытную (со сверхэкспрессией) группы особей содержали на средах с высоким и сниженным содержанием белков.

Состав среды по [5, 21] на 1 л: вариант питательной среды с высоким содержанием белка: агар-агар – 10 г, сахароза – 50 г, дрожжевой экстракт – 50 г. Вариант среды с низким содержанием белка в расчете на 1 л: агар-агар – 10 г, сахароза – 50 г, дрожжевой экстракт – 0,5 г.

Измерение массы тела мух проводили на десятый день (чтобы в выборку не попали особи, которые гибнут от не связанных со старением причин)

после вылета имаго из куколок (использовались виргинные особи), осуществляя взвешивание особей в пяти технических повторностях по 10 мух в каждой, после чего высчитывали среднюю массу мухи и ошибку средней. Непараметрический корреляционный анализ проводили в программе Statistica 6.0, данные об инкрементах продолжительности жизни и экспрессии были взяты из результатов, представленных ранее (инкремент продолжительности жизни вычислялся как разность между медианами продолжительности жизни опытной и контрольной групп (по признаку индукции сверхэкспрессии)) [6], уровень значимости – 1 %.

Результаты и обсуждение

В настоящем исследовании нами установлена достоверная положительная корреляционная взаимосвязь между приростами медиан продолжительности жизни и массы тела у самок дрозофилы, культивируемых на среде с высокой концентрацией белка и сверхэкспрессирующих гены циркадных ритмов в жировом теле (рис. 1). В то же самое время не удалось обнаружить достоверных значений коэффициентов корреляции между экспрессией генов циркадных ритмов и приростом медианы продолжительности жизни, а также между приростом экспрессии гена и массой тела дрозофилы во всех остальных случаях. С точки зрения эволюционной биологии данный эффект закономерен. Не одомашненным животным не свойственна способность адаптироваться одновременно к нетипичному фоторежиму, который модулирует сверхэкспрессию того или иного гена и богатой белком диете, как следствие, наблюдается сниженная продолжительность жизни. Единственным исключением в настоящем эксперименте является ген *сус* [10], ортолог *Bmal1* млекопитающих, известный как циркадный регулятор киназы mTOR (*Bmal1* ингибирует активность mTOR) [22]. Киназа mTOR участвует в распознавании нутриентов, а ее ингибирование рапамидами и собственно рапамицином вызывает увеличение продолжительности жизни модельных животных. Таким образом, принимая во внимание наши результаты, следует заключить, что выявленная нами прямая корреляция между массой тела и приростами продолжительности жизни ($r=0.955$; $p<0.05$) косвенно указывает на существование связи между CYC и ортологом mTOR дрозофилы (рис. 2).

В норме испытываемые животные должны снижать массу тела в ответ на богатую белком диету, однако при сверхэкспрессии гена *сус* в жировом теле на фоне стандартной диеты у самок повышается масса тела. Если сопоставить этот факт с данными, полученными на крысах, хронически употреблявших рапамицин и страдавших от инсулинорезистентности, развившейся вследствие этого вмешательства, можно заметить, что наблюдаемый эффект имеет похожую конъюнктуру [23]. Мухи, которые должны сбрасывать вес, набирают его, несмотря на общий тренд, характерный для других линий, содержащихся на стандартной диете. Данная тенденция к набору веса на фоне сверхэкспрессии сохраняется также и в вариантах со сверх-

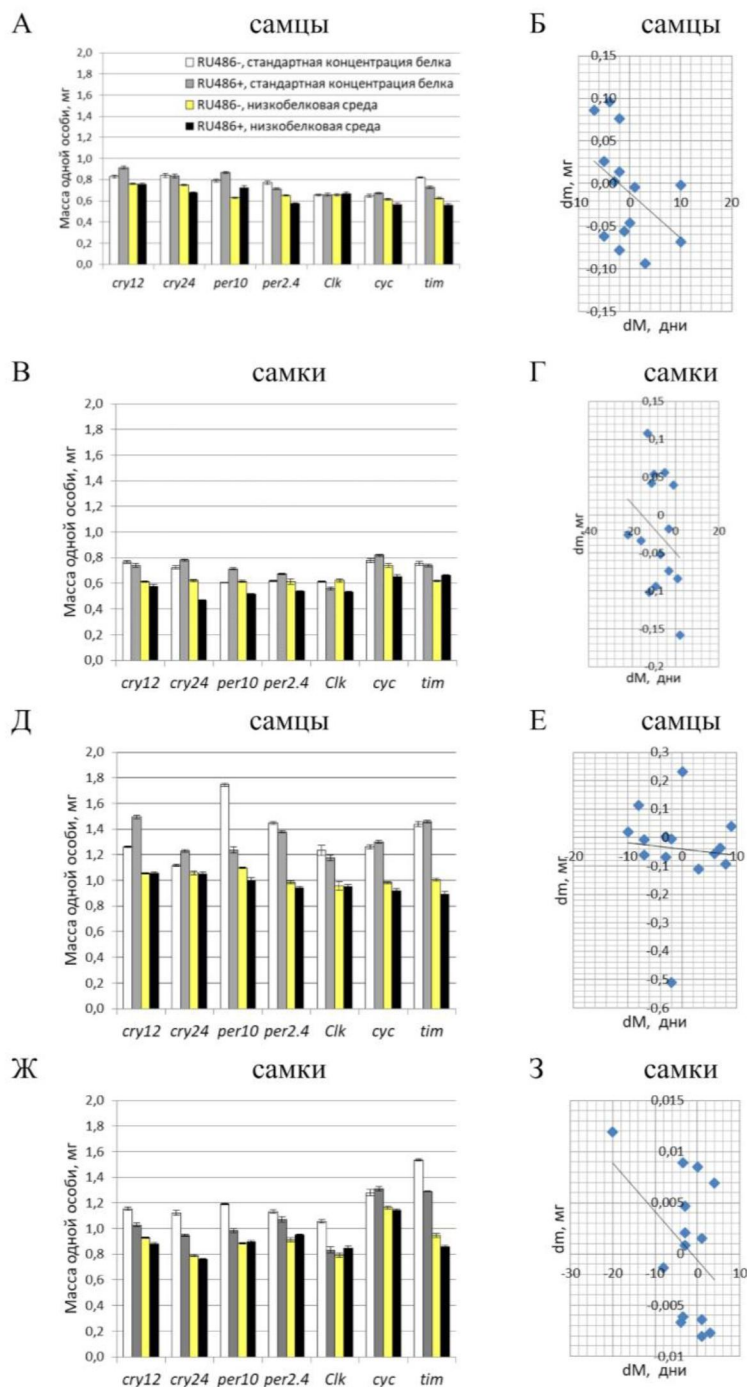


Рис. 1. Масса тела особей *Drosophila melanogaster* и корреляция массы тела плодовых мух, сверхэкспрессирующих гены циркадных ритмов в мышцах и жировом теле при культивировании на питательных средах со стандартным и низким содержанием белка.

Условные обозначения: ось y в первом столбце в m , mg ; А, Б, Д, Е – самцы, В, Г, Ж, З – самки; А, Б, В, Г – сверхэкспрессия в мышцах; Д, Е, Ж, З – сверхэкспрессия в жировом теле; белый – контрольная группа, содержащаяся на высокобелковой среде; серый – группа, содержащаяся на среде с мифепристоном; желтый – контрольная группа, содержащаяся на низкобелковой среде; черный – группа, содержащаяся на низкобелковой среде с мифепристоном; dM – прирост медианной продолжительности жизни; dm – инкремент массы тела.

Fig. 1. Body weight of *Drosophila melanogaster* individuals and correlation of body weight of fruit flies overexpressing circadian rhythm genes in muscles and fat body when cultured on nutrient media with standard and low protein content.

Symbols: y axis in the first column in m , mg ; А, Б, Д, Е – males, В, Г, Ж, З – females; А, Б, В, Г – overexpression in muscles; Д, Е, Ж, З – overexpression in the fat body; white – the control group kept on a high-protein medium, gray – the group kept on a medium with mifepristone; yellow – the control group kept on a low-protein medium, black – the group kept on a low-protein medium with mifepristone; dM – increase in median life expectancy; dm – increment of body weight.

экспрессией *cys* в мышцах самок, а также самцов, на фоне именно богатой белком диеты [23].

Обнаружена сильная положительная коррекция между инкрементами медианной продолжи-

тельности жизни и массы тела у самок дрозофил, содержащихся на среде со стандартным содержанием белка и сверхэкспрессирующих гены циркадных ритмов в жировом теле (коэффициент корреляции

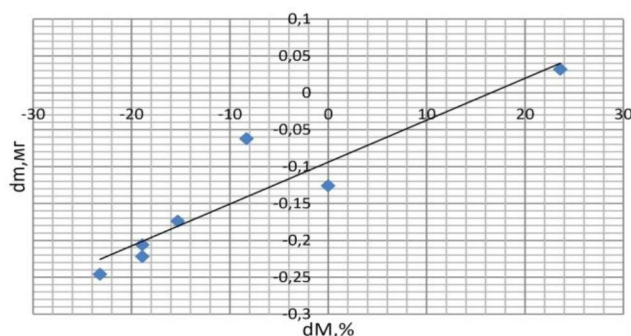


Рис. 2. Распределение инкрементов медианной ПЖ и массы тела у самок дрозофил, сверхэкспрессирующих гены циркадных ритмов в жировом теле на фоне диеты со стандартным содержанием белка.

Условные обозначения: dM – инкремент медианной ПЖ, % [6]; dm – инкремент массы тела.

Fig. 2. Distribution of increments of median pancreas and body weight in *Drosophila* females overexpressing genes of circadian rhythms in the fat body against the background of a diet with a standard protein content.

Symbols: dM – increment of the median pancreas [6], %; dm – increment of body weight.

Спирмена $\rho=0.955$, $p<0.05$) (данные представлены в табл. 1). В остальных вариантах индукции сверхэкспрессии (у самцов и в мышечной ткани обоих полов) корреляционная зависимость между инкрементами массы и медианной продолжительности жизни отсутствует на фоне тканеспецифичной эк-

Clock страдают от ожирения [24].

Усиление экспрессии генов-регуляторов циркадных ритмов в жировом теле (аналог печени, поджелудочной железы и жировой ткани млекопитающих) дрозофилы приводило в условиях вы-

топической кондиционной экспрессии генов циркадных ритмов и высокобелковой диеты (табл. 2).

Ранее были описаны механизмы регуляции метаболизма жиров циркадными часами клеток млекопитающих [13]. Любое нарушение функционирования молекулярного осциллятора, ассоциированное с десинхронозом или джетлагом, способно привести к ожирению [13]. Каждый отдельный вариант индукции эктопической экспрессии следует считать нарушением в работе циркадных часов в рамках обсуждаемого эксперимента. На модели дрозофилы нам удалось убедительно показать, что снижение веса в условиях высокобелковой диеты возможно и при модельных десинхронозах. Например, мыши-мутанты по гену

Таблица 1

Данные об инкрементах медианной продолжительности жизни, экспрессии генов циркадных ритмов (в жировом теле) и массе тела самок, содержащихся на среде с повышенной концентрацией белка

Table 1

Data on increments of median life expectancy, expression of genes of circadian rhythms (in the fat body) and body weight of females kept on medium with increased concentration of protein

Ген	dM, %	dE	dm, мг	Ген
<i>cry12</i>	0	950	-0.126	<i>cry12</i>
<i>cry24</i>	-15.3	140	-0.174	<i>cry24</i>
<i>per10</i>	-18.9	1160	-0.206	<i>per10</i>
<i>per2.4</i>	-8.3	450	-0.062	<i>per2.4</i>
<i>Clk</i>	-18.9	370	-0.222	<i>Clk</i>
<i>cyc</i>	23.6	160	0.032	<i>cyc</i>
<i>tim</i>	-23.2	190	-0.246	<i>tim</i>

Примечание: dM – прирост медианной продолжительности жизни (данные взяты из Solovev et al. (2019) [6]); dE – прирост уровня экспрессии гена, данные взяты из [6]. dm – прирост массы тела плодовых мух.

Note: dM – increase in median life expectancy (data taken from Solovev et al. (2019) [6]; dE – increase in the level of gene expression, data are taken from [6]; dm – weight gain of fruit flies.

Таблица 2

ρ -коэффициенты корреляции Спирмена для инкрементов медиан продолжительности жизни, экспрессии генов и массы тела самок, сверхэкспрессирующих гены циркадных ритмов в жировом теле

Table 2

ρ -Spearman correlation coefficients for increments of median life expectancy, gene expression and body weight of females overexpressing genes of circadian rhythms in the fat body

ρ - коэффициент корреляции Спирмена	dM	dE	dm
dM	1.000	-0.090	0.955*
dE	-0.090	1.000	-0.071
dm	0.955*	-0.071	1.000

Примечание: dM – прирост медианной продолжительности жизни; dE – прирост уровня экспрессии гена; dm – прирост массы тела плодовых мух. * – значение коэффициента корреляции статистически достоверно.

Note: dM – increase in the median life expectancy; dE – increase in the level of gene expression; dm – weight gain of fruit flies.

сокобелковой диеты, главным образом, к потере массы тела и, в отдельных случаях, драматическому сокращению продолжительности жизни (см. табл. 1) [6]. Экстраполируя результаты с используемого в нашей работе модельного организма на человека (процедура допустима при учете высокого эволюционного консерватизма последовательностей генов циркадных ритмов и элементов mTOR сигнального пути, а также ассоциированного с метаболизмом жиров сигнального каскада PPAR γ), можно сделать вывод, что на фоне хронического нарушения ритмов сна и бодрствования (распространенного в мегаполисах) использование высокобелковой диеты с целью набора мышечной массы, даже при нормальной исходной массе тела, может быть губительно. На данный момент неизвестно, способны ли физические упражнения нивелировать аддитивные отрицательные эффекты высокобелковой диеты и нарушения циркадного ритма. Однако классические исследования способности физической активности выступать в качестве цайтгебера у человека дали положительный результат, так, упражнения приводят к сдвигу фазы ритма, но не обязательно нормализуют его [25].

Следует отметить, исходя из последних данных, представленных в работе [26], что высокий уровень белка в рационе далеко не всегда оказывает отрицательное влияние на организм человека при умеренном потреблении: у пожилых пациентов введение дополнительного белка в рацион значительно снижает частоту переломов костей, к сожалению, в обсуждаемом исследовании не проводилось оценки циркадных ритмов пациентов количественными методами [26].

Хотя диеты с высоким содержанием белка по-прежнему популярны в качестве средств для похудения и лечебного питания при диабете 2 типа; накопленные данные клинических наблюдений свидетельствуют о том, что ухудшение функции почек может происходить у людей как уже имеющих нарушения в этой системе, так и здоровых [27]. Высокое потребление белка с пищей способно вызывать внутрипочечковую гипертензию, что может привести к состоянию гиперфильтрации, также повреждению клубочков и протеинурии. Вполне возможно, что длительное потребление большого количества белка приводит к развитию хронической болезни почек *de novo*. Качество употребляемого белка также может иметь значение для здоровья почек. По сравнению с белком из растительных источников, животный белок был связан с повышенным риском развития терминальной стадии болезни почек в нескольких наблюдениях, включая Singapore Chinese Health Study [27]. Потенциальные медиаторы повреждения почек животным белком включают кислотную нагрузку, содержание фосфатов, дисбаланс кишечной микробиоты и возникающее в результате влияния всех вышеперечисленных факторов воспаление. В свете таких результатов следует с осторожностью подходить к принятию популярных диетических подходов, которые включают высокую долю белка в рационе для снижения веса или контроля гликемии у лиц с высоким риском заболевания почек [27].

Исследования выполнены в рамках госзадания по теме «Молекулярно-генетические механизмы старения, продолжительности жизни и стрессоустойчивости Drosophila melanogaster» № AAAA-A18-118011120004-5, а также при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90058 «Аспиранты»: «Исследование геропротекторных свойств стабилизатора и ингибитора криптохрома, KL001 и KS15, на модели Drosophila melanogaster».

Литература – References

1. Kim Y.H., Lazar M.A. Transcriptional Control of Circadian Rhythms and Metabolism: A Matter of Time and Space // *Endocrine Reviews*. 2020. Vol. 41. № 5. P. 707–732.
2. Dissection of central clock function in *Drosophila* through cell-specific CRISPR-mediated clock gene disruption / R. Delventhal, R.M. O'Connor, M.M. Pantalà, M. Ulgherait, H.X. Kim, M.K. Basturk, J.C. Canman, M. Shirasu-Hiza // *Elife*. 2019. Vol. 15. № 8. P. e48308.
3. Solovov I.A., Shaposhnikov M.V., Moskalev A.A. Genetic mechanisms of the influence of light and phototransduction on *Drosophila melanogaster* lifespan // *Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii* [Vavilov J. of Genetics and Selection]. 2018. Vol. 22. № 7. P. 878–886.
4. Brown A.J., Pendergast J.S., Yamazaki S. Peripheral Circadian Oscillators // *Yale J. Biol. Med*. 2019. Vol. 92. № 2. P. 327–335.
5. Peripheral Circadian Clocks Mediate Dietary Restriction-Dependent Changes in Lifespan and Fat Metabolism in *Drosophila* / S.D. Katewa, K. Akagi, N. Bose, K. Rakshit, T. Camarella, X. Zheng, D. Hall, S. Davis, C.S. Nelson, R.B. Brem, A. Ramanathan, A. Sehgal, J.M. Giebultowicz, P. Kapahi // *Cell Metab*. 2016. Vol. 23. № 1. P. 143–154.
6. Circadian clock genes overexpression in *Drosophila* alters diet impact on lifespan / I. Solovov, E. Shchegoleva, A. Fedintsev, M. Shaposhnikov, A. Moskalev // *Biogerontology*. 2019. Vol. 20. № 2. P. 159–70.
7. Caloric restriction blocks neuropathology and motor deficits in Machado–Joseph disease mouse models through SIRT1 pathway / J. Cunha-Santos, J. Duarte-Neves, V. Carmona, L. Guarente, L.P. De Almeida, C. Cavadas // *Nature communications*. 2016. Vol. 7. № 1. P. 1–4.
8. Kapahi P., Kaeberlein M., Hansen M. Dietary restriction and lifespan: lessons from invertebrate models // *Ageing research reviews*. 2017. Vol. 39. P. 3–14.
9. Fontana L., Partridge L., Longo V.D. Extending healthy life span—from yeast to humans // *Science*. 2010. Vol. 328. № 5976. P. 321–326.
10. Neuron-specific overexpression of core clock genes improves stress-resistance and extends lifespan of *Drosophila melanogaster* / I. Solovov, E. Dobrovolskaya, M. Shaposhnikov, M. Sheptyakov, A. Moskalev // *Exper. gerontology*. 2019. Vol. 117. P. 61–71.
11. Body mass index trajectories in relation to change in lean mass and physical function: the health, aging and body composition study / I.

- Reinders, R.A. Murphy, K.R. Martin, I.A. Brouwer, M. Visser, D.K. White, A.B. Newman, D.K. Houston, A.M. Kanaya, D.S. Nagin, T.B. Harris* // J. of American Geriatrics Society. 2015. Vol. 63. № 8. P. 1615–1621.
12. Rest-activity rhythms and cognitive decline in older men: the osteoporotic fractures in men sleep study / *T.S. Rogers-Soeder, T. Blackwell, K. Yaffe, S. Ancoli-Israel, S. Redline, J.A. Cauley, K.E. Ensrud, M. Paudel, E.Barrett-Connor, E.LeBlanc, K.Stone* // J. of American Geriatrics Society. 2018. Vol. 66. № 11. P.2136–2143.
13. Circadian rhythms and obesity: Timekeeping governs lipid metabolism / *Y. Li, J. Ma, K. Yao, W. Su, B. Tan, X. Wu, X. Huang, T. Li, Y. Yin, G. Tosini, J. Yin* // J. of Pineal Research. 2020. Vol. 69. № 3. P. e12682.
14. *Kumar S., Chen D., Sehgal A.* Dopamine acts through Cryptochrome to promote acute arousal in *Drosophila* // Genes & development. 2012. Vol. 26. № 11. P. 1224–1234.
15. *Yang Z., Sehgal A.* Role of molecular oscillations in generating behavioral rhythms in *Drosophila*. Neuron. 2001. Vol. 29. № 2. P. 453–467.
16. The *Drosophila* circadian network is a seasonal timer / *D. Stoleru, P. Nawathean, M. de la Paz Fernández, J.S. Menet, M.F. Ceriani, M. Rosbash* // Cell. 2007. Vol. 129. № 1. P. 207–219.
17. Circadian clocks in antennal neurons are necessary and sufficient for olfaction rhythms in *Drosophila* / *S. Tanoue, P. Krishnan, B. Krishnan, S.E. Dryer, P.E. Hardin* // Current Biology. 2004. Vol. 14. № 8. P. 638–649.
18. *Hardin P.E.* Molecular genetic analysis of circadian timekeeping in *Drosophila* // Advances in genetics. 2011. Vol. 74. P.141–173.
19. P {Switch}, a system for spatial and temporal control of gene expression in *Drosophila melanogaster* / *G. Roman, K. Endo, L. Zong, R.L. Davis* // Proc. of the National Ac. Sci. 2001. Vol. 98. № 22. P. 12602–12607.
20. A conditional tissue-specific trans-gene expression system using inducible GAL4 *T. Osterwalder, K.S. Yoon, B.H. White, H. Keshishian* // Proc. of the National Ac. Sci. 2001. Vol. 98. № 22. P. 12596–12601.
21. 4E-BP extends lifespan upon dietary restriction by enhancing mitochondrial activity in *Drosophila* / *B.M. Zid, A.N. Rogers, S.D. Katewa, M.A. Vargas, M.C. Kolipinski, T. A.Lu, S. Benzer, P.Kapahi* // Cell. 2009. Vol. 139. № 1. P.149–160.
22. BMAL1-dependent regulation of the mTOR signaling pathway delays aging / *R.V. Khapre, A.A. Kondratova, S. Patel, Y. Dubrovsky, M. Wrobel, M.P. Antoch, R.V. Kondratov* // Aging (Albany NY). 2014. Vol. 6. № 1. P. 48.
23. Chronic mTOR inhibition by rapamycin induces muscle insulin resistance despite weight loss in rats / *N. Deblon, L. Bourgoin, C. Veyrat-Durebex, M. Peyrou, M. Vinciguerra, A. Caillon, C. Maeder, M. Fournier, X. Montet, F. Rohner-Jeanrenaud, M.Foti* // British J. of Pharmacology. 2012. Vol. 165. № 7. P. 2325–2340.
24. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice / *F.W. Turek, C. Joshu, A. Kohsaka, E. Lin, G. Ivanova, E. McDearmon, A. Laposky, S. Losee-Olson, A. Easton, D.R. Jensen, R.H. Eckel* // Science. 2005. Vol. 308. № 5724. P.1043–1045.
25. Effects of physical exercise on human circadian rhythms / *Y. Yamanaka, K.I. Honma, S. Hashimoto, N. Takasu, T. Miyazaki, S. Honma* // Sleep and Biological Rhythms. 2006. Vol. 4. № 3. P.199–206.
26. Effect of dietary protein intake on bone mineral density and fracture incidence in older adults in the Health, Aging, and Body Composition study / *A.A. Weaver, J.A. Tooze, J.A. Cauley, D.C. Bauer, F.A. Tylavsky, S.B. Kritchevsky, D.K. Houston* // J. of Gerontology: Series A. 2021. P. glab068
27. The effects of high-protein diets on kidney health and longevity / *G.J. Ko, C.M. Rhee, K. Kalantar-Zadeh, S. Joshi* // J. of American Society of Nephrology. 2020. Vol. 31. № 8. P.1667–1679.

Статья поступила в редакцию 15.09.2021.

УДК 616-092

DOI 10.19110/1994-5655-2021-5-104-115

**Д.О. КОРНИЛОВ*, М.А. ТРЯПИЦЫН*,
Д.Ю. ГРЕБНЕВ*,****

mTOR: СИГНАЛИЗАЦИЯ, РЕГУЛЯЦИЯ, ВЛИЯНИЕ НА МЕТАБОЛИЗМ, РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ И ОПУХОЛЕВОГО РОСТА

** Уральский государственный
медицинский университет Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г. Екатеринбург*

*** Институт медицинских
клеточных технологий,
г. Екатеринбург*

*danilovkornil@gmail.com,
misha.tryapitsyn@yandex.ru*

**D.O. KORNILOV*, M.A. TRYAPITSYN*,
D.YU. GREBNEV*,****

mTOR: SIGNALING, REGULATION, EFFECT ON METABOLISM, ROLE IN THE REGULATION OF LIFE EXPECTANCY AND TUMOR GROWTH

** Federal State Budgetary Educational
Institution of Higher Education "Ural State
Medical University of the Ministry of Health
of the Russian Federation",
Ekaterinburg*

*** State Autonomous Healthcare Institution
of the Sverdlovsk Region Institute of Medical
Cell Technologies,
Ekaterinburg*

Аннотация

mTOR – механическая мишень рапамицина. Путь mTOR имеет множество механизмов регуляции: гуморальный, энергетическим статусом, цитокинами и сигнальными путями MAPK. mTOR участвует в синтезе белка, в обмене глюкозы, инсулина и липидов, в метаболизме глутамина. Является важным регулятором множества неврологических и иммунных процессов. Передача сигналов mTOR вовлечена в процесс старения, в инициацию развития многих видов опухолевого роста.

Ключевые слова:

mTOR, mTORC1, mTORC2, сигнализация, регуляция, метаболизм, старение, опухолевый рост

Abstract

mTOR is a mechanical target of rapamycin, consisting of a subunit of two catalytic complexes mTORC1 and mTORC2. mTORC1 regulates cell growth and metabolism, mTORC2 controls proliferation and survival. The mTOR pathway has multiple regulatory mechanisms: humoral, energy status, cytokines, and MAPK signaling pathways. mTOR is involved in protein synthesis through phosphorylation and activation of several substrates that promote initiation, translation of mRNA and increase the efficiency of translation of spliced mRNAs, suppresses protein catabolism, primarily autophagy, participates in glucose and insulin metabolism, activating pancreatic β -cell hyperplasia and stimulating gluconeogenesis, participates in the metabolism of glutamine. It activates adipocyte proliferation and lipid synthesis. It is an important regulator of many neurological and immune processes. The transmission of mTOR signals is involved in the aging process. mTOR is also involved in the initiation of the development of many types of tumor growth.

Keywords:

mTOR, mTORC1, mTORC2, signaling, regulation, metabolism, aging, tumor growth

Введение

mTOR – механическая мишень рапамицина (выделенного в 1970-х гг. из почвенной бактерии на Рапа-Нуи (острове Пасхи)). Рапамицин, также известный как сиролимус, образует комплекс с FK506-связывающим белком 12 (FKBP12) и в этой форме подавляет активность mTOR, представляет собой эволюционно консервативную серин-треонин киназу, которая воспринимает и интегрирует разнообразный набор внешних и внутриклеточных сигналов, таких как факторы роста и питательные вещества для управления клеточными и организменными ответами. mTOR кодируется одноименным геном в 1p36.22 локусе первой хромосомы человека

и относится к семейству PI3K. Протеинкиназа mTOR создает ядро основной эукариотической сигнальной сети, которая координирует рост клеток с условиями окружающей среды и играет фундаментальную роль в физиологии клеток и организма. Роль mTOR выходит далеко за рамки пролиферации и координирует индивидуальную метаболическую программу для контроля роста клеток и многих биологических процессов, включая клеточное старение и продолжительность жизни. Многие аспекты функции и регулирования mTOR были выяснены совсем недавно, а многие другие вопросы в данный момент остаются без ответа.

Сигнализация mTOR

mTOR образует каталитическую субъединицу двух различных белковых комплексов, известных как комплекс mTOR 1 (mTORC1) и 2 (mTORC2). mTORC1 характеризуется тремя основными компонентами: mTOR, Raptor (регуляторный белок, связанный с mTOR) и mLST8 (летальный для млекопитающих с белком Sec13 протеин 8, также известный как GβL). Raptor способствует привлечению субстрата к mTORC1 посредством связывания с каскадом передачи сигналов TOR (TOS), обнаруженным на нескольких стандартных субстратах mTORC1, и необходим для правильной субклеточной локализации mTORC1. mLST8, напротив, связывается с каталитическим доменом mTORC1 и может стабилизировать петлю активации киназы, хотя генетические исследования показывают, что он не обязателен для реализации основных функций mTORC1 (рис. 1) [1]. В дополнение к этим трем основным компонентам mTORC1 также содержит две ингибирующие субъединицы PRAS40 (богатый пролином субстрат АКТ 40 кДа) и DEPTOR (DEP домен, содержащий взаимодействующий белок mTOR)[2].

Многочисленные рецепторы факторов роста, такие как рецептор инсулина или рецептор эпидермального фактора роста (EGF), активируют адапторные молекулы тирозинкиназы на клеточной мембране, что приводит к привлечению семейства PI3K класса I к рецепторному комплексу [3]. После взаимодействия с рецептором PI3K фосфорилирует фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат [PI(3,4,5)P₂] с образованием фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфата [PI(3,4,5)P₃], который накапливается и активирует серин/треонинкиназу АКТ (также известную как протеинкиназа B) посредством фосфорилирования треонина 308 с помощью фосфоинозитид-зависимой протеинкиназы 1 (PDK1). mTORC2 также активируется PI3K через [PI(3,4,5) P₃] и фосфорилирует АКТ по серину 473, что важно для полной активации и субстратной специфичности АКТ. Основная цель АКТ – туберин (TSC2). TSC2 (вероятно, является шапероном для гамартина) образует гетеродимерный комплекс с гамартином (TSC1) и ингибирует mTORC1 [4]. Фосфорилирование TSC2 по треонину 1462 (Thr1462) с помощью АКТ подавляет актив-

ность его белка, активирующего ГТФазу (GAP) в отношении малого гомолога ГТФазы RAS, присутствующего в большом количестве в мозге (Rheb), который, таким образом, остается в ГТФ-связанном состоянии и активирует mTORC1. Следовательно, активация PI3K класса I в конечном итоге приводит к активации mTORC1 через ингибирование TSC2. Интересно, что PI3K β класса II (PI3KC2β) синтезирует фосфатидилинозитол-3,4-бисфосфат [PI(3,4)P₂] в условиях, лишенных фактора роста, чтобы ингибировать mTORC1 на лизосоме [3, 5].

Активация mTORC1 происходит на клеточных органеллах, таких как пероксисомы или лизосомы. Активация mTOR на лизосомах наиболее изучена: mTORC1 связывается с комплексом, состоящим из v-АТФазы, Regulator-Rag и SLC38A9 (лизосомальный сенсор аргинина, который при активации стимулирует активность mTORC1) [3]. Комплексы Rag являются облигатными гетеродимерами: RagA или RagB с RagC или RagD и привязаны к лизосомальной мембране при помощи связи с пентамерным комплексом Regulator, состоящим из MP1, p14, p18, HBXIP и cTORF59. Аминокислотная стимуляция переводит Rags в их активное состояние, связанное с

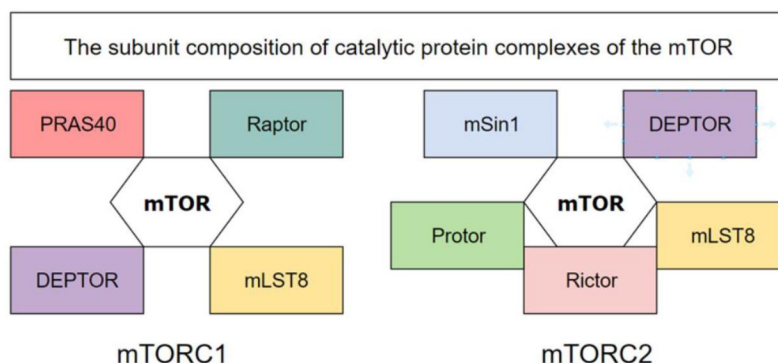


Рис. 1. Состав белковых комплексов каталитической субъединицы mTOR [1].

Fig.1. The composition of protein complexes of the mTOR catalytic subunit [1].

нуклеотидами, что позволяет им связывать Raptor и перемещать mTORC1 на поверхность лизосомы, где также находится Rheb. Значит, данная совокупность белковых комплексов образует «И-шлюз», посредством чего передача сигналов mTORC1 включается только тогда, когда активированы и Rags, и Rheb. mTORC1 воспринимает как внутри лизосомальные, так и цитозольные аминокислоты посредством различных механизмов. Аминокислоты внутри просвета лизосомы изменяют состояние нуклеотидов Rag посредством механизма, зависящего от лизосомальной v-АТФазы, которая взаимодействует с комплексом Regulator-Rag, способствуя активности фактора обмена гуанин-нуклеотид (GEF), а Regulator в отношении комплекса RagA / B. Лизосомальный переносчик аминокислот SLC38A9 взаимодействует с комплексом Rag-Ragulator-v-АТФазой и необходим аргинину для активации mTORC1, что делает его многообещающим кандидатом на роль сенсора лизосомных аминокислот [6].

Полная активация mTORC1 требует наличия основных питательных веществ и источников энер-

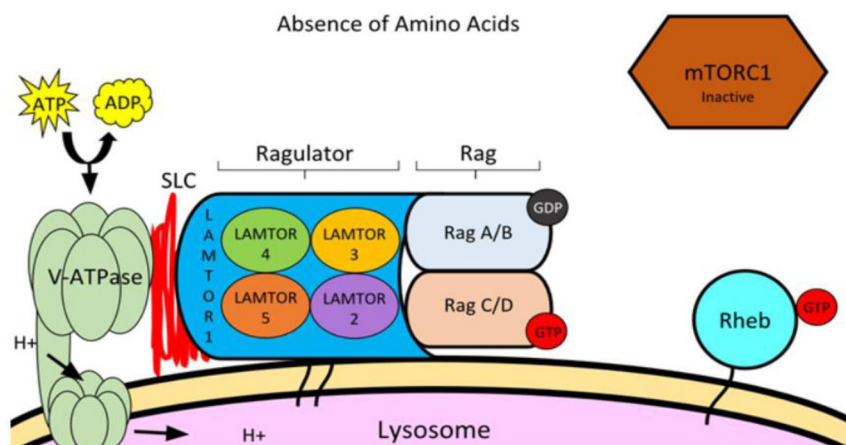


Рис. 2. Активация пути mTOR при аминокислотном голодании [2].
Fig. 2. Activation of the mTOR pathway in absence of amino acids [2].

гии: аминокислот, глюкозы, липидов, кислорода и высокого отношения АТФ / АМФ.

mTORC2 содержит mTOR, rictor, mLST8, mSin1 и недавно идентифицированные компоненты Protor, Hsp70 и DEPTOR. Rictor – это белок, ассоциированный с mTOR, который не является его функциональной составляющей, он действует параллельно и сходно mTORC2, фосфорилируя mTORC1 [4]. mSin1 является важной субъединицей для целостности mTORC2 и активности mTOR в отношении фосфорилирования AKT по Ser473. Protor-1 связывается с Rictor, поэтому не является частью

рост и метаболизм клеток, mTORC2 контролирует пролиферацию и выживаемость, прежде всего путем фосфорилирования нескольких членов семейства протеинкиназ AGC (PKA / PKG / PKC). Первым субстратом mTORC2, который идентифицирован, был PKCα, регулятор актинового цитоскелета. Совсем недавно показано, что mTORC2 фосфорилирует несколько других членов семейства PKC, включая PKCδ, PKCζ, а также PKCγ и PKCε, все из которых регулируют различные аспекты изменения цитоскелета и миграции клеток. Однако наиболее важную ролью mTORC2, вероятно, является фос-

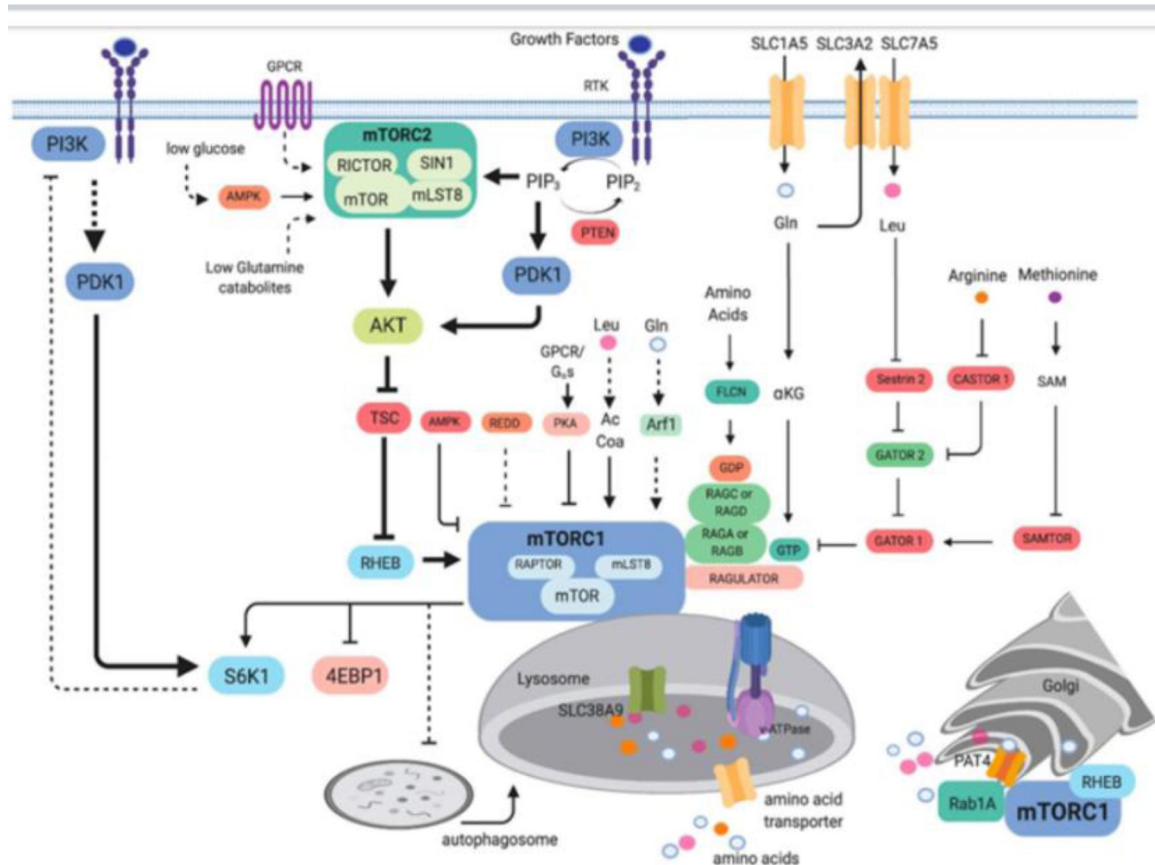


Рис. 3. Схема пути активации mTOR [6].
Fig. 3. Diagram of the mTOR signaling pathway [6].

фосфорилирование и активация АКТ, ключевого эффектора передачи сигналов инсулина – PI3K. Будучи активным, АКТ способствует выживанию, пролиферации и росту клеток через фосфорилирование и ингибирование нескольких ключевых субстратов, включая факторы транскрипции FoxO1 / 3a, метаболический регулятор GSK3 β и ингибитор mTORC1 TSC2. Наконец, mTORC2 также фосфорилирует и активирует SGK1, другую AGC-киназу, которая регулирует перенос ионов, а также выживание клеток [1].

Регуляция mTOR

Путь mTOR объединяет многочисленные сигналы окружающей среды, которые указывают, являются ли условия благоприятными для анаболических процессов. Клетки в многоклеточном организме должны объединять информацию как о локальной доступности питательных веществ и ресурсов, которые могут служить строительными материалами, так и о потребностях всего организма. Об этом свидетельствуют циркулирующие факторы, такие как гормоны. Путь передачи сигналов mTOR реагирует на стимулы, включая факторы роста, инсулин и IGF-1, уровни аминокислот и глюкозы, энергетический статус клеток и уровень кислорода [7]. Факторы роста и гормоны, такие как инсулин, регулируют передачу сигналов mTORC1 путем активации PI3K класса I и его нижележащего эффектора АКТ, который направляет ингибирующее действие комплекса TSC1 / TSC2 и PRAS40 на передачу сигналов mTORC1. Стимуляция PI3K класса I инициирует несколько каскадов селективной передачи сигналов, которые приводят к усилению роста и пролиферации клеток [8] (полное описание сигнализации данных каскадов изложено выше).

mTORC1 также может активироваться питательными веществами. Было описано, что индукция фосфорилирования S6K1 (рибосомальная киназа) и 4EBP1 (белок репрессор трансляции) аминокислотами зависит от mTORC1. Также доказано, что удаление аминокислот приводит к быстрому дефосфорилированию S6K1 и 4EBP1, тогда как добавление аминокислот защищает этот ответ чувствительным к рапамицину образом [8, 9]. Также существует предположение, что для регуляции mTORC1 с помощью аминокислот комплекс TSC1 / TSC2 не требуется, хотя Rheb-ГТФ в данном случае не обходится. Другой механизм, с помощью которого аминокислоты могут влиять на активность mTORC1, связан с PI3K класса III, hVps34 (сортировка вакуолярного белка человека-34) [6]. hVps34 активируется аминокислотами и участвует в направлении действия аминокислот на mTORC1. Неизвестно, передает ли hVps34 сигнал через Rheb или влияет непосредственно на mTORC1. Цитозольный лейцин и аргинин передают сигнал на mTORC1 через отдельный путь, состоящий из комплексов GATOR1 и GATOR2. GATOR1 состоит из DEPDC5 (5, содержащий домен DEP), Npr12 (регулятор азотной пермеазы – подобный белок 2) и Npr13 (регулятор азотной пермеазы – подобный белок 3) и ингибирует передачу сигналов mTORC1, действуя как GAP для RagA / B (см. рис. 2). Недавно идентифицированный комплекс KICSTOR

(состоящий из Kaptin, ITFG2, c12orf66 и SZT2) связывает GATOR1 с лизосомной поверхностью и необходим для соответствующего контроля пути mTORC1 питательными веществами. GATOR2, напротив, представляет собой пентамерный комплекс, состоящий из Mios, WDR24, WDR59, Seh1L и Sec13, и является положительным регулятором передачи сигналов mTORC1, который взаимодействует с GATOR1 на лизосомальной мембране. Важное понимание механизма цитозольного восприятия аминокислот пришло с идентификацией Sestrin2 как белка, взаимодействующего с GATOR2, который ингибирует передачу сигналов mTORC1 при аминокислотной депривации. Последующие биохимические и структурные анализы установили, что Sestrin2 является прямым сенсором лейцина перед mTORC1, который связывает и ингибирует функцию GATOR2 в отсутствие лейцина и диссоциирует от него при связывании лейцина. Кроме того, сродство Sestrin2 к лейцину определяет чувствительность передачи сигналов mTORC1 к лейцину, демонстрируя, что Sestrin2 является основным сенсором лейцина для mTORC1 в данном случае. Еще неизвестно, будут ли и в каких тканях колебаться концентрации лейцина в пределах соответствующего диапазона, который будет идентифицироваться Sestrin2 *in vivo*, поскольку уровни интерстициального или цитозольного лейцина неизвестны.

Интересно, что в другом недавнем исследовании обнаружено, что Sestrin2 транскрипционно индуцируется при длительном аминокислотном голодании через фактор транскрипции ATF4, чувствительный к стрессу, предполагая, что Sestrin2 действует как сенсор острого лейцина, а также как косвенный медиатор длительного аминокислотного голодания. Цитозольный аргинин также активирует mTORC1 через путь GATOR1 / 2-Rag, напрямую связывая недавно обнаруженный сенсор аргинина CASTOR1 (клеточный сенсор аргинина для mTORC1) [10]. Подобно Sestrin2, CASTOR1 связывает и ингибирует GATOR2 в отсутствие аргинина и диссоциирует при связывании аргинина, что позволяет активировать mTORC1. Таким образом, и лейцин, и аргинин стимулируют активность mTORC1, по крайней мере, частично, высвобождая ингибиторы GATOR2, устанавливая его в качестве центрального узла в передаче сигналов аминокислот к mTORC1 (рис. 3).

Другое исследование показало, что аминокислота глутамин, которая используется в качестве источника азота и энергии пролиферирующими клетками, активирует mTORC1 независимо от Rag ГТФазы через родственные семейства ГТФаз Arf [7]. Энергетический статус клетки также влияет на mTOR. В ответ на энергетическое голодание (низкий уровень АТФ) активность mTORC1 ингибируется за счет фосфорилирования TSC2 при помощи AMPK (АМФ-активируемая протеинкиназа). AMPK активируется LKB1 (киназа печени B1), которая непосредственно фосфорилирует активационную петлю и увеличивает активность AMPK. Существует предположение, что АКТ противодействует этому эффекту, поддерживая анаболизм, что сохраняет высокий уровень АТФ и низкий уровень активности

AMPK и приводит к ингибированию TSC2 и активации mTORC1. В ответ на энергетическое голодание клетки также увеличивают трансляционный уровень индуцируемого гипоксией гена REDD1 (регулятор ответа на образование и повреждение ДНК 1), который активирует TSC2 и ингибирует Rheb. Гипоксия также оказывает ингибирующее действие на активность mTORC1, частично опосредованное индукцией REDD1. Повышение транскрипции REDD1 во время гипоксии зависит от индуцируемого гипоксией фактора транскрипции HIF-1. Гипоксия также может ингибировать mTORC1 независимо от REDD1 и HIF-1 посредством индукции энергетического стресса. Путь AMPK – TSC2 – Rheb активируется при низких уровнях кислорода, что приводит к ингибированию mTORC1 [8].

Помимо активации с помощью PI3K и AMPK, передача сигналов RAS – MAPK также запускает активацию передачи сигналов mTORC1. Белки RAS (H-, K- и N-RAS) действуют как регулируемый ГДФ – ГТФ переключатель и могут играть важную роль как онкобелки. В нормальных покоящихся клетках RAS связан с ГДФ и неактивен. При стимуляции факторами роста, гормонами или цитокинами активированная ГТФ-связанная форма RAS активирует киназу RAF. После активации RAF фосфорилирует и активирует MEK, который активирует путь ERK – RSK. ERK фосфорилирует как цитозольные, так и ядерные субстраты, что приводит к регуляции экспрессии генов, цитоскелета и метаболического ремоделирования. ERK и RSK индуцируют ингибирующее фосфорилирование TSC2 по Ser664 и Ser1798, что способствует диссоциации TSC1 / TSC2, что, в свою очередь, приводит к активации mTORC1. Недавно было описано, что RSK также напрямую действует на комплекс mTORC1 путем фосфорилирования Raptor и тем самым способствует активации mTORC1 [11]. Поскольку промотирующие опухоль сложные эфиры фторбола и некоторые факторы роста активируют mTORC1 независимо от АКТ, фосфорилирование Raptor с помощью RSK может обеспечить механизм преодоления ингибирующих эффектов PRAS40. Кроме того, ERK-активированные протеинкиназы MNK1 и MNK2 (MAPK-взаимодействующие протеинкиназы 1 и 2) непосредственно фосфорилируют eIF4E (фактор инициации трансляции эукариот 4E). Это может указывать на то, что митогены, активирующие передачу сигналов RAS-ERK-RSK, параллельно с путем PI3K-АКТ, содержат несколько путей стимуляции передачи сигналов mTORC1 [8, 12]. Цитокины, такие как TNF α (фактор некроза опухоли α), также могут активировать mTORC1. Было описано, что IKK β (ингибитор киназы ядерного фактора κ B (NF κ B) β), основная нижестоящая киназа в сигнальном пути TNF α , фосфорилирует TSC1 по Ser487 и Ser511, что приводит к ингибированию образования комплекса TSC1 / TSC2 и активации mTORC1. Более того, TNF α также сигнализирует о АКТ. Активированный АКТ индуцирует IKK α , другую основную нижестоящую киназу в сигнальном пути TNF α . Было описано, что IKK α связывается с mTORC1 АКТ-зависимым образом. Важно отметить, что IKK α необходим для эффективной индукции активности mTORC1 с помощью АКТ в клеточных линиях [8].

Хотя активность mTORC1 подвержена мультифакторной положительной и отрицательной регуляции, управляемой внеклеточными факторами роста и стрессовыми стимулами, механизмы регуляции mTORC2 остаются в значительной степени неизвестными. В клетках млекопитающих mTORC2 фосфорилирует АКТ при стимуляции сывороткой, а именно факторами роста, такими как инсулин и IGF1 (инсулиноподобный фактор роста 1), предполагая, что mTORC2 регулируется путем PI3K. Тем не менее механизм, с помощью которого инсулин или другие факторы роста активируют mTORC2, неясен. Недавнее исследование доказывает, что факторы роста могут передавать сигнал mTORC2 через комплекс TSC1 / TSC2. Существует предположение, что комплекс TSC1 / TSC2, вышестоящий негативный регулятор mTORC1, также может связываться и регулировать активность mTORC2 путем прямого связывания с mTORC2. В отличие от негативной регуляции mTORC1, TSC1 / TSC2, по-видимому, регулирует позитивно активность mTORC2 GAP-независимым образом. ГТФаза Rheb, которая является нижестоящей по отношению к TSC1 / TSC2 и активирует mTORC1, по-видимому, не проявляет активности к mTORC2. Поскольку активность TSC1 / TSC2 GAP не требуется для активации mTORC2, она не зависит от активации mTORC1 и от петли отрицательной обратной связи mTORC1 и S6K1 к вышестоящему IRS [11].

Таким образом, путь mTOR может быть активирован различными экзогенными стимулами, такими как факторы роста, питательные вещества, сигналы энергии и стресса, а также важные сигнальные пути, такие как PI3K, MAPK и AMPK, чтобы регулировать несколько физиологических процессов.

Роль в метаболизме

Чтобы расти и делиться, клетки должны увеличивать производство белков, липидов и нуклеотидов, а также подавлять катаболические пути, такие как аутофагия. mTORC1 играет центральную роль в регулировании всех этих процессов и, следовательно, контролирует баланс между анаболизмом и катаболизмом в ответ на условия окружающей среды.

Одной из ведущих ролей mTOR является участие в синтезе белка. mTORC1 способствует синтезу в основном за счет фосфорилирования двух ключевых эффекторов, p70S6 киназы 1 (S6K1) и связывающего белка eIF4E (4EBP). mTORC1 непосредственно фосфорилирует S6K1 по его сайту гидрофобного участка, Thr389, делая возможным его последующее фосфорилирование и активацию PDK1(3-фосфоинозитид-зависимая протеинкиназа-1). S6K1 фосфорилирует и активирует несколько субстратов, которые способствуют инициации трансляции мРНК, включая eIF4B, позитивный регулятор 5'кэп-связывающего комплекса eIF4F (фактор инициации трансляции эукариот 4F) [13]. S6K1 также фосфорилирует и способствует деградации PDCD4, ингибитора eIF4B (фактор инициации трансляции эукариот 4B), и повышает эффективность трансляции сплайсированных мРНК за счет взаимодейст-

вия с SKAR, компонентом комплексов соединения экзонов [14].

Субстрат mTORC1 4EBP не связан с S6K1 и ингибирует трансляцию путем связывания и секвестирования eIF4E для предотвращения сборки комплекса eIF4F. mTORC1 фосфорилирует 4EBP по множеству сайтов, чтобы запустить его сепарацию от eIF4E, позволяя происходить 5'кэп-зависимой трансляции Mrnk [15]. Хотя давно известно, что передача сигналов mTORC1 регулирует трансляцию mPHK, вопрос о том, влияет ли она на определенные классы транскриптов mPHK и каким образом, остается открытым.

mTORC1 также способствует росту клеток, подавляя катаболизм белков, в первую очередь аутофагию. Важным ранним шагом в аутофагии является активация ULK1 (киназа, участвующая в аутофагии), киназы, которая образует комплекс с ATG13, FIP200 и ATG101 и управляет образованием аутофагосом. В условиях избытка питательных веществ mTORC1 фосфорилирует ULK1, тем самым предотвращая его активацию с помощью AMPK, ключевого активатора или аутофагии [16]. Относительная активность mTORC1 и AMPK в разных клеточных контекстах во многом определяет степень индукции аутофагии. mTORC1 также частично регулирует аутофагию путем фосфорилирования и ингибирования ядерной транслокации транскрипционного фактора TFEB, который управляет экспрессией генов лизосомного биогенеза и аппарата аутофагии.

Второй основной путь, отвечающий за оборот белков, – это убиквитин-протеасомная система (UPS), посредством которой белки избирательно нацелены на деградацию протеасомой 20S после ковалентной модификации убиквитином. Два недавних исследования показали, что острое ингибирование mTORC1 быстро увеличивает протеасомно-зависимый протеолиз либо за счет общего увеличения убиквитилирования белка, либо за счет увеличения количества протеасомных шаперонов за счет ингибирования Erk5. Однако другое исследование обнаружило, что генетическая гиперактивация передачи сигналов mTORC1 также увеличивает протеасомную активность за счет повышенной экспрессии протеасомных субъединиц ниже Nrf1 (Ядерный респираторный фактор 1) [17]. Одно из возможных объяснений этого несоответствия заключается в том, что, хотя острое ингибирование mTORC1 способствует протеолизу для восстановления пулов свободных аминокислот, продолжительная активация mTORC1 также запускает компенсаторное увеличение оборота белка, чтобы сбалансировать повышенную скорость синтеза белка. Кроме того, mTOR участвует в обмене глюкозы и инсулина. mTORC1 стимулирует рост, способствуя сдвигу метаболизма глюкозы от окислительного фосфорилирования к гликолизу, что, вероятно, способствует включению питательных веществ в новую биомассу. mTORC1 увеличивает трансляцию фактора транскрипции HIF1 α , который управляет экспрессией нескольких гликолитических ферментов, таких как фосфофруктокиназа (PFK). Кроме того, mTORC1-зависимая активация SREBP приводит к

увеличению потока через окислительный пентозофосфатный путь (PPP), который использует углерод из глюкозы для выработки NADPH и других промежуточных метаболитов, необходимых для пролиферации и роста [17]. Когда уровень глюкозы в крови падает, печень активирует компенсаторную реакцию, включающую индукцию аутофагии, глюконеогенез и высвобождение альтернативных источников энергии в виде кетоновых тел. Например, мыши с печеночно-специфической делецией гамартина (TSC1), у которых постоянно активировалась передача сигналов mTORC1, не могли генерировать кетоновые тела во время голодания из-за устойчивого mTORC1-зависимого подавления PPAR α , активатора транскрипции кетогенных генов. Важность ингибирования mTORC1 в печени во время голодания также наблюдалась у мышей поколения с «нокаутом» конститутивно активного аллеля RagA (RagAGTP) телом. Однако эти мыши быстро умирали после рождения из-за неспособности поддерживать уровень глюкозы в крови. Дальнейший анализ показал, что устойчивая активность mTORC1 в течение периода голодания предотвращает индукцию аутофагии в печени, которая имеет решающее значение для обеспечения свободных аминокислот для глюконеогенеза. В результате мыши RagAGTP обнаруживают фатальную гипогликемию в ответ на голодание, что согласуется со сходным фенотипом у мышей с дефицитом аутофагии [18]. Этот двухфазный эффект передачи сигналов mTORC1 напоминает индуцированное диетой (тип 2) прогрессирование диабета, при котором β -клетки поджелудочной железы сначала разрастаются и производят больше инсулина, чтобы компенсировать повышенную гликемическую нагрузку, но в конечном итоге истощаются [19]. То, что гиперактивация mTORC1 в результате генетических или диетических манипуляций приводит к инсулинорезистентности, заставило многих предположить, что ингибиторы mTORC1 могут улучшить толерантность к глюкозе и защитить от диабета 2 типа. Однако, как ни парадоксально, хроническое фармакологическое ингибирование mTORC1 с помощью рапамицина имеет противоположный эффект, вызывая инсулинорезистентность и нарушение гомеостаза глюкозы. Этот результат частично объясняется тем фактом, что длительное лечение рапамицином также ингибирует передачу сигналов и mTORC2. Поскольку mTORC2 непосредственно активирует Akt ниже передачи сигналов инсулина-PI3K, неудивительно, что ингибирование mTORC2 нарушает физиологический ответ на инсулин [19]. В соответствии с этим, мыши с нокаутом Rictor, специфичным для печени, имеют тяжелую инсулинорезистентность и непереносимость глюкозы, как и мыши, у которых отсутствует Rictor в мышцах или жировой ткани. В отличие от mTORC1, mTORC2 в первую очередь функционирует как эффектор передачи сигналов инсулин-PI3K. Подобно большинству белков, регулируемых PI3K, субъединица mTORC2 mSin1 содержит фосфоинозитид-связывающий домен PH, который является критическим для инсулинозависимой регуляции активности mTORC2. PH домен mSin1 ингибирует каталитическую активность mTORC2 в отсутствие инсулина, и это аутоин-

гибирование снимается при связывании с PI3K-генерируемым PIP3 на плазматической мембране. mSin1 также может подвергаться фосфорилированию с помощью AKT, подтверждая существование петли положительной обратной связи, посредством которой частичная активация Akt способствует активации mTORC2, который, в свою очередь, фосфорилирует и полностью активирует AKT. Другое исследование обнаружило, что PI3K способствует ассоциации mTORC2 с рибосомами, чтобы активировать его киназную активность.

Помимо глюкозозависимого высвобождения инсулина, кормление также приводит к повышению уровня аминокислот в сыворотке крови из-за переваривания пищевых белков. Поскольку аминокислоты являются не только незаменимыми строительными блоками белков, но также источниками энергии и углерода для многих других метаболических путей, активация mTORC1 тесно связана с изменениями концентраций аминокислот, вызванными диетой. Как и в случае метаболизма глюкозы, передача сигналов mTOR влияет на многие аспекты метаболизма глутамина. С другой стороны, mTOR также чувствителен к колебаниям глутамина, и на его активность влияют нарушения метаболизма аминокислоты, которая поступает из окружающей среды через транспортеры, включая Slc1A5 (ASCT2), Slc38A1, Slc38A2 или Slc38A5. Экспрессия этих транспортеров повышается при многих типах рака. Slc1A5 является основным переносчиком глутамина в большинстве клеток. Нокаут ASCT2 снижает активность mTORC1 и рост опухоли [20]. Хотя отсутствие Slc1A5 существенно не снижает внутриклеточные уровни Gln или Glu, оно нарушает приток лейцина и снижает уровни других аминокислот, критических для окислительно-восстановительного гомеостаза. Лейцин, незаменимая аминокислота, попадает в клетку посредством встречного транспорта с Gln. Экспрессия гетеродимерного антипортера глутамина Slc7A5 / Slc3A2 (LAT / CD98) связана с повышенной активностью mTORC1 при раке. Еще одну важную роль mTOR оказывает метаболизм липидов. Раковые клетки подвергаются усиленному синтезу липидов. Повышается производство жирных кислот и холестерина для биосинтеза мембран и сигнальных молекул. Липиды клеточных мембран, включая фосфолипиды, стерин, сфинголипиды и лизофосфолипиды, частично являются производными ацетил-КоА. Основным регулятором транскрипции генов, связанных с метаболизмом липидов, является семейство факторов транскрипции белков, связывающих регуляторный элемент стерола (SREBP). Среди генов-мишеней SREBP есть АТФ-цитратлиаза (ACLY), ацетил-КоА-карбоксилаза 1 (ACC1), синтаза жирных кислот (FASN), стеарил-КоА-десатураза 1 (SCD) и переносчики жирных кислот. SREBP перемещается в ядро, чтобы вызвать транскрипцию его генов-мишеней. mTOR модулирует SREBP и другие регуляторы и эффекторы липидного обмена [21]. Рапамицин блокирует экспрессию генов, участвующих в липогенезе, и предотвращает накопление SREBP в ядре. SREBP синтезируются как неактивные предшественники, которые находятся в эндоплазматическом

ретикулуме и перемещаются в ядро после обработки аппарата Гольджи. Эта активная процессированная форма индуцирует транскрипцию SRE-содержащих генов.

Таким образом, этап обработки чувствителен к уровням стерола и контролируется сигнализацией mTORC1. Усиление процессированных форм SREBP1 происходит в TSC-дефицитных клетках. S6K1 также регулирует обработку SREBP. mTORC1 может также регулировать SREBP посредством негативной регуляции липина 1, фосфатазы фосфатидной кислоты, которая подавляет активность SREBP. При фосфорилировании липина 1 накапливается в ядре и подавляет транскрипцию SREBP-зависимого гена. Передача сигналов mTORC1 необходима для активации SREBP 1 и синтеза липидов в печени. mTORC2 также необходим для активации и липогенеза SREBP1c, но может способствовать усиленному синтезу сфинголипидов и глицерофосфолипидов, что приводит к стеатозу печени и гепатоцеллюлярной карциноме.

mTOR оказывает стимулирующее пролиферации адипоцитов и синтеза липидов в ответ на питание и инсулин. mTORC1 способствует адипогенезу и усилению липогенеза в культуре клеток и, что соответствует адипоцит-специфическим мышам с нокаутом хищников (Ad-Rap KO), демонстрирующим липодистрофию и стеатоз печени. Однако роль mTORC1 в жировой ткани осложняется тем фактом, что мыши Ad-Rap KO также устойчивы к ожирению, вызванному диетой, из-за снижения адипогенеза. Потеря активности mTORC2 в адипоцитах в первую очередь приводит к инсулинорезистентности из-за снижения активности AKT, но также и к меньшему синтезу липидов, отчасти из-за снижения экспрессии ChREBP β , основного фактора транскрипции для липогенных генов. Было также показано, что mTORC2 способствует липогенезу в печени, что предполагает общую роль mTORC2 в синтезе липидов [19].

Третьей, но не менее важной ролью mTOR является воздействие на иммунную систему. Механически mTORC1 способствует переключению в сторону анаболического метаболизма, необходимого для активации и размножения Т-клеток, и находится ниже нескольких активирующих сигналов, присутствующих в иммунном микроокружении, включая IL-2, костимуляторный рецептор CD28, а также аминокислоты. Интересно, что ингибирование mTORC1 во время презентации антигена приводит к анергии Т-клеток, в результате чего клетки не могут активироваться при последующем воздействии антигена [20]. Поскольку индукция анергии Т-клеток посредством истощения питательных веществ или других ингибирующих сигналов является механизмом, используемым опухолями для уклонения от иммунитета, эти данные предполагают, что стимулирование активации mTORC1 в иммунных клетках может участвовать в иммунотерапии рака. Недавние исследования также обнаружили роль mTORC1 во влиянии на созревание Т-клеток, поскольку рапамицин способствует дифференцировке и размножению регуляторных Т-клеток CD4 + FoxP3 + и Т-клеток памяти CD8 +, подавляя популяции эф-

факторных Т-клеток CD8⁺ и CD4⁺, что согласуется с метаболическими профилями типов этих клеток. Во время асимметричного деления активированных CD8⁺ Т-клеток высокая активность mTORC1 высока в «эффакторно-подобной» дочерней клетке, но низкая в «подобной памяти» дочерней клетки из-за асимметричного разделения переносчиков аминокислот [22]. Учитывая текущее клиническое использование ингибиторов mTOR как при иммуносупрессии, так и при раке, более полное понимание того, как передача сигналов mTOR влияет на общие иммунные ответы *in vivo*, будет важной целью в будущем.

mTOR также стал важным регулятором множества неврологических процессов, включая нервное развитие, формирование цепей и нервную регуляцию питания. Делеция Raptor или Rictor в нейронах вызывает уменьшение размера нейронов и раннюю смерть, предполагая, что передача сигналов как mTORC1, так и mTORC2 важна для правильного развития мозга. И наоборот, влияние гиперактивной передачи сигналов mTORC1 в головном мозге лучше всего наблюдается у людей с комплексом туберозного склероза (TSC), у которых проявляется ряд изнурительных неврологических расстройств, включая эпилепсию, аутизм и наличие доброкачественных опухолей головного мозга. Тот факт, что гиперактивация mTORC1 у пациентов с TSC коррелирует с высокой частотой эпилептических приступов (90 % пациентов с TSC) и аутистическими особенностями (50 %), предполагает, что нарушение регуляции передачи сигналов mTORC1 также может быть вовлечено в эпилепсию и аутизм в целом. Гиперактивация mTORC1 у мышей из-за нервной потери *Tsc1* или *Tsc2* приводит к тяжелым эпилептическим приступам, которые предотвращаются лечением рапамицином [23].

Важность mTORC1 в этой ткани частично проистекает из его роли в обеспечении зависимой от активности трансляции мРНК вблизи синапсов, что является критическим шагом в формировании нейронной цепи. В соответствии с этим антагонист рецепторов NMDA кетамин резко активирует передачу сигналов mTORC1 в нейронах мышей, что совпадает с повышенной трансляцией синаптических белков. Роль mTORC1 в регуляции аутофагии, вероятно, также важна, поскольку дисфункция аутофагии сильно вовлечена в патогенез нейродегенеративных расстройств, включая болезни Паркинсона и Альцгеймера (AD) [24]. Ингибирование передачи сигналов mTOR оказывает благотворное влияние на мышечные модели AD.

Роль в регуляции продолжительности жизни

Передача сигналов mTOR глубоко вовлечена в процесс старения. Впервые это наблюдалось в ходе исследований на нематоде *C. elegans*, при этом было обнаружено, что снижение экспрессии гомологов mTOR (*ceTOR*, ранее *let-363*) или Raptor (*daf-15*) увеличивает продолжительность жизни. Последующие генетические исследования показали, что снижение передачи сигналов TOR также способствует долголетию у *Drosophila*, у мышей [25]. В соответствии с этим ингибитор mTOR рапамицин в настоящее время является единственным

фармакологическим препаратом, который, как доказано, продлевает продолжительность жизни у всех этих модельных организмов.

Передача сигналов mTORC1 увеличивается при многих возрастных заболеваниях и патологиях, включая рак, и может быть связана с синдромом прогерии Хатчинсона-Гилфорда (HGPS), который связан с доминантной мутацией сайта сплайсинга в гене LMNA и напоминает преждевременное старение. Cao et al. продемонстрировали, что обработка рапамицином фибробластов пациентов с HGPS приводит к восстановлению ядерной структуры, уменьшению токсичных агрегатов прогерина и усилению аутофагии. У мышей с прогерией Хатчинсона-Гилфорда, у которых развивается ряд патологий, включая мышечную дистрофию, липодистрофию, дилатационную кардиомиопатию и периферическую невропатию, передача сигналов mTORC1 повышена в определенных тканях, а рапамицин может частично спасти патологию болезни, по крайней мере, в сердце и скелетных мышцах [26]. Хотя вклад повышенной передачи сигналов mTORC1 в фенотипы HGPS у людей еще предстоит определить, эти захватывающие результаты послужили толчком к началу клинических испытаний аналога рапамицина эверолимуса для лечения HGPS. Интересен вопрос, усиливается ли передача сигналов mTORC1 при здоровом старении. В то время как ряд исследований выявили, что фосфорилирование субстрата mTORC1 увеличивается с возрастом в отдельных тканях грызунов, более всесторонние исследования показали, что старение увеличивает передачу сигналов mTORC1 только в некоторых тканях, а в каких-то тканях передача сигналов mTORC1 даже снижается с возрастом [27]. Человеческие данные ограничены, но профили транскрипции крови человека предполагают возрастное снижение передачи сигналов mTOR, в то время как фосфопротеомные данные о скелетных мышцах неоднозначны. В совокупности эти данные предполагают, что, хотя передача сигналов mTORC1 может быть повышена в избранных тканях молодых старых животных, передача сигналов mTORC1 обычно не становится гиперактивной с возрастом. Сильный эффект рапамицина на продолжительность жизни предполагает, что даже нормальные уровни передачи сигналов mTORC1 могут быть неадекватно высокими для поддержания здоровья стареющих клеток и тканей.

Вмешательство, показанное для увеличения продолжительности жизни у такого широкого круга организмов, — это ограничение калорийности (CR), определяемое как сокращение потребления питательных веществ. Учитывая критическую роль mTORC1 в обнаружении питательных веществ и инсулина, это позволило задуматься, что положительное влияние CR на продолжительность жизни также связано с уменьшением передачи сигналов mTORC1. Действительно, CR-подобные схемы не увеличивают продолжительность жизни с пониженной передачей сигналов mTOR, что предполагает перекрывающийся механизм. Хотя сейчас существует общий консенсус, что передача сигналов mTOR играет ключевую роль в старении млекопитающих,

однако механизм, посредством которого это происходит, все еще неясен. Несколько линий доказательств предполагают, что общее снижение трансляции мРНК во время ингибирования mTORC1 замедляет старение за счет уменьшения накопления протеотоксического и окислительного стресса, что согласуется с наблюдением, что потеря субстрата mTORC1 S6K1 также увеличивает продолжительность жизни у млекопитающих. Связанная с этим возможность заключается в том, что ингибирование mTORC1 замедляет старение за счет увеличения аутофагии, которая помогает очистить поврежденные белки и органеллы, такие как митохондрии, накопление которых также связано со старением и связанными со старением заболеваниями. Другая модель предполагает, что ослабление взрослых стволовых клеток в различных тканях играет центральную роль в старении организма. Снижение количества и функции стволовых клеток может быть критической причиной возрастной дисфункции тканевого гомеостаза. Следовательно, рапамицин восстанавливает самообновление и гемопоэз HSC, что позволяет эффективно вакцинировать старых мышей против летального заражения вирусом гриппа [26]. Таким образом, хотя ингибирование mTORC1 явно увеличивает общую продолжительность жизни, оно может оказывать положительные и отрицательные эффекты на стволовые и иммунные клетки, что может по-разному влиять на старение.

Наблюдение за тем, что ингибирование mTOR увеличивает продолжительность жизни и задерживает начало возрастных заболеваний у млекопитающих, привело многих исследователей к предположениям о том, что ингибиторы mTOR могут использоваться для увеличения продолжительности жизни у людей. Однако основным недостатком длительного лечения рапамицином у людей является возможность побочных эффектов, таких как иммуносупрессия и непереносимость глюкозы. Учитывая, что многие негативные метаболические побочные эффекты, связанные с ингибиторами mTOR, связаны с ингибированием mTORC2, в то время как эффекты против старения обусловлены ингибированием mTORC1, разработка специфических ингибиторов mTORC1 была бы особенно полезной.

Однако не стоит и забывать про секрецию провоспалительных медиаторов стареющими клетками, что способствует старению – секреторный фенотип, связанный со старением (SASP). Недавние данные идентифицировали главную роль mTORC1 в продвижении SASP. Рапамицин притупляет провоспалительный фенотип стареющих клеток, специфически подавляя трансляцию мембраносвязанного цитокина IL1A. Это уменьшение IL1A снижает транскрипцию воспалительных генов, регулируемых провоспалительными факторами транскрипции NF-κB. Параллельно mTOR контролирует трансляцию MK2, который, в свою очередь, фосфорилирует РНК-связывающий белок ZFP36L1 во время старения. Это фосфорилирование ZFP36L1 подавляет его способность расщеплять транскрипты многих компонентов SASP. Таким образом, рапамицин активирует ZFP36L1, чтобы вызвать деградацию компонента SASP [28]. Причина актива-

ции mTORC1 в стареющих клетках может быть связана с дефектами восприятия аминокислот и факторов роста. Стареющие фибробласты человека, вызванные стрессом, репликативным истощением или активацией онкогенов, демонстрируют конститутивную активацию mTORC1, которая устойчива к сывороточному и аминокислотному голоданию. Это частично опосредовано деполяризацией плазматической мембраны, приводящей к неспособности отменить передачу сигналов фактора роста. Более того, усиление аутофагии обеспечивает высокий уровень аминокислот для поддержки активации mTORC1. Кроме того, два белка, важные для репарации повреждений ДНК, O-6-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза (MGMT) и нижестоящий регулируемый N-мус ген 1 (NDRG1), негативно регулируются mTORC1 у стареющих мышей и клеток [21]. Эти результаты в целом указывают на то, что ингибиторы mTORC1 ингибируют SASP посредством различных взаимоисключающих механизмов.

Можно сделать вывод, что несмотря на сохранение не делящегося состояния, стареющие клетки демонстрируют высокую скорость метаболизма. Метаболические изменения, характерные для репликативного старения, часто показывают сдвиг в сторону гликолитического метаболизма, в сторону от окислительного фосфорилирования (что также наблюдается в пролиферативных клетках), несмотря на заметное увеличение митохондриальной массы и маркеров митохондриальной активности. Это может быть связано с повышением pH лизосом в результате отказа протонной помпы, что приводит к неспособности избавляться от поврежденных органелл, таких как митохондрии, из-за отказа аутофагии. Дисфункциональные митохондрии, не очищенные аутофагией в стареющих клетках, производят активные формы кислорода (АФК), которые вызывают повреждение клеток, включая повреждение ДНК. mTORC1 был постулирован как главный двигатель этих метаболических изменений. Следовательно, лечение рапамицином предотвращает метаболический стресс и замедляет клеточное старение.

Роль в онкологии

Учитывая ключевую роль mTOR в росте и метаболизме клеток, вполне предсказуемо существование связи между активностью пути mTOR и патологическими состояниями, включая рак.

Активация передачи сигналов mTOR участвует в формировании некоторых видов рака. В ряде клеточных линий *in vitro* и моделей ксенотрансплантатов мышей *in vivo* aberrантная активация пути mTOR посредством стимуляции онкогенов или потери опухолевых супрессоров способствует росту опухоли, ангиогенезу и метастазированию. Мутации в гене mTOR, которые обеспечивают конститутивную активацию передачи сигналов mTOR, даже в условиях нехватки питательных веществ, были идентифицированы в нескольких случаях рака человека, хотя явно не связаны с развитием опухоли. mTORC1 действует как нижестоящий эффектор для многих часто мутирующих онкогенных путей, включая путь PI3K - AKT, а также путь Ras - Raf - Mek - Erk

(MAPK), что приводит к гиперактивации mTORC1 в большом проценте случаев рака человека. Кроме того, обычные опухолевые супрессоры TP53 и LKB1 являются негативными регуляторами mTORC1 выше TSC1 и TSC2, которые также являются опухолевыми супрессорами, первоначально идентифицированными посредством генетического анализа TSC синдрома семейного рака. Некоторые компоненты входящего в mTORC1 восприятия питательных веществ также участвуют в прогрессировании рака, которые мутируют с низкой частотой в глиобластоме [29], а также RagC, который недавно был обнаружен с высокой частотой (~ 18 %) мутациями при фолликулярной лимфоме. Кроме того, мутации в гене, кодирующем фолликулин (FLCN), являются причиной повреждения синдрома наследственного рака Бирта-Хогга-Дьюба, проявляющегося аналогично TSC. Наконец, мутации самого mTOR могут обнаруживаться во множестве подтипов рака, что согласуется с ролью mTOR в онкогенезе.

Передача сигналов mTORC2 также участвует в развитии рака в значительной степени из-за его роли в активации AKT, которая управляет пролиферативными процессами, такими как поглощение глюкозы и гликолиз, а также ингибирует апоптоз. Действительно, по крайней мере, некоторые опухоли, управляемые PI3K / AKT, по-видимому, зависят от активности mTORC2, поскольку Rictor важен в мышечных моделях рака простаты, вызванного потерей PTEN, а также в клеточных линиях рака простаты человека, в которых отсутствует PTEN [30]. Передача сигналов PI3K - AKT нарушается посредством различных механизмов, включая сверхэкспрессию или активацию рецепторов фактора роста, таких как HER-2 (рецептор 2 эпидермального фактора роста человека) и IGF1R (рецептор инсулиноподобного фактора роста), мутации в PI3K и мутации / амплификации AKT.

PTEN, негативный регулятор передачи сигналов PI3K, снижает его экспрессию при многих раковых заболеваниях и может подавляться с помощью нескольких механизмов, включая мутации, потерю гетерозиготности, метилирование, абберантную экспрессию регуляторных микроРНК и нестабильность белка. Кроме того, активация сигнальных путей AKT / mTOR играет роль в инициации опухолей меланоцитов, модулируя внеклеточные сигналы, которые контролируют рост, пролиферацию и апоптоз клеток.

Утрата PTEN, негативного регулятора пути PI3K, была описана у 30–50 % пациентов с меланомой и коррелирует с прогрессированием меланомы и более короткой 5-летней выживаемостью. Исследования клеточных линий меланомы и первичных или метастатических меланом показали, что нарушение PTEN за счет аллельной потери или мутации вносит вклад в патогенез злокачественной меланомы. Потеря активации PTEN и RAS кажется сопоставимой по их способности увеличивать онкогенную передачу сигналов через путь PI3K из-за сосуществования соматических мутаций PTEN в меланоме, несущей мутации BRAF, но не с NRAS [11]. Амплификация гена AKT, обусловленная увеличением числа копий в длинном плече хромосомы

1 и активирующей мутацией, также была описана при кожных меланомах. Иммуногистохимические исследования описали сверхэкспрессию AKT в 60 % меланом, в отличие от обычных и диспластических невусов, которые не проявляют значительной экспрессии AKT. Среди трех изоформ AKT, AKT3 является изоформой, чаще нарушаемой в клетках меланомы. При меланоме повышенная экспрессия pAKT ассоциируется с прогрессированием опухоли и сокращением выживаемости пациентов. Примечательно, что активность AKT кооперируется в BRAFV600E-опосредованной модели развития меланомы [31]. Было описано, что PRAS40, субстрат AKT, подавляется при меланоме. Есть также доказательства того, что путь AKT - mTOR изменен при развитии увеальной меланомы. PTEN демонстрирует сниженную экспрессию в агрессивных опухолях, а экспрессия AKT, фосфорилированной по Ser473, была предложена как маркер худшего прогноза. Кроме того, результаты указывают на то, что путь mTOR активируется при меланоме глаза и связан с активацией пути MAPK [8]. В целом, изменения в основных компонентах MAPK, таких как мутации BRAF и NRAS, а также пути mTOR, потеря PTEN и избыточная экспрессия AKT, по-видимому, оказывают существенное влияние на прогрессирование меланомы, поскольку оба пути связаны с выживаемостью и сохранением химиотерапии при меланоме.

Последующие эффекторы mTOR S6K1, 4EBP1 и eIF4E вовлечены в клеточную трансформацию, и с их избыточной экспрессией связан негативный прогноз рака. Активированная передача сигналов mTOR также связана с развитием синдромов, включая синдром Каудена (мутации PTEN), синдром Пейтца-Егерса (мутации LKB1) и комплекс tuberозного склероза (мутации TSC1 / 2). Эти синдромы, при которых у пациентов развиваются доброкачественные опухоли, содержащие архитектурно дезорганизованные, но хорошо дифференцированные клетки, влияют на широкий спектр тканей, включая мозг, кожу, почки, сердце, легкие и ЖКТ [12]. Стоит учитывать, что эти синдромы могут прогрессировать до злокачественных новообразований. Таким образом, передача сигналов mTOR активируется в условиях нарушения регуляции пролиферации и при многих типах рака. Сообщалось о нарушении регуляции нескольких элементов пути mTOR (амплификация / мутация PI3K, потеря функции PTEN, сверхэкспрессия AKT и сверхэкспрессия S6K1, 4EBP1 и eIF4E) при раке, таком как рак груди, яичников, почек, толстой кишки, головы и шеи. Взятые вместе, эти данные подчеркивают важность передачи сигналов mTOR в онкологии.

Выводы

mTOR оказывает влияние на все виды метаболизма, а также определяет продолжительность жизни клеток и пути их дифференцировки. Сейчас перед нами открываются перспективы создания препаратов, влияющих на продолжительность жизни, так как влияние на экспрессию mTOR остается единственным фармакологическим вмешательством, которое проявляет эффективность в организ-

мах всех протестированных лабораторных животных. Определение точных механизмов, при которых ингибирование mTOR способствует долголетию и сокращает возрастные заболевания, имеет не только научное, но также социально-экономическое значение.

Открытие пути mTOR позволяет понять природу того, как опухолевые клетки перепрограммируют свой метаболизм, чтобы получать питательные вещества, необходимые для их роста и размножения. На сегодняшний день исследования показывают, что опухолевые клетки обладают и гетерогенной метаболической уязвимостью, что открывает новый путь для эффективной и специфической терапии.

Литература – References

1. The mammalian target of rapamycin (mTOR) partner, raptor, binds the mTOR substrates p70 S6 kinase and 4E-BP1 through their TOR signaling (TOS) motif / *H. Nojima, C. Tokunaga, S. Eguchi, N. Oshiro et al* // *J. Biol. Chem.* 2003. № 278(18). P.15461–15465.
2. DEPTOR is an mTOR inhibitor frequently overexpressed in multiple myeloma cells and required for their survival / *T. Peterson, M. Laplante, C. Thoreen, Y. Sancak et al* // *Cell.* 2009. № 137(5). P. 873–888.
3. *Saxton R., Sabatini D.* mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease // *Cell.* 2017. № 168(6). P.960–976.
4. *Weichhart T.* mTOR as Regulator of Lifespan, Aging, and Cellular Senescence: A Mini-Review // *Gerontology.* 2017. № 84(2). P. 127–134.
5. *Populo H., Soares P., Faustino A., Rocha A. et al.* mTOR pathway activation in cutaneous melanoma is associated with poorer prognosis characteristics // *Pigment Cell Melanoma Res.* 2011. № 24. P.254–257.
6. Amino acids mediate mTOR/raptor signaling through activation of class 3 phosphatidylinositol 3OH-kinase / *T. Nobukuni, M. Joaquin, M. Roccio, S. Dann et al.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. № 102(40). P.14238–14243.
7. *Kennedy B., Lamming D.* The Mechanistic Target of Rapamycin: The Grand Conductor of Metabolism and Aging // *Cell Metab.* 2016. № 23(6). P.990–1003.
8. *Pypulo H., Lopes J., Soares P.* The mTOR signalling pathway in human cancer // *Int. J. Mol. Sci.* 2012. № 13(2). P.1886–1918.
9. *Kimball S., Jefferson L.* Signaling pathways and molecular mechanisms through which branched-chain amino acids mediate translational control of protein synthesis // *J. Nutr.* 2006. № 136(1 Suppl). P.227–231.
10. GCN2 sustains mTORC1 suppression upon amino acid deprivation by inducing Sestrin2 / *J. Ye, W. Palm, M. Peng, B. King, T. Lindsten, M. Li* // *Genes Dev.* 2015. № 29(22). P.2331–2336.
11. The TSC1-TSC2 complex is required for proper activation of mTOR complex 2 / *J. Huang, C. Dibble, M. Matsuzaki, B. Manning* // *Mol. Cell. Biol.* 2008. № 28(12). P.4104–4115.
12. "Sex- and tissue-specific changes in mTOR signaling with age in C57BL/6J mice" / *E. Baar, K. Carbajal, I. Ong, D. Lamming* // *Aging Cell.* 2016. № 15(1). P.155–166.
13. mTOR and S6K1 mediate assembly of the translation preinitiation complex through dynamic protein interchange and ordered phosphorylation events / *M. Holz, B. Ballif, S. Gygi, J. Blenis* // *Cell.* 2005. № 123. P.569–580.
14. SKAR links pre-mRNA splicing to mTOR/S6K1-mediated enhanced translation efficiency of spliced mRNAs / *X. Ma, S. Yoon, C. Richardson, K. Julich, J. Blenis* // *Cell.* 2008. № 133. P.303–313.
15. The translational landscape of mTOR signalling steers cancer initiation and metastasis / *A. Hsieh, Y. Liu, M. Edlind, N. Ingolia et al.* // *Nature.* 2012. № 485. P.55–61.
16. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1 / *J. Kim, M. Kundu, B. Viollet, K. Guan* // *Nature Cell Biology.* 2011. № 13. P.132–141.
17. Coordinated regulation of protein synthesis and degradation by mTORC1 / *Y. Zhang, J. Nicholatos, J. Dreier, S. Ricoult et al.* // *Nature.* 2014. № 513. P.440–443.
18. Activation of a metabolic gene regulatory network downstream of mTOR complex 1 / *K. Duvel, J. Yecies, S. Menon, P. Raman et al.* // *Molecular cell.* 2010. № 39. P.171–183.
19. Increased activation of the mammalian target of rapamycin pathway in liver and skeletal muscle of obese rats: possible involvement in obesity-linked insulin resistance / *L. Khamzina, A. Veilleux, S. Bergeron, A. Marette* // *Endocrinology.* 2005. 146. P.1473–1481.
20. A role for mammalian target of rapamycin in regulating T cell activation versus anergy / *Y. Zheng, S. Collins, M. Lutz, A. Allen et al.* // *J. of Immunology (Baltimore, Md: 1950).* 2007. № 178. P.2163–2170.
21. Persistent mTORC1 signaling in cell senescence results from defects in amino acid and growth factor sensing / *B. Carroll, G. Nelson, Y. Rabanal-Ruiz, O. Kucheryavenko et al* // *J. Cell Biol.* 2017. № 216. P.1949–1957.
22. Metabolic maintenance of cell asymmetry following division in activated T lymphocytes / *K. Verbist, C. Guy, S. Milasta, S. Liedmann et al.* // *Nature.* 2016. № 532. P.389–393.
23. *Daye D., Wellen K.* Metabolic reprogramming in cancer: Unraveling the role of glutamine in tumorigenesis // *Semin. Cell Dev. Biol.* 2012. № 23. P.362–369.
24. Inhibition of mTOR by rapamycin abolishes cognitive deficits and reduces amyloid-beta levels in a mouse model of Alzheimer's disease / *P. Spilman, N. Podlutskaya, M. Hart, J. Debnath et al.* // *PloS one.* 2010. № 5. P.9979–9987.
25. Rapamycin-induced insulin resistance is mediated by mTORC2 loss and uncoupled from longevity / *D. Lamming, P. Katajisto, M. Goncalves, M. Saitoh et al.* // *Science.* 2012. № 335. P.1638–1643.

26. mTOR regulation and therapeutic rejuvenation of aging hematopoietic stem cells / *C. Chen, Y. Liu, Y. Liu, P. Zheng* // *Sci. Signal.* 2009. № 2(98). P. 75–82.
27. *Schreiber K., Kennedy B.* When lamins go bad: nuclear structure and disease // *Cell.* 2013. № 152. P.1365–1375.
28. mTOR regulates MAPKAPK2 translation to control the senescence-associated secretory phenotype / *N. Herranz, S. Gallage, M. Mel-lone, T. Wuest-efeld et al* // *Nat. Cell Biol.* 2015. № 17. P.1205–1217.
29. A Tumor suppressor complex with GAP activity for the Rag GTPases that signal amino acid sufficiency to mTORC1 / *L. Bar-Peled, L. Chantranupong, A. Cherniack, W. Chen et al* // *Science.* 2013. № 340. P.1100–1106.
30. *Magaway C., Kim E., Jacinto E.* Targeting mTOR and Metabolism in Cancer: Lessons and Innovations // *Cells.* 2019. № 8(12). P.1584–1635.
31. Akt3 and mutant V600EB-Raf cooperate to promote early melanoma development / *M. Cheung, A. Sharma, S. Madhunapantula, G. Robertson* // *Cancer Res.* 2008. № 68. P. 3429–3439.

Статья поступила в редакцию 10.09.2021.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ
журнала «Известия Коми НЦ УрО РАН»
серии «Экспериментальная биология и экология»

Журнал публикует научно-аналитические обзоры (объемом до 1,5 печ. л.), оригинальные статьи (до 0,8 печ.л.) и краткие сообщения (до 0,3 печ.л.) по направлениям:

03.02.08 Экология

03.01.01 Радиобиология

03.03.01 Физиология

03.01.05 Физиология и биохимия растений

03.02.07 Генетика

14.01.30 Геронтология

Статьи должны отражать результаты законченных и методически корректно выполненных исследований. Изложение материала должно быть ясным и логически выдержанным.

Направляя статью в журнал, автор(-ы) соглашаются с нашим **Положением о публикационной этике журнала** (на сайте журнала). Решение о публикации принимается редакционной коллегией журнала после рецензирования, учитывая новизну, научную значимость и актуальность представленных материалов. Статьи, отклоненные редакционной коллегией, повторно не рассматриваются.

Общие требования к формированию рукописей

Статьи должны сопровождаться направлением научного учреждения, где была выполнена работа, а также экспертным заключением о возможности опубликования в открытой печати. Организация, направляющая статью, как и автор(-ы), несет ответственность за её научное содержание, достоверность и оригинальность приводимых данных. Изложение материала статьи должно быть ясным, лаконичным и последовательным. Статья должна быть подписана всеми авторами (автором) с указанием(полностью) фамилии, имени, отчества, домашнего адреса, места работы, служебного и сотового телефонов и e-mail.

В редакцию подается рукопись статьи в двух экземплярах – в печатном и электронном вариантах в редакторе WinWord под Windows. Электронная и бумажная версии статьи должны быть идентичны. Электронный вариант рукописи может быть прислан по электронной почте на адрес редакционной коллегии: journal@frc.komisc.ru, или ответственному редактору серии «Экспериментальная биология и экология» А.А. Москалеву: amoskalev@comisc.ru. Текст должен быть набран на компьютере (шрифт Times New Roman, кегль 14) в одну колонку через 1,5 интервала на странице форматом А4. По всей статье шрифт должен быть одинаковым. Поля страниц оригинала должны быть не менее: левое – 25 мм, верхнее – 20 мм, правое – 10 мм, нижнее – 25 мм. Количество иллюстраций (таблицы, рисунки, фото) в статье не должно превышать 5–7 шт., количество иллюстраций в кратких сообщениях – 2–3 шт.

Первая страница рукописи оформляется следующим образом: в начале статьи указывается индекс Универсальной десятичной классификации (УДК); затем прописными буквами печатается название статьи, которое должно быть максимально кратким (информированным) и не содержать сокращений; далее следуют инициалы и фамилии авторов. Отдельной строкой дается название учреждения и города (для иностранных авторов – также страны). Ниже печатается электронный адрес для переписки. При наличии авторов из нескольких организаций необходимо арабскими цифрами указать их принадлежность. Через один полуторный интервал следует краткая аннотация (8–10 строк), в которой сжато и ясно описываются основные результаты работы. После аннотации через полуторный интервал приводятся ключевые слова и словосочетания (не более 6–8). Далее идут инициалы и фамилии авторов, название статьи, аннотация и ключевые слова на английском языке. Английская аннотация объемом (до 2000 п.з. или 1 м.с.) для читателей, не владеющих русским языком, должна быть независимым источником информации (пересказом статьи). В тех случаях, когда текст статьи поделен на разделы, автор может подобным образом разделить и текст аннотации. Редакция проверяет качество английского текста и в одностороннем порядке вносит необходимые правки. Во избежание разночтений автор в отдельном файле представляет русский текст, по которому был произведен перевод расширенной аннотации.

Текст статьи состоит, как правило, из введения, основного текста, заключения (резюме) и списка литературы. В статье, описывающей результаты экспериментальных исследований, рекомендуется выделить разделы: «Материал и методы», «Результаты и обсуждение». Отдельно прилагаются подрисовочные подписи (на русском и английском языках).

Во введении в максимально лаконичной форме должны быть изложены цель, существо и новизна рассматриваемой задачи с обязательным кратким анализом данных наиболее важных и близких по смыслу работ других авторов. Однако введение не должно быть обзором литературы. В разделе «Материал и методы» должны быть четко и кратко описаны методы и объекты исследования.

Единицы измерения следует приводить в Международной системе единиц (СИ). Подробно описываются только оригинальные методы исследования, в других случаях указывают только суть

метода и дают обязательно ссылку на источник заимствования, а в случае модификации – указывают, в чем конкретно она заключается.

При первом упоминании терминов, неоднократно используемых в статье (однако не в заголовке статьи и не в аннотации), необходимо давать их полное наименование, и сокращение в скобках, в последующем применяя только сокращение. Сокращение проводить по ключевым буквам слов в русском написании. Все используемые, включая общепринятые, аббревиатуры должны быть расшифрованы при первом упоминании. Все названия видов флоры и фауны при первом упоминании в тексте обязательно даются на латыни с указанием авторов.

В разделе «Результаты и обсуждение» полученные данные приводят либо в табличной форме, либо на рисунках, без дублирования одной формы другой, и краткого описания результатов с обсуждением в сопоставлении с данными литературы.

Таблицы должны быть составлены в соответствии с принятым стандартом, без включения в них легко вычисляемых величин. Все результаты измерений должны быть обработаны и оценены с применением методов вариационной статистики. Таблицы нумеруются по мере упоминания в статье, каждой дается тематический заголовок (на русском и английском языках) и размещаются на отдельной странице. Таблицы призваны иллюстрировать текстовый материал, поэтому описывать их содержание в тексте не следует. Ширина таблицы должна быть либо 90 мм (на одну колонку), либо 185 мм (на две колонки). Текст в таблице набирается шрифтом Times New Roman, кегль 9–10, через два интервала. Сокращение слов в шапке таблиц не допускается. Пустые графы в таблицах не допускаются. Они должны быть заменены условными знаками, которые объясняются в примечании. Единицы измерения даются через запятую, а не в скобках: масса, г. Если таблица в статье одна, то ее порядковый номер не ставится и слово «Таблица» не пишется.

Рисунки представляются пригодными для непосредственного воспроизведения, пояснения к ним выносятся в подрисуночные подписи (за исключением кратких цифровых или буквенных обозначений), отдельные фрагменты обозначаются арабскими цифрами или буквами русского алфавита, которые расшифровываются в подрисуночных подписях. Они прилагаются отдельно. Каждый рисунок должен сопровождаться подписью на русском и английском языках.

Ширина рисунков должна быть либо 90 мм, либо 185 мм, а высота – не более 240 мм. Шрифт буквенных и цифровых обозначений на рисунках – Times New Roman, кегль 9–10. На рисунках следует использовать разные типы штриховок с размером шага, допускающим уменьшение, а не оттеночные заливки серого и черного цветов. Каждый рисунок должен быть выполнен на отдельной странице. На обратной стороне рисунка простым карандашом или ручкой указывается фамилия первого автора статьи и номер рисунка.

Карты должны быть выполнены на географической основе ГУГК (контурные или бланковые карты). Транскрипции географических названий должны быть сверены с последней редакцией Государственного каталога географических наименований Росреестра.

В тексте цитируемую литературу необходимо приводить только цифрами в квадратных скобках. Список литературы должен быть представлен на отдельной странице и составлен в порядке упоминания источников в тексте в соответствии с примером (см. ниже). Ссылки на неопубликованные работы не допускаются.

После Списка литературы размещается References – Пристатейный список литературы в транслите (на латинице) и в квадратных скобках перевод названия статьи и журнала на английский язык. References повторяет в полном объеме, с той же нумерацией Список литературы на русском языке, независимо от того, имеются ли в нем иностранные источники. Если в списке есть ссылки на иностранные публикации, они полностью повторяются как в Списке литературы, так и в References.

Список литературы и References оформляются по нижеприведенным примерам (следует обратить особое внимание на знаки препинания):

Например:

1. *Иванов И.И.* Название статьи (транслитерация) [Перевод названия статьи на англ.яз.] // Название журнала (транслитерация) [Перевод названия журнала на англ.яз]. Год. Том. Номер. Страницы.
2. *Петров П.П.* Название книги (транслитерация) [Перевод названия книги на англ.яз.]. Город: Издательство на англ.яз., год. Общее число страниц в книге (например, 180 с.) или конкретная страница (например, С. 75).
3. *Казаков К.К.* Название диссертации (транслит) [Перевод названия на англ.яз.]: Дис. канд. биол. наук. Город: Название института, год, страницы.

Список литературы:

1. *Иванов И.И.* Название статьи // Название журнала. 2005. Т. 41. №4. С. 18–26.
2. *Петров П.П.* Название книги. М.: Наука, 2007. (например, 180 с.) или конкретная страница (например, С. 75).
3. *Казаков К.К.* Название диссертации: Дис. канд. биол. наук. М.: Название института, 2002. 164 с.

References:

1. *Ivanov I.I. Novye vidy vodjanyh kleshhei [New species of water mites]* // Rossiiski zoologichskii jurnal [Russian J. of Zoology]. 2005. Vol.41. № 4. P. 18–26.
2. *Petrov P.P. Elektrotehnikskie materialy [Electrotechnical materials]*. Moscow: Nauka, 2007. Общее число страниц в книге (например, 180 p.) или конкретная страница (например, P. 75.).
3. *Kazakov K.K. Impedans elektrohimicheskoi yacheiki [Impedance of electrochemical cell]: Diss. ... Cand. Sci. (Biology)*. Moscow: Inst. of Political Reseach, 2002. 164 p.

При наличии большого количества авторов в списке литературы указываются все или четыре автора и др.

Для транслитерации списка литературы удобно использовать интернет-ресурс <http://translition-line.ru/>

При несоблюдении этих перечисленных правил статья не рассматривается редакционной коллегией, а возвращается авторам на доработку.

Все статьи проходят рецензирование и в случае необходимости возвращаются авторам на доработку. Рецензирование статьи закрытое. Возможно повторное и параллельное рецензирование. Редакционная коллегия оставляет за собой право редактирования статьи. Статьи публикуются в порядке очередности, но при этом учитывается их тематика и актуальность. Редакционная коллегия сохраняет первоначальную дату поступления статьи, а, следовательно, и очередность публикации, при условии возвращения ее в редакционную коллегию не позднее, чем через 1 месяц. Корректуру принятой в печать статьи редакционная коллегия иногородним авторам рассылает по e-mail. Автор в течение 5–7 дней должен вернуть ее в редакционную коллегию или передать правку по указанному телефону или электронному адресу (e-mail) редакционной коллегии. В случае отклонения статьи присланные материалы не возвращаются.

Печатную версию статьи направлять простым письмом по адресу:

Ответственному редактору редакционной коллегии журнала «Известия Коми НЦ УрО РАН» серии «Экспериментальная биология и экология»

Алексею Александровичу Москалеву

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

Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (отдел радиоэкологии), корп.3, каб. 320.

Тел. (8212) 31-28-94, 89121498300

Электронную версию отправлять на e-mail: amoskalev@comisc.ru

Научный журнал

ИЗВЕСТИЯ

Коми научного центра
Уральского отделения РАН
Серия «Экспериментальная биология и экология»

№ 5 (51)

Номер подготовили:

Ответственный редактор серии – чл.-корр. РАН А.А. Москалев
Редактор О.А. Гросу
Компьютерное макетирование Е.Н. Старцева
Корректura английского перевода Т.А. Исакова

Лицензия № 0047 от 10.01.1999.
Компьютерный набор. Подписано в печать 30.11.2021.
Формат бумаги 60х84¹/8. Печать офсетная.
Усл.-печ.л. 15. Уч.-изд.л. 14,75. Тираж 300. Заказ №33.
Свободная цена.

Подготовлено к изданию редакцией журнала «Известия Коми НЦ УрО РАН»
167982, ГСП-2, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 24.
Отпечатано в редакционно-издательском отделе ФИЦ Коми НЦ УрО РАН
167982, ГСП-2, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 48.

Адрес учредителя, издателя: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр УрО РАН».
167982, ГСП-2, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 24.