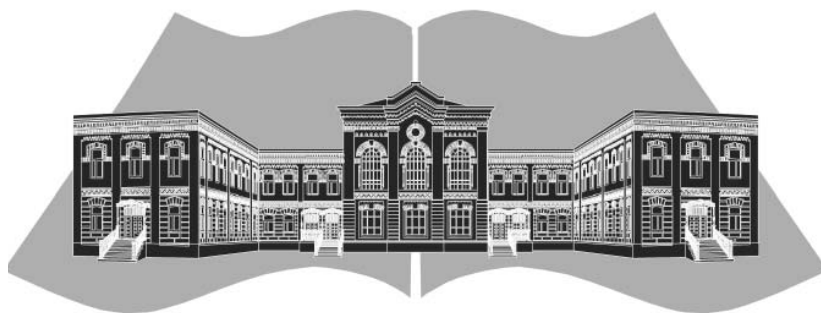


Министерство образования Московской области  
Государственное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
Московский государственный областной гуманитарный институт



# ВЕСТНИК

МОСКОВСКОГО  
ГОСУДАРСТВЕННОГО  
ОБЛАСТНОГО  
ГУМАНИТАРНОГО  
ИНСТИТУТА

**СЕРИЯ: МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ**

*Научный журнал*

*№1 (2012)*

г. Орехово-Зуево

2012

*Министерство образования Московской области  
Государственное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
Московский государственный областной гуманитарный институт*

## **ВЕСТНИК МОСКОВСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО ОБЛАСТНОГО ГУМАНИТАРНОГО ИНСТИТУТА**

**Серия: медико-биологические науки**

**Научный журнал**

**Главный редактор:**

Доктор медицинских наук, член-корреспондент РАЕН **А.Е. Северин**

**Зам. главного редактора:**

Доктор биологических наук, профессор **А.А. Колонцов**

**Ответственный редактор:**

Кандидат медицинских наук **В.А. Киселева**

**Редакционная коллегия:**

Доктор медицинских наук Б.К. Романов  
Доктор медицинских наук А.Н.Рябков  
Доктор фармацевтических наук И.В. Косова  
Кандидат медицинских наук О.А. Шаталов  
Кандидат химических наук Е.К. Печерица  
Кандидат биологических наук И.А. Берсенева

© ГОУ ВПО Московский  
государственный областной  
гуманитарный институт, 2012

© Оформление.  
Редакционно-издательский отдел  
ГОУ ВПО Московский  
государственный областной  
гуманитарный институт, 2012

Формат 60x84/8. Тираж 100 экз.

Редакционно-издательский отдел Московского государственного областного гуманитарного института.  
142611, Московская область, г. Орехово-Зуево, ул. Зеленая, д.22.

**E-mail: [vestnikmgogi@gmail.com](mailto:vestnikmgogi@gmail.com)**

В сети интернет "Вестник МГОГИ" представлен на сайте:  
**[www.mgogi.ru](http://www.mgogi.ru)**

# СОДЕРЖАНИЕ

## РАЗДЕЛ 1

### БИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ

#### **Зыков И.Е.**

К НАХОЖДЕНИЮ ЗЛАТКИ PALMAR  
(SCINTILLATRIX) DIVES (GUILL.)  
(COLEOPTERA, BUPRESTIDAE) В МОСКОВСКОЙ  
И ВЛАДИМИРСКОЙ ОБЛАСТЯХ .....5

#### **Колонцов А.А., Савельева Н.А., Белова Е.Е.**

СХЕМА СТАТИСТИЧЕСКОЙ  
ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ  
ФЛУКТУИРУЮЩЕЙ АСИММЕТРИИ НА ПРИМЕРЕ  
КЛЕВЕРА ПОЛЗУЧЕГО (TRIFOLIUM REPENS L.),  
ВЫРАЩЕННОГО В ПОЧВЕ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ  
ИОНАМИ СВИНЦА .....8

#### **Мишина О.С.**

ОЦЕНКА ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО  
КАЧЕСТВА ЗЕРНА ГРЕЧИХИ,  
ПОДВЕРГШЕГОСЯ ДВУКРАТНОЙ  
ОБРАБОТКЕ РЕГУЛЯТОРАМИ ..... 14

#### **Коротков О.В., Сапова Е.В.**

МОНИТОРИНГ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ  
БЕЗОПАСНОСТИ РЕКИ КЛЯЗЬМЫ ..... 18

#### **Фролова Н.А., Фадеева Н.В.**

ЛЮРАСТИМ - АНТИСТРЕССОВЫЙ  
РЕГУЛЯТОР РОСТА ПШЕНИЦЫ ..... 21

## РАЗДЕЛ 2

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

#### **Звягина В.И.**

ВОЗМОЖНОСТЬ КОРРЕКЦИИ  
КАРНИТИНА ХЛОРИДОМ ИЗМЕНЕНИЙ  
НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ  
ПОКАЗАТЕЛЕЙ В МУЖСКИХ ДОБАВОЧНЫХ  
ПОЛОВЫХ ЖЕЛЕЗАХ КРЫС  
ПРИ БЕЛКОВОДЕФИЦИТНОЙ ДИЕТЕ ..... 23

#### **Киселева В.А., Черятников А.С.**

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ  
АПИКОМПОЗИЦИЙ, СОДЕРЖАЩИХ  
МАТОЧНОЕ МОЛОЧКО, В УСЛОВИЯХ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СВИНЦОВОЙ  
ИНТОКСИКАЦИИ ..... 27

#### **Рябков А.Н., Киселева В.А.**

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА  
ДИНАМИКИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ  
И ФЕРМЕНТНЫХ ПАРАМЕТРОВ  
ЭРИТРОЦИТОВ КАК МАРКЕРОВ  
АНТИГИПОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА  
ПРЕПАРАТОВ ИЗ БИОМАСС КУЛЬТУРЫ  
ТКАНЕЙ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА  
АРАЛИЕВЫХ ..... 30

#### **Фомина Н.В., Фомина М.А., Звягина В.И.**

ОЦЕНКА ПРЕКАТАЛИТИЧЕСКОЙ  
АКТИВАЦИИ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ  
ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ  
В РАЗЛИЧНЫХ ФРАКЦИЯХ ЛЕЙКОЦИТОВ  
И ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ  
ТРОМБОФЛЕБИТОМ ..... 34

## РАЗДЕЛ 3

### ДИСКУССИЯ

#### **Шаталов О.А.**

ПРИМЕНЕНИЕ  
ЗДОРОВЬЕСБЕРЕГАЮЩИХ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ  
ПРИ ОБУЧЕНИИ ШКОЛЬНИКОВ ..... 37

#### **Короткова Е.О., Короткова А.В., Колонцов А.А.**

ВЫБОР МЕТОДИКИ СКРИНИНГА  
ЛИПОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ  
МИКРООРГАНИЗМОВ, ПРИГОДНОЙ  
ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ НАВЫКОВ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ  
ШКОЛЬНИКОВ ..... 40

# CONTENTS

## SECTION 1

### BIOLOGICA AND BIOTECHNOLOGICA

#### Zykov I.E.

TO FIND BUPRESTID BEETLE PALMAR (SCINTILLATRIX) DIVES (GUILL.) (COLEOPTERA, BUPRESTIDAE) IN MOSCOW AND VLADIMIR REGIONS .....5

#### Kolontsov A.A., Saveljeva N.A., Belova E.E.

PROCEDURE OF STATISTICAL ANALYSIS OF RESULTS OF MEASUREMENTS FOR EXAMPLE FLUCTUATING ASYMMETRY OF WHITE CLOVER (TRIFOLIUM REPENS L.) GROWN IN SOIL CONTAMINATED WITH LEAD IONS ....8

#### Mishina O.S.

ESTIMATION OF TECHNOLOGICAL QUALITY OF GRAIN OF THE BUCKWHEAT, TO DOUBLE PROCESSING BY REGULATORS .....14

#### Korotkov O.V., Sapova E.V.

MONITORING OF MICROBIOLOGICAL SAFETY OF THE KLYAZMA RIVER .....18

#### Frolova N.A., Fadeeva N.V.

LJURASTIM - THE ANTISTRESSFUL REGULATOR OF GROWTH OF WHEAT .....21

## SECTION 2

### EXPERIMENTAL OF BIOCHEMISTRY AND PHARMACOLOGY

#### Zvjagina V.I.

POSSIBILITY OF CORRECTION OF THE CARNITINE CHLORIDE OF CHANGES OF SOME BIOCHEMICAL INDICATORS IN MAN'S ADDITIONAL SEXUAL GLANDS OF RATS DIET IN BELKOVODEFITSITNOY .....23

#### Kiseleva V.A., Cherjatnikov A.S.

THE COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF PROTECTIVE ACTION ON ORGANISM APICOMPOSITIONS, CONTAINING ROYAL JELLY IN THE CONDITIONS OF THE EXPERIMENTAL LEAD INTOXICATION .....27

#### Rjabkov A.N., Kiseleva V.A.

EXPERIMENTAL ESTIMATION OF DYNAMICS OF METABOLIC AND FERMENTAL PARAMETERS IN RED BLOOD CELLS AS MARKERS OF ANTIHYPOXEMIC EFFECT OF PREPARATIONS FROM THE BIOMASS OF CULTURE OF FABRICS OF PLANTS OF FAMILY ARALIEVYH .....30

#### Fomina N.V., Fomina M.A., Zvjagina V.I.

EVALUATION PRECATALITIC ACTIVATION OF LYSOSOMAL CYSTEINE PROTEASE IN THE DIFFERENT FRACTIONS OF LEUCOCYTES AND IN THE BLOOD SERUM IN THROMBOFLEBITIS PATIENT .....34

## SECTION 3

### DISCUSSION

#### Shatalov O.A.

APPLICATION HEALTH SAVING UP OF EDUCATIONAL TECHNOLOGIES AT TRAINING OF SCHOOLBOYS .....37

#### Korotkova E.O., Korotkova A.V., Kolontsov A.A.

THE CHOIS OF THE MICROORGANISM'S LYPOLITIC ENZYMES SCREENING METHOD SUITABLE FOR FORMING SCIENTIFIC EXPERIENCE IN SCHOOL .....40

# РАЗДЕЛ 1.

## БИОЛОГИЯ И BIOTEХНОЛОГИЯ

УДК 595.765.8

### К НАХОЖДЕНИЮ ЗЛАТКИ *PALMAR (SCINTILLATRIX) DIVES (GUILL.)* (COLEOPTERA, BUPRESTIDAE) В МОСКОВСКОЙ И ВЛАДИМИРСКОЙ ОБЛАСТЯХ

*Зыков И.Е.*

Московский государственный областной гуманитарный институт

*Аннотация.* Даны новые сведения о распространении *Palmar (Scintillatrix) dives* (Guill.) и ключи для его идентификации по имаго и личинкам.

*Ключевые слова:* златки, распространение, имаго, личинка, диагностика.

В ходе ревизии златок рода *Palmar* Schaefer (= *Poecilonota* Eschscholtz, 1829, part.; = *Lampra* Dejean, 1833, part.) (Coleoptera, BUPRESTIDAE) фауны СНГ и сопредельных стран [6] нами был обнаружен вид *Palmar (Scintillatrix) dives* (Guill.) с географической этикеткой: Владимирская область, Петушинский район, д. Островищи, 29.06.1959 г., В.Еселева. На сегодняшний день это единственная известная нам находка названного вида на территории Владимирской области. Ранее указанный экземпляр был ошибочно определен А.В.Алексеевым как *Lampra decipiens* (Geb.). Впервые название *decipiens* было введено П. Дежаном в 1833 году [7] для обозначения одного из российских видов установленного им рода *Lampra*. Название не сопровождалось описанием, диагнозом или рисунком, а потому не может считаться валидным. В 1847 году Ф. Гейблер [8], изменив название рода, указал вид *Poecilonota decipiens* Dejean как редкий для г. Барнаула и г. Змеиногорска и дал его предельно краткий диагноз, не позволяющий провести идентификацию. Типовые экземпляры этого вида нам не известны. Таксономический статус обозначенной Ф. Гейблером формы остается не ясным. Однако, название *P. (S.) decipiens* (= *Poecilonota*) использовалось и продолжает использоваться многими авторами чаще всего для обозначения *P.(S.) mirifica mirifica* (Muls.).

Из Московской области нам известны два экземпляра *P. (S.) dives*, которые были найдены в разные годы на территории г. Орехово-Зуево и Орехово-Зуевского района. В 1992 году во время проведения учебно-полевой практики

по зоологии беспозвоночных у тропинки, ведущей от Московского государственного областного гуманитарного института (МГОГИ) к д. Будьково, на стволике козьей ивы (*Salix caprea* L.) диаметром около 5 см нами был пойман один экземпляр *P. (S.) dives*, снабженный в последующем географической этикеткой: Московская область, Орехово-Зуевский район, окрестности д. Будьково, 13.06.1992 г., И. Зыков. Обследование растения показало, что оно является той кормовой породой, на которой развивалась и личинка златки. Внутри стволика ивы был обнаружен личиночный ход, уходящий в сердцевинную древесину на глубину до 1,5-2,5 см. Под действием высокой степени антибиоза кормовой породы на границе луба и заболони личиночный ход приобретал клубковидную форму размером 2,0x3,0 см, что уменьшало негативно воздействие на личинку сока, выделяющегося из поврежденных тканей. Личиночный ход заканчивался куколочной камерой и летным отверстием.

В 2008 году у северной границы г. Орехово-Зуево нами был пойман еще один экземпляр названного вида. Его местонахождение было обозначено следующим образом: Московская область, г. Орехово-Зуево, окрестности оз. Голубое, 13.08.2008 г., И. Зыков.

*P. (S.) dives*, считавшийся ранее средне- и южно-европейским, переднеазиатским и североафриканским видом [9, 10], имеет значительно более широкое распространение. Он встречается на север европейской части России до Ленинградской и Новгородской областей, на восток России до Урала, южных районов Западной

Сибири, Алтая, на юг до Кавказа. В СНГ *P. (S.) dives* обнаружен в странах Балтии, Белоруссии, Украине, Молдавии, Закавказье, в Казахстане и республиках Средней Азии. За пределами бывшего СССР отмечен в Средней и Южной Европе, Корсике, Турции, Иране, Северо-Восточной Африке (Египет) [6]. Имеет европейско-средиземноморско-ирано-туранский тип ареала [1]. На европейской территории России встречается вместе с *P. (S.) rutilans rutilans* (F.), *P. (S.) rutilans podolica* (Obenb.), *P. (S.) mirifica mirifica* (Muls.), на Кавказе, в Закавказье и Средней Азии – вместе с *P. (S.) mirifica nadezhdae* (Sem.). Несмотря на то, что развитие *P. (S.) dives* происходит на представителях рода *Salix*, *P. (S.) rutilans rutilans* - на видах рода *Tilia*, *P. (S.) rutilans podolica* - на *Acer campestre* L., а *P. (S.) mirifica mirifica* и *P. (S.) mirifica nadezhdae* - на видах рода *Ulmus* [2-6] все они сходны между собой габитуально. Для того, чтобы избежать ошибок при их идентификации ниже приводим ключи для диагностики имаго и личинок.

*Определительная таблица имаго златок рода Palmar европейской части России и прилегающих территорий*

- 1(4) Продольные бороздки в средней и внутренней частях надкрылий с четкими, отделенными друг от друга, иногда соприкасающимися вдавленными точками на дне, размеры которых равны или почти равны размерам точек в междурядьях. Междурядья надкрылий уплощенные.
- 2(3) Переднеспинка посередине густо и грубо точечная. Продольные бороздки надкрылий с явственно отделенными друг от друга точками на дне. Ширина вершинной трети тегмена не более чем в 3 раза превышает ширину его вырезки. Апофизы пениса менее чем в 3 раза короче его длины. Бортики дорсальной ламеллы имеют четкую и плотную струйчатую структуру. 9,5-14,7 мм. Европейская часть России до Московской и Самарской областей, Западное Причерноморье, Крым, Северный Кавказ, Западный Казахстан.....*P. (S.) mirifica mirifica* (Muls.)
- 3(2) Переднеспинка посередине с редкими поверхностно вдавленными точками. Продольные бороздки надкрылий с соприкасающимися точками на дне. Ширина вершинной трети тегмена более чем в 3 раза превышает ширину его вырезки. Апофизы пениса не менее чем в 3 раза короче его длины. Струйчатость бортиков дорсальной ламеллы почти не выражена. 8,6-14,4 мм. Восточное Причерноморье, Закавказье, Средняя Азия.....*P. (S.) mirifica nadezhdae* (Sem.)
- 4(1) Продольные бороздки в середине надкрылий с мелкими, неявственными, сливающимися вдавленными точками или следами точек на дне, часто маскируемыми морщинистостью междурядий. Междурядья надкрылий слабо выпуклые.
- 5(8) Срединный продольный рельеф переднеспинки либо выражен крайне слабо и почти не отличается по цвету от ее основного фона, либо вообще отсутствует. Щиток среднеспинки менее чем в 3 раза шире своей длины.

Вырезка тегмена более чем в 3 раза глубже своей максимальной ширины. Дорсальная аподема тегмена с дуговидно закругленным передним краем.

- 6(7) Боковые рельефные полосы переднеспинки, как правило, полностью редуцированы. Междурядья середины надкрылий имеют грубую точечно-морщинистую скульптуру. Вырезка тегмена более чем в 4 раза глубже своей максимальной ширины. Пенис узкий, параллельносторонний, длина пениса в 7,7 раза превышает его ширину посередине. 10,2-14,8 мм. Европейская часть России до Брянской, Курской, Воронежской, Самарской и Ленинградской областей, Карелия, страны Балтии, Белоруссия, Крым, Закавказье.....*P. (S.) rutilans rutilans* (F.)
- 7(6) Боковые рельефные полосы переднеспинки частично редуцированы и преобразованы в крупные, не имеющие четких очертаний, не возвышающиеся темные пятна. Междурядья середины надкрылий с явственными точками, разделенными сглаженными или мелкоморщинистыми поверхностями. Глубина вырезки тегмена менее чем в 4 раза превышает его максимальную ширину. Пенис более короткий, слабо расширен к основанию, в 5,3 раза длиннее своей ширины посередине. 10,3-13,9 мм. Краснодарский и Ставропольский края, юг и юго-запад Украины, Крым.....*P. (S.) rutilans podolica* (Obenb.)
- 8(5) Срединный продольный рельеф переднеспинки темный явственный. Щиток среднеспинки более чем в 3 раза шире своей длины. Вырезка тегмена менее чем в 3 раза глубже своей максимальной ширины. Дорсальная аподема тегмена с прямым передним краем. 10,6-15,8 мм. Европейская часть России до Московской, Владимирской, Ленинградской и Новгородской областей, Урал, юг Западной Сибири, Алтай, Кавказ, страны Балтии, Белоруссия, Украина, Молдавия, Закавказье, Казахстан, Средняя Азия.....*P. (S.) dives* (Guill.)

*Определительная таблица личинок златок рода Palmar европейской части России и прилегающих территорий*

- 1(4) Верхняя губа в 1,6 раза шире своей длины. Расстояние между сенсиллами, находящимися на вершине небного склерита, и переднебоковой трихосенсиллой в 5 раз меньше расстояния между передне- и заднебоковыми трихосенсиллами. Задняя граница зоны шипиков, расположенных вдоль переднего края внешней поверхности верхней губы, имеет вид извилистой, идущей поперек линии, немного отклоняющееся назад в срединной части губы. Площадь вооруженной поверхности верхней губы составляет 1/3 площади общей поверхности губы. Видоизмененные хетоиды вдоль продольных бороздок переднегрудного сегмента отсутствуют.

- 2(3) Ширина объединенной части V-образных бороздок переднеспинки спереди достигает  $1\frac{1}{2}$  ширины объединенной части бороздок в месте отхождения свободных ветвей. Свободные ветви резко расходящиеся назад, угол между ними равен  $28-30^\circ$ , концы ветвей округлые, почти не отогнутые наружу. Срединная полоса брюшной стороны желудка узкая, ее ширина равна длине желудка. Передняя граница брюшной части основного поля желудка находится к средней полосе брюшной стороны желудка под углом  $40^\circ$  ..... P. (S.) *mirifica mirifica* (Muls.)
- 3(2) Объединенная часть V-образных бороздок переднеспинки спереди сильно расширена и в 2 раза превышает ширину объединенной части бороздок в месте отхождения свободных ветвей. Свободные ветви прямые, расходящиеся назад под углом  $18-20^\circ$ , концы ветвей заостренные, заметно отогнутые наружу. Передняя граница брюшной части основного поля шипиков находится к срединной полосе брюшной стороны желудка под углом  $20^\circ$  ..... P. (S.) *rutilans rutilans* (F.)
- 4(1) Верхняя губа в 2 раза шире своей длины. Расстояние между сенсиллами, находящимися на вершине небного склерита, и переднебоковой трихосенсиллой равно расстоянию между передне- и заднебоковыми трихосенсиллами. Задняя граница зоны шипиков, расположенных вдоль переднего края внешней поверхности верхней губы, на всем протяжении параллельна переднему краю губы. Площадь вооруженной поверхности верхней губы составляет  $1/13$  площади общей поверхности губы. Вдоль продольных бороздок переднегрудного сегмента расположены видоизмененные слабо склеротизованные хетоиды, имеющие округло-колпачковидную форму ..... P. (S.) *dives* (Guill.)
- Подвиды P. (S.) *mirifica mirifica* и P. (S.) *mirifica nadezhdae* не различимы по личинкам. Личинка P. (S.) *rutilans podolica* нам не известна.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Емельянов А.Ф. Предложения по классификации и номенклатуре ареалов // Энтотом. обзор. - 1974. - Т.53. - Вып.4. - С.497-522.
- Зыков И.Е. Личинки златок *Lampra decipiens* Gebl. и *L. rutilans* F. (Coleoptera, Buprestidae) // Энтотом. обзор. - 1983. - Т. 62. - Вып. 4. - С. 737-745.
- Зыков И.Е. К экологии липовой радужной златки в дубравах Воронежской области. Экология и защита леса: Лесные экосистемы и их защита /Межвуз. сб. науч. тр. - Л. - 1984. - С. 26-31.
- Зыков И.Е. Личинка златки *Lampra dives* (Coleoptera, Buprestidae) из юго-западной Словакии // Зоол. журн.. - 1984. - Т.63. - Вып. 8. - С. 1268-1271.
- Зыков И.Е. К биологии златок трибы Poesilonotini (Coleoptera, Buprestidae) фауны СССР. Морфология, систематика и экология животных /Межвуз. сб. науч. тр. МОПИ. - 1988. - С. 57-68.
- Зыков И.Е. Ревизия златок рода *Palmar Schaefer* (Coleoptera, Buprestidae) фауны СНГ и сопредельных стран. I. Обзор видов //Энтотом. обзор. - 1999. - Т. 78. - Вып. 1. С. 101-121.
- Dejean P.F.M.A. Catalogue des Coléoptères de la collection de M. le Comte Dejean. Paris: Méquignon-Marvis. - 1833. - Vol. 1. - P. 1-96.
- Gebler F.A. Verzeichniss der im Koliwano-Woskresenskischen Hüttenbezirke Süd-West Sibiriens beobachteten Käfer mit Bemerkungen und Beschreibungen //Bull. Soc. Imp. Nat. Moscou. - 1847. - Vol. 20, №3. - P. 391-512.
- Hellrigl K.G. Revision der westpaläarktischen Arten der Prachtkäfergattung *Lampra* Lac. (Col., Buprestidae) //Ann. Naturhist. Mus. Wien. - 1972. - Т. 76. - S. 649-708.
- Hellrigl K.G. Ökologie und Brutpflanzen europäischer Prachtkäfer (Col., Buprestidae) //Z. Ang. Ent. - 1978. - Т. 85. - 2 - № 1. - S. 167-191.

#### Summary

### TO FIND BUPRESTID BEETLE PALMAR (SCINTILLATRIX) DIVES (GUILL.) (COLEOPTERA, BUPRESTIDAE) IN MOSCOW AND VLADIMIR REGIONS

I.E. Zыkov

Moscow Region State Institute of Humanities

*Abstract.* New data on the geographical distribution of the Buprestid beetle *Palmar (Scintillatrix) dives* (Guill.) and a key to imagines and larvae are given as well.

*Key words:* *Palmar (Scintillatrix) dives*, Distribution of adults, imago, larva, diagnostics.

## СХЕМА СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ ФЛУКТУИРУЮЩЕЙ АСИММЕТРИИ НА ПРИМЕРЕ КЛЕВЕРА ПОЛЗУЧЕГО (*TRIFOLIUM REPENS* L.), ВЫРАЩЕННОГО В ПОЧВЕ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ ИОНАМИ СВИНЦА

*Колонцов А.А., Савельева Н.А., Белова Е.Е.*

Московский государственный областной гуманитарный институт

*Аннотация.* Предложена схема статистического анализа результатов измерения флуктуирующей асимметрии растений. Схема включает в себя проверку данных на грубые погрешности, на отклоняющихся особей, на нормальность распределения величин разницы между левым и правым измерениями параметра, на присутствие направленной асимметрии и антисимметрии, на зависимость величины асимметрии признака от его размера, оценку ошибки измерения двухфакторным дисперсионным анализом и сравнение флуктуирующей асимметрии разных объектов однофакторным дисперсионным анализом. Схема была применена для оценки воздействия ионов свинца на флуктуирующую асимметрию центральных жилок боковых листочков клевера ползучего (*Trifolium repens* L.). Не обнаружено влияния тяжелого металла на данный параметр при содержании в почве свинца в концентрации 650 мг/кг.

*Ключевые слова:* флуктуирующая асимметрия, статистическая обработка результатов, клевер ползучий, свинец.

Под флуктуирующей асимметрией понимают незначительные и случайные (ненаправленные) отклонения морфологических признаков от идеальной билатеральной (двусторонней, зеркальной) симметрии [1]. Флуктуирующая асимметрия характеризуется нормальным распределением вокруг нуля различий между левой и правой сторонами, причем числовые значения этих различий берутся с учетом знака. Флуктуирующую асимметрию рассматривают в качестве показателя нестабильности развития. Нестабильность развития является следствием взаимодействия шумов развития (случайных событий в процессе развития, связанных с гибелью клеток, неодинаковой скоростью их деления, разных скоростей метаболизма) и стабильностью развития. В свою очередь стабильность развития заключается в способности организмов точно следовать программе, заложенной в генотипе для данных условий среды, и противостоять генетическим нарушениям и воздействиям окружающей среды во время развития для формирования оптимального фенотипа. Концепция использования флуктуирующей асимметрии как экологического индикатора качества окружающей среды основана на представлении о том, что при стрессе, вызванном факторами окружающей среды, показатели флуктуирующей асимметрии должны увеличиваться [2].

Помимо флуктуирующей асимметрии выделяют еще два других типа асимметрии – направленную асимметрию и антисимметрию [3]. Направленная асимметрия наблюдается тогда, когда у большинства индивидуумов доминирует либо левый, либо правый параметр. Иными словами, структура или признак развиты на одной определенной стороне больше, чем на другой. В этом случае для величин разли-

чий между левой и правой сторонами характерно нормальное распределение вокруг среднего значения, отличного от нуля. Антисимметрия встречается при большем развитии структуры то на одной, то на другой стороне тела, но преобладание левого или правого параметра случайны. При антисимметрии частоты величин различий между левой и правой сторонами дают бимодальное распределение вокруг нуля. Остается дискуссионным вопрос, можно ли использовать направленную асимметрию и антисимметрию в качестве показателя стресса. Одна из точек зрения заключается в том, что эти два вида асимметрии обладают значительной генетической составляющей и поэтому не подходят для оценки стабильности развития [1]. Если при обнаружении направленной асимметрии еще можно ко всем промерам с одной стороны прибавлять (или отнимать) значение смещения центра распределения относительно нуля, то при наличии антисимметрии предлагается полностью исключать признак из рассмотрения. С другой стороны, переход между флуктуирующей асимметрией и направленной или антисимметрией можно математически моделировать, и все три вида асимметрии динамически связаны между собой [4]. Показано, что холодовой стресс вызывает сдвиг от унимодального распределения к бимодальному распределению частот стерноплевральных щетинок на левой и правой стороне тела *Drosophila melanogaster* [5], то есть стресс приводит к появлению (или увеличению) антисимметрии признака. Для того же самого признака наблюдали переход от флуктуирующей асимметрии к направленной асимметрии в ответ на воздействие высоких концентраций бензола [6]. Эти данные указывают на то, что три типа симметрии являются взаимодействующими, а не отдельными явлениями, и они могут от-



ражать нестабильность развития при конкретных условиях окружающей среды. Тем не менее, из трех видов асимметрии наиболее распространенным показателем нестабильности развития является флуктуирующая асимметрия.

При анализе флуктуирующей асимметрии следует определять ошибку измерения, поскольку отклонения от симметрии крайне незначительны и вариации флуктуирующей асимметрии могут оказаться меньше ошибки метода. Для того, что бы оценить ошибку измерения необходимо проводить двух-, трехкратные замеры одного и того же параметра. Грубые промахи при измерении ошибки и самих параметров должны быть исключены на основании статистических критериев. Для правильного выбора показателя флуктуирующей асимметрии нужно определить, зависит ли величина флуктуирующей асимметрии от размеров объекта. Необходимо также выяснить, соответствует ли выбранный параметр критериям для идеальной флуктуирующей асимметрии (нормальное распределение величин различий между левой и правой сторонами, отсутствие статистически значимого отличия среднего значения различий между левой и правой сторонами от нуля, минимальные асимметрия и эксцесс). Для сравнения показателей флуктуирующей асимметрии в опыте и контроле используют дисперсионный анализ. С помощью перечисленных этапов статистической обработки результатов анализировали данные по оценке флуктуирующей асимметрии длины центральных жилок боковых листочков клевера ползучего (*Trifolium repens* L.), выращенного в присутствии 5 ориентировочно допустимых концентраций (ОДК) ионов свинца (опыт) и в его отсутствии (контроль).

#### *Материалы и методы.*

Семена клевера ползучего высаживали в две пластиковые емкости, содержащие 700 г почвы. Содержание основных питательных элементов в почве составляло не менее 150 мг/л азота ( $\text{NH}_4 + \text{NO}_3$ ), 270 мг/л фосфора ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ), 300 мг/л калия ( $\text{K}_2\text{O}$ ). Массовая доля влаги не превышала 65%; pH солевой суспензии находился в диапазоне 6,0-6,5. При оценке влияния ионов свинца в одну емкости с опытными растениями вносили раствор  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$  (0,11 мг/мл) до конечной концентрации 1100 мг/кг почвы. После внесения соли почву увлажняли в обеих ёмкостях и осуществляли посев семян. Растения выращивали в комнатных условиях в течение 40-45 дней. Для оценки флуктуирующей асимметрии листьев клевера дважды измеряли длину центральных жилок двух боковых листочков сложных листьев растения. Расчеты проведены с применением пакета «SPSS» и рекомендаций, изложенных в учебных пособиях по статистике [7,8,9].

#### *Результаты и их обсуждение.*

Статистический анализ данных по флуктуирующей асимметрии проводили, основываясь на примере, предложенном Palmer, A.R., Strobeck C. [1]. Схема анализа включала следующие шаги.

#### 1. Проверка данных на грубые погрешности.

В этом случае исключаются механические ошибки при фиксировании данных. Каждый параметр измеряют дважды, находят величины максимальных различий между первым и вторым измерениями, выбраковывают промахи на основании критерия Шовене [7]. По критерию Шовене если  $|x - x_{cp}| > z \times SD$ , то значение отбрасывается ( $x$  – оцениваемое различие между первым и вторым измерениями,  $x_{cp}$  – среднее арифметическое различий между первым и вторым измерениями, ;  $SD$  – стандартное отклонение,  $z$  – табличное значение критерия Шовене для определенного объема выборки  $n$ ).

#### 2. Проверка данных на отклоняющихся особей.

Исключаются особи, у которых флуктуирующая асимметрия искусственно завышена из-за повреждений, износа, не связанными с нестабильностью развития нарушениями развития. Строят график зависимости левого измерения (L) против правого (R), выявляют «выскакивающие» варианты, оценивают их с помощью критерия Шовене.

3. Проверка на нормальность распределения величин разницы между левым и правым измерениями (L-R) параметра.

Строят график зависимости различий между левой и правой стороной (L-R) от частоты встречаемости этих различий и визуально оценивают распределения частот (L-R).

Вычисляют асимметрию и эксцесс. Асимметрия, или коэффициент асимметрии, является мерой несимметричности распределения. Коэффициент асимметрии положителен, если правый «хвост» распределения длиннее левого, и отрицателен в противном случае. Если распределение симметрично, то его коэффициент асимметрии равен нулю. Эксцесс, или коэффициент эксцесса, является мерой остроты пика распределения случайной величины. Отрицательный эксцесс – платикуртоз – соответствует гладковершинности, положительный эксцесс – лептокуртоз – соответствует островершинности, нормальному распределению соответствует мезокуртоз. Эксцесс так же рассматривают как меру унимодальности против бимодальности; чем отрицательней эксцесс, тем более выражена бимодальность. Антисимметрия характеризуется значительным платикуртозом.

Оценивают нормальность распределения с помощью теста Колмогорова-Смирнова. Если критерий Колмогорова-Смирнова, а также анализ асимметрии и эксцесса, свидетельствуют о нормальном распределении значений параметра, переходят к шагу 4. В противоположном случае предлагается использовать непараметрические методы статистического анализа [10].

#### 4. Проверка на присутствие направленной асимметрии.

В случае нормального распределения об отсутствии направленной асимметрии судят по результатам t-теста. Если среднее значение не отличается от нуля, то направленной асимметрии нет. Если направленная асимметрия выявлена, то можно провести статистическую коррекцию, прибавляя (или отнимая) значение смещения центра распределения

относительно нуля ко всем промерам с одной стороны. Если используются непараметрические методы анализа, то об отсутствии статистически значимых различий в величине признака на левой и правой стороне тела судят на основании критерия Уилкоксона.

5. Проверка на присутствие антисимметрии.

Антисимметрия отсутствует, если нет отрицательного эксцесса, превышающего табличное значение [1].

6. Проверка на зависимость величины асимметрии признака от его размера.

Корреляцию между величиной асимметрии ( $|L-R|$ ) и размером параметра  $[(L+R)/2]$  определяют с помощью непараметрического теста Спирмена-Кендалла. Если корреляции не обнаружено, то в качестве индекса асимметрии можно использовать  $F1=|L-R|$ . Если величина асимметрии зависит от размера параметра, то необходимо провести коррекцию

на размер, например, используя в качестве индекса асимметрии  $F2 = 2 \times |L-R| / (L+R)$ .

7. Оценка ошибки измерения.

Для выяснения того, превышает ли величина флуктуирующей асимметрии ошибку измерения, проводят двухфакторный дисперсионный анализ [«сторона» (фиксированная переменная) × «объект» (случайная переменная)]. Распределение вариантов при варьировании по двум факторам и представление результатов анализа приведены в таблицах 1-3.

Если варьирование, обусловленное взаимодействиями «сторона × объект» ( $MS_{sj}$ ), статистически не значимо ( $F_{фактическое} < F_{табличное}$ ), то в дальнейшем нельзя судить о различиях флуктуирующей асимметрии у разных образцов. В этом случае ошибка измерения превышает флуктуирующую асимметрию.

**Таблица 1.** Распределение вариантов при двухфакторном дисперсионном анализе для проверки значимости флуктуирующей асимметрии относительно ошибки измерения.

Группы по фактору А (сторона)	Группы по фактору В (объект)						
	1	2	3	...	j	...	c
Левая	$X_{111}$	$X_{121}$	$X_{131}$		$X_{1j1}$		$X_{1c1}$
	$X_{112}$	$X_{122}$	$X_{132}$		$X_{1j2}$		$X_{1c2}$
Правая	$X_{211}$	$X_{221}$	$X_{231}$		$X_{2j1}$		$X_{2c1}$
	$X_{212}$	$X_{222}$	$X_{232}$		$X_{2j2}$		$X_{2c2}$

Примечание: количество групп по фактору А (r) в данном случае равно 2; c – количество групп по фактору В; n – количество повторных измерений параметра (в данном случае 2); N (общее число всех наблюдений) = nrc;  $x_{ijk}$  – k-наблюдение в ряду i и столбце j.

**Таблица 2.** Дисперсионный анализ данных о влиянии стороны и объекта на изучаемый параметр.

Источник варьирования	ss	df	ms=ss/df	F фактическое	F табличное	
					P=0,05	P=0,01
Общее						
Сторона (А)			$MS_s$	$MS_s / MS_m$		
Объект (В)			$MS_j$	$MS_j / MS_m$		
А+В			$MS_{sj}$	$MS_{sj} / MS_m$		
Случайные отклонения			$MS_m$			

Примечание: ss – суммы квадратов; df – степень свободы: для общей дисперсии (rcn-1), по фактору А (r-1), по фактору В (c-1), для взаимодействия (r-1)(c-1), для случайных отклонений (n-1)rc; ms – средние квадраты (дисперсия):  $MS_s$  – средний квадрат по фактору А (сторона),  $MS_j$  – средний квадрат по фактору В (объект),  $MS_{sj}$  – средний квадрат взаимодействий А и В;  $MS_m$  – средний квадрат случайных отклонений.

**Таблица 3.** Значимость результатов дисперсионного анализа.

Тест на значимость	F фактическое	Степени свободы		F табличное	
		числитель	знаменатель	P=0,05	P=0,01
Ненаправленная симметрия относительно ошибки измерения	$MS_{sj} / MS_m$	(r-1)(c-1)	rc(n-1)		
Направленная асимметрия	$MS_s / MS_{sj}$	(r-1)	(r-1)(c-1)		
Вариации, обусловленные генотипами	$MS_j / MS_{sj}$	(c-1)	(r-1)(c-1)		

**Таблица 4.** Распределение вариант при однофакторном дисперсионном анализе для сравнения двух групп объектов при разной численности вариант в группах.

Фактор	Отдельные измерения флуктуирующей асимметрии,  L-R	$T_i$	$n_i$		$T_i^2$
Контроль	$X_{11}, X_{12}, \dots, X_{1r}, \dots, X_{1a}$		a		
Опыт	$X_{21}, X_{22}, \dots, X_{2r}, \dots, X_{2b}$		b		

Примечание:  $T_i$  – сумма отдельных измерений в ряду  $i$ ;  $n_i$  – число отдельных измерений в ряду  $i$ ;  $\bar{x}_i$  – среднее арифметическое отдельных измерений в ряду  $i$ ;  $N$  (общее число измерений) =  $a+b$ .

**Таблица 5.** Однофакторный дисперсионный анализ данных о влиянии определенного фактора на флуктуирующую асимметрию параметра.

Источник варьирования	ss	df	ms=ss/df	F фактическое	F табличное	
					P=0,05	P=0,01
Общее						
Фактор А						
Случайные отклонения						

Примечание: для общей вариации  $df = N-1$ ; для групповых средних – число групп по фактору  $A-1$ ; для случайных отклонений =  $N$  - число групп по фактору  $A$ .

**Таблица 6.** Оценка ошибки измерения параметра в разных группах растений.

Группа растений	F фактическое = $MS_s / MS_m$	Степени свободы		F табличное		ME
		числитель $(r-1)(c-1)$	знаменатель $rc(n-1)$	P=0,05	P=0,01	
контроль	1,19	13	28	2,12	2,90	0,64
опыт	4,24	19	40	1,84	2,37	0,48
контроль+ опыт	2,29	33	68	1,65	2,03	0,56

Примечание: ME – ошибка измерения как отношение среднего различия между повторными измерениями к среднему различию между сторонами.

Ошибку измерения так же можно оценить как отношение среднего различия между повторными измерениями к среднему различию между сторонами.

8. Оценка разных объектов по флуктуирующей асимметрии.

Для оценки различий по флуктуирующей асимметрии между двумя группами объектов используют однофакторный дисперсионный анализ при разной (или одинаковой) численности вариант в группах. Распределение вариант при варьировании по одному фактору и представление результатов анализа приведены в таблицах 4, 5.

Если F фактическое > F табличного, то влияние фактора на параметр статистически значимо.

Если для признака характерна антисимметрия, то различные объекты сравнивали, используя такие показатели, как процент симметричных особей и индекс модальности [5]. Под симметричными особями понимаются особи, для которых  $(L-R) = 0$ . Индекс модальности определяется по формуле:

$MI = 2N_0 / (N_{-1} + N_{+1})$ , где  $N_0$  – число симметричных особей (число особей в классе 0),  $N_{-1}$  и  $N_{+1}$  – число особей в соседних классах -1 и +1, соответственно.

В этой же работе показатели асимметрии сравнивали, используя как дисперсионный анализ, так и непараметрические методы, причем оба подхода дали одинаковые результаты.

Представленная схема статистического анализа была применена к данным о флуктуирующей асимметрии листьев клевера, выращенного в почве, содержащей ионы свинца.

Проверка данных на грубые погрешности показала их отсутствие. Отклоняющихся особей так же не обнаружено ни в опыте, ни в контроле. Тест Колмогорова-Смирнова выявил отсутствие нормального распределения для вариант (L-R) в контрольной группе и в эксперименте со свинцом. Однако, судя по величине асимметрии, в обоих случаях не обнаружено направленной асимметрии. Экссесс так же не был значимым в опыте. В контроле зарегистрирован отрицательный экссесс, превышающий табличный, что указывает на антисимметрию. Тест Спирмена и Кендалла не обнаружил корреляции между величиной флуктуирующей асимметрии и размером параметра для контрольной и опытной групп. В связи с этим в качестве индекса флуктуирующей асимметрии был выбран  $F_1 = |L-R|$ . Ошибка измерения, оцененная двухфакторным дисперсионным анализом [«сторона» (фиксированная переменная) × «объект» (случайная переменная)], показала, что различия между сторонами для контрольных значений значимо меньше, чем различия из-за ошибки измерения. Однако для листьев растений, выращенных в присутствии свинца, и для объединенных данных контроля и опыта различия между сторонами значимо больше, чем различия между сторонами из-за ошибки измерения (таблица 6).

**Таблица 7.** Дисперсионный анализ данных о влиянии свинца на асимметрию листьев клевера.

Источник варьирования	ss	df	ms=ss/df	F фактическое	F табличное	
					P=0,05	P=0,01
Общее	17	67				
Фактор А (свинец)	0	1	0	0/0.25=0	4,00	7,08
Случайные отклонения	17	68	0.25			

Предполагая на основании анализа асимметрии и эксцесса, что значения флуктуирующей асимметрии соответствуют нормальному распределению, для оценки различий по флуктуирующей асимметрии листьев клевера, выращенного в присутствии ионов свинца, и листьев контрольных растений использовали однофакторный дисперсионный анализ при разной численности вариант в группах. Результаты представлены в таблице 7.

При отсутствии нормального распределения в отсутствие направленной асимметрии и антисимметрии для сравнения опыта и контроля применяют непараметрические методы статистического анализа, в частности критерий Манна-Уитни. И дисперсионный анализ, и критерий Манна-Уитни свидетельствуют об отсутствии значимых различий между значениями, полученными в контроле и опыте. Таким образом, выращивание клевера в почве, содержащей не менее 5 ориентировочно допустимых концентраций (ОДК) свинца не влияет на флуктуирующую асимметрию главных жилок противоположных листочков листьев клевера. Однако, контрольные растения и растения, выращенные в присутствии свинца или 5 ОДК кадмия, различались по всхожести семян. Всхожесть в присутствии тяжелых металлов составляла соответственно для свинца и кадмия 50 и 60% от контроля. ОДК для почв, близких к нейтральным, для свинца составляет 130 мг/кг, для кадмия 2 мг/кг почвы [11].

#### Выводы

При анализе флуктуирующей асимметрии ошибка измерения должна быть статистически значимо меньше величины различий между левым и правым измерениями

параметра, её значения должны соответствовать нормальному распределению, должна отсутствовать направленная асимметрия и антисимметрия. В данной работе результаты оценки ошибки измерения зависели от оцениваемой выборки. Очевидно, что при различающихся результатах для контроля и опыта имеет смысл ориентироваться на объединенные данные. О нормальности распределения данных обычно судят на основании критерия Колмогорова-Смирнова. С этой же целью используют анализ асимметрии и эксцесса, причем оба подхода могут давать противоположные результаты. В этом случае для сравнения флуктуирующей асимметрии в контроле и опыте можно попытаться использовать и параметрические, и непараметрические методы анализа. Если и критерий Колмогорова-Смирнова, и анализ асимметрии и эксцесса свидетельствуют о распределении, отличающемся от нормального, то в дальнейшем для сравнения контроля и опыта применяют непараметрические методы. Появление в тех или иных условиях направленной асимметрии или антисимметрии для параметра, характеризующегося флуктуирующей асимметрией, рассматривается как результат стрессового воздействия [5,6]. В данной работе антисимметрия выявлена для оцениваемого признака в контроле, и не выявлена в опыте. Судя по результатам дисперсионного анализа и применения критерия Манна-Уитни, показатели асимметрии не различались в контроле и опыте. Таким образом, при содержании в почве свинца в концентрации 650 мг/кг асимметрия центральных жилок боковых листочков клевера ползучего не увеличивалась, несмотря на снижение всхожести семян.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Palmer A.R. Fluctuating asymmetry analyses revisited / Palmer A.R., Strobeck C. // *Developmental Instability (DI): Causes and Consequences* / ed. M. Polak - Oxford University Press, Oxford., 2003. - P. 279-319.
2. Захаров В. М. Здоровье среды: методика оценки / Захаров В. М. и др. - М.: Центр экологической политики России, 2000. - 68 с.
3. Van Valen L. A study of fluctuating asymmetry / Van Valen L. // *Evolution* – 1962. - V.16. – P. 125-142.
4. Graham, J. H. Antisymmetry, directional asymmetry, and dynamic morphogenesis / Graham J. H., Freeman D. C., Emlen J. // *Genetica*. – 1993. – V. 89. – P. 121-137.
5. Petavy G. Phenotypic and genetic variability of sternopleural bristle number in *Drosophila melanogaster* under daily thermal stress: developmental instability and anti-asymmetry / Petavy G. et al. // *Evolutionary Ecology Research*. – 2006. - V.8.- P.149-167.
6. Graham J. H. Effects of lead and benzene on the developmental stability of *Drosophila melanogaster* / Graham J. H., Roe K.E., West T. B. // *Ecotoxicology*. - 1993. – V.2. – P.185-195.
7. Маслов Ю.И. Установление степени достоверности (значимости) различий между сериями измерений / Маслов Ю.И. // *Методы биохимического анализа растений* / под ред. В.В. Полевого и Г.Б. Максимова. - Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1978. – С. 163-183.
8. Рокитский П.Ф. Биологическая статистика / Рокитский П.Ф. - Минск: «Вышэйш. школа», 1967. - 328 с.
9. Бюль А, Цёфель П. SPSS: искусство обработки информации. Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей / Бюль А, Цёфель П. - СПб.: ООО «ДиаСофтЮП», 2005 – 608 с.

10. Гелашвили Д.Б. Статистический анализ флуктуирующей асимметрии билатеральных признаков разноцветной ящурки *Eremias arguta* / Гелашвили Д.Б. и др. // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии : сборник научных трудов. Вып. 7. – Тольятти, 2004. – С. 45–59.
11. Гигиенические нормативы ГН 2.1.7.2042-06 Ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве. – Введ. 2006- 01-04.

## Summary

### **PROCEDURE OF STATISTICAL ANALYSIS OF RESULTS OF MEASUREMENTS FOR EXAMPLE FLUCTUATING ASYMMETRY OF WHITE CLOVER (*TRIFOLIUM REPENS* L.) GROWN IN SOIL CONTAMINATED WITH LEAD IONS**

*A.A.Kolontsov, N.A.Saveljeva, E.E.Belova*

Moscow Region State Institute of Humanities

*Abstract.* The procedure for the statistical analysis of the results of measurement of fluctuating asymmetry plants has been suggested. The scheme includes a inspection of data for bad raw measurements, for aberrant individuals, for normal distribution of values of the difference between left and right measurements of the parameters, the presence of directional asymmetry and antisymmetry, inspection for size-dependence of fluctuating asymmetry, an assessment of measurement error analyzes of variance and comparison of the fluctuating asymmetry of different objects one-way ANOVA. The procedure has been applied to assess the effects of lead ions on the fluctuating asymmetry of the central veins of the lateral leaflets of white clover (*Trifolium repens* L.). Not found the influence of heavy metal on this parameter when the content of lead in soil at a concentration of 650 mg / kg.

*Key words:* fluctuating asymmetry, statistical analysis, white clover, lead.

## ОЦЕНКА ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО КАЧЕСТВА ЗЕРНА ГРЕЧИХИ, ПОДВЕРГШЕГОСЯ ДВУКРАТНОЙ ОБРАБОТКЕ РЕГУЛЯТОРАМИ

Мишина О.С.

Московский государственный областной гуманитарный институт

*Аннотация.* При переработке гречихи большое значение имеют технологические свойства, определяющие выход и качество крупы. Большое значение в производстве имеют сорта, сочетающие продуктивные свойства с высокими качественными показателями. Технологические показатели переработки зерна гречихи обоих сортов определяются не только сортовыми особенностями культуры, но и различными погодными условиями и концентрацией биорегуляторов циркона и карвитола.

*Ключевые слова:* агротехнологии, технологические свойства зерна, натуральные регуляторы роста, биорегуляторы.

Увеличение производства зерна и продуктов его переработки является стратегической государственной задачей и основой достижения продовольственной безопасности страны [1]. Эта задача может быть решена внедрением в сельскохозяйственное производство новых интенсивных сортов с высоким потенциалом урожайности, современных агротехнологий с применением защитно-стимулирующих комплексов [6, 8, 9]. В этом смысле гречиха является одной из перспективных крупяных культур. В настоящее время гречневую крупу вырабатывают из пропаренного и не пропаренного зерна гречихи. Из гречневой крупы получают ядрица, которые представляют собой целые и надколотые ядра гречихи, освобождённые от плодовых оболочек [1-5]. Ядрица делятся на первый и второй сорта, а также продел – ядра гречихи, освобождённые от плодовых оболочек, но расколотые на части. Ядрица и продел, получаемые из пропаренного зерна, называют быстрорастворивающимися. В зависимости от сорта, а также условий и технологий производства выход гречневой крупы из зерна составляет 70-80% [6]. При обрушивании зерна получают лузгу, которая представляет собой цветочные и плодовые оболочки, и является отходом крупяного производства. Лузга, состоящая преимущественно из клетчатки и пентозанов, находит применение в получении топливного газа, в качестве подстилочного материала, а также для изготовления картона, коричневого красителя для хлопчатобумажных тканей и в лечебных целях как наполнитель для подушек. Гречневую муку получают путём размола крупы ядрицы. Гречневая крупа в малых количествах используется в винокурении и пивоварении [1].

При переработке гречихи большое значение имеют технологические свойства, определяющие выход и качество крупы. Для характеристики технологической ценности гречихи используют показатели качества: плёнчатость, крупность и выравненность зерна. Улучшение технологических качеств зерна важная задача для отрасли растениеводства. Качество гречневой крупы нормируется ГОСТ 5550-74. Она должна иметь нормальный вкус и запах, цвет кремовый с желтоватым или зеленоватым оттенком, у быстрорастворивающихся круп –

коричневый разных оттенков. Влажность гречневых круп для текущего потребления – не более 14%, для длительного хранения – не более 13%. Зерно, поступающее на переработку, должно быть не ниже кондиций, утверждённых стандартами на зерно по ГОСТ 19093-73, поставляемое крупяной промышленностью. Качество урожая определяется соотношением и совокупностью действия внутренних и внешних факторов. К внутренним факторам относят природные особенности растений, их биологическую сущность, наследственные признаки. Внешними факторами являются климатические условия, состав почвы и совокупность агротехнических мероприятий. Одним из способов улучшения технологических качеств зерна гречихи является применение синтетических и натуральных регуляторов роста совместно с минеральными удобрениями и средствами защиты растений [8]. Однако вопрос о влиянии регуляторов на технологические показатели переработки зерна гречихи изучен недостаточно. Он представляет значительный интерес, как в теоретическом, так и в практическом плане, особенно в связи с тем, что в настоящее время широко внедряется индустриальная интенсивная технология возделывания сельскохозяйственных культур, в которой широко применяются биорегуляторы роста растений в составе защитно-стимулирующих комплексов. К биорегуляторам нового поколения относятся препараты циркон и карвитол. Данные регуляторы относятся к биологически активным препаратам, поэтому представляло интерес изучить их действие на технологические качества получаемых семян гречихи.

Большое значение в производстве имеют сорта, сочетающие продуктивные свойства с высокими качественными показателями (крупность плодов, натура, выравненность зерна, плёнчатость).

*Материалы и методы.*

Объектом исследования были растения гречихи (*Fagopyrum esculentum* Moench.) двух сортов Молва и Диалог, относящихся к разным генотипам. Сорт Молва - индетерминантного морфотипа с ограниченным ветвлением ветвей первого порядка (мутантный аллель *lsb*), незавершённым типом роста; сорт Диалог – детерминантного морфотипа (му-

тантный аллель *d*), ограниченно ветвящийся, с законченным типом роста [2,5,9]. Семена гречихи обоих сортов перед посевом обрабатывались регуляторами роста растений цирконом (производитель ННПП «НЭСТ М», Москва) и карвитолом (производитель ОАО «МУК ЕвроХим») [8, 9]. Циркон: препаративная форма - раствор гидроксикоричных кислот в спирте (0,1 г/л). Действующее вещество - смесь гидроксикоричных кислот (ГКК), получаемых из растительного сырья эхинацеи пурпурной. ГКК относятся к классу фенольных соединений, повсеместно распространенных в растениях. Биологическая активность циркона в значительной степени обусловлена антиоксидантными свойствами, характерными для фенольных соединений. Циркон в растениях выполняет функции регулятора роста, иммуномодулятора и антистрессового адаптогена. Под действием препарата на некоторых сельскохозяйственных культурах наблюдается значительное снижение повреждающего действия инфекции, степени интоксикации растения, стабилизируется проницаемость клеточных мембран инфицированной ткани [8, 9]. Природные вещества, входящие в состав циркона, естественным путём включаются в метаболизм растения, (а также почвенной микрофлоры), стимулируют защитные силы подвергнутого обработке растения, активизируют обмен, дыхание, и синтез хлорофилла. Циркон усваивается и утилизируется растением за 18 часов. Природные фенольные соединения в почве и водоемах быстро метаболизируются естественными путями, микроорганизмами – деструкторами растительных остатков [8].

Препарат карвитол - действующее вещество - ацетиленовый спирт (2-метил-3-бутин-2-ол), относится к препаратам 4-го класса токсичности. Ацетиленовый спирт, обладает свойствами ауксинов и гиббереллинов, ускоряет прохождение физиолого-биохимических процессов, повышает процессы плодобразования, иммунитет к ряду болезней. В стрессовых условиях предотвращает снижение урожайности сельскохозяйственных культур. Основные преимущества препарата: широкий спектр положительно изменяемых показателей; небольшой расход действующего вещества; широкий спектр сельскохозяйственных культур для применения; стабильный состав; низкие токсикобиологические показатели; отсутствие экологических последствий после применения; безопасность для человека, животных, птиц и рыб; гарантия получения экологически чистого, качественного урожая [6, 8, 9].

Полевой мелкоделяночный опыт поставлен по методу Б.А. Доспехова в 2006-2009гг. на агробиологической станции Московского государственного областного гуманитарного института (г.Орехово-Зуево Московской обл.). Площадь опытных делянок 1м<sup>2</sup>. Повторность опытов - четырехкратная. Посев осуществляли широкорядным способом на глубину 3 см при прогревании почвы до 15-18°C и оптимальной влажности (60-70%). В условиях лабораторных опытов были выявлены оптимальные концентрации препаратов циркона и карвитола. Перед посевом семена замачивали в течение 4 часов в растворе циркона -3 в концентрации-1х10<sup>-6</sup>г/л и циркона -4 в концентрации-1х10<sup>-5</sup>г/л; и карвитола-2 в концентрации- 5х10<sup>-5</sup>л/г и карвитола-3 в концентрации-5х10<sup>-4</sup>г/л. Опрыскивание растений проводили однократно в фазу бутонизации - начала цветения растворами циркона и карвитола тех же концентраций [9].

низации - начала цветения растворами циркона и карвитола тех же концентраций [9].

Собранные семена гречихи обоих сортов анализировали на технологические показатели качества зерна на базе Орловского НИИ зернобобовых и крупяных культур.

Плёнчатость определяли по ГОСТ 10843-76 отделением плёнок, вычисляли их процентное содержание по отношению к массе необрушенного зерна. Крупность и выравненность зерна определяли при помощи лабораторных решётных классификаторов на ситах с круглыми отверстиями диаметром 4,8; 4,5; 4,2;4,0; 3,8; 3,6; 3,4 и 3,2 мм. При наличии более крупного зерна вводили сита диаметром 5 мм. Крупность гречихи характеризуют размерами отверстий двух смежных сит, на которых при сортировании осталось наибольшее количество зерна, а выравненность – суммой сходов с этих сит, выраженной в процентах от исходной навески. Выход крупы определяли на вальцедековом станке ЛВС-1М конструкции НПО «Агроприбор», с применением сит с отверстиями 1,6х20мм и металлоткани №8. После шелушения навески полученную крупу просеивали через сито. Сход с этого сита представляет собой ядрицу, а проход – продел. Лузгу и муку разделяли на металлотканом сите. Все продукты переработки взвешивали с точностью до 0,01 г. Оценку материала проводили по общему выходу крупы, выходу ядрицы, продела, лузги и мучки, которые рассчитывали в процентах от массы исходной навески как среднее из двух повторений. По суммарному количеству пропусков через станок судили о лёгкости шелушения зерна.

#### *Результаты и их обсуждение.*

Результаты оценки технологического качества зерна гречихи, подвергнутого двойной обработке регуляторами роста цирконом и карвитолом, представлены в таблице. Полученные данные свидетельствуют о том, что циркон-4 незначительно снижал плёнчатость плодов гречихи сорта Диалог, однако не повлиял на данный показатель у плодов гречихи сорта Молва. При этом на 4% снижалась крупность крупы под воздействием данного регулятора у плодов сорта Диалог. Сходные показатели у карвитола-3 - происходило снижение показателя плёнчатости у плодов гречихи сорта Молва, однако у плодов сорта Диалог данный показатель не изменялся. При этом крупность крупы у обоих сортов увеличивалась под воздействием карвитола-3 до 18% по сравнению с контрольными образцами. В результате двойной обработки (предпосевное замачивание семян и опрыскивание растений в фазу бутонизации – начала цветения) биорегуляторами карвитолом и цирконом обеих концентраций увеличивался выход ядрицы и всей крупы у растений гречихи сорта Диалог. Однако, выравненность плодов обоих сортов, обработанных регуляторами, была ниже контрольных образцов до 17%. Обработка карвитолом-2 и цирконом-3 семян и вегетирующих растений гречихи сортов Диалог и Молва способствовала повышению выхода ядрицы и уменьшению - продела, но на общий выход крупы не повлияла. Циркон-3 и карвитол обеих концентраций увеличивали крупность крупы сорта Молва на 5 и 18% соответственно,

# ОЦЕНКА ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО КАЧЕСТВА ЗЕРНА ГРЕЧИХИ, ПОДВЕРГШЕГОСЯ ДВУКРАТНОЙ ОБРАБОТКЕ РЕГУЛЯТОРАМИ

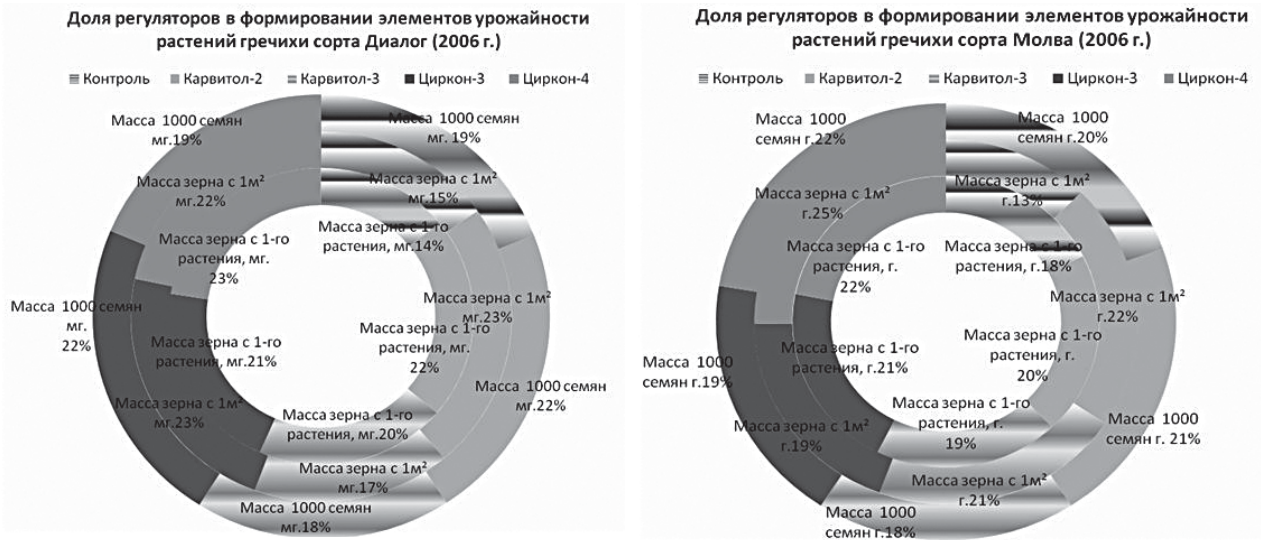


Рис.1. Влияние циркона и карбитола на массу семян гречихи сортов Диалог и Молва (2006г.)

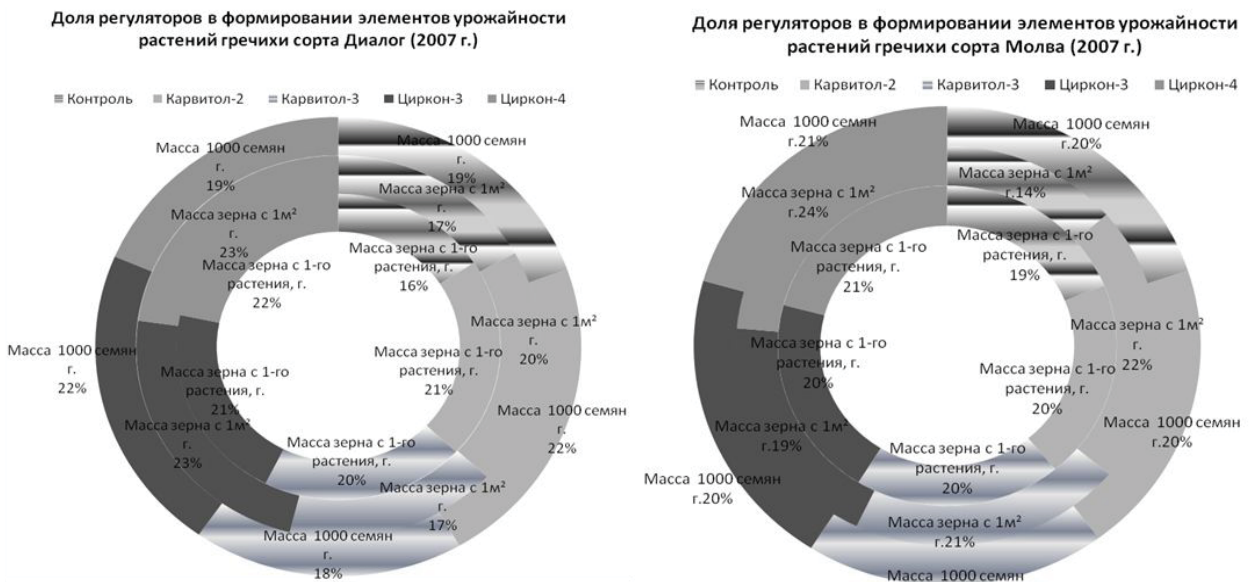


Рис.2. Влияние циркона и карбитола на массу семян гречихи сортов Диалог и Молва (2007г.)

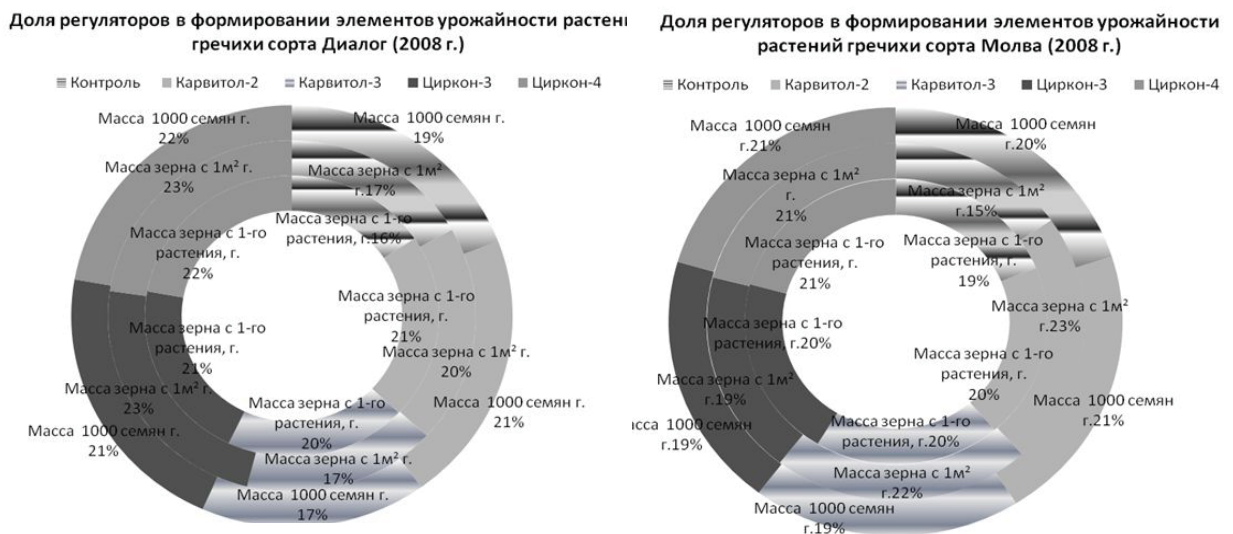


Рис.3. Влияние циркона и карбитола на массу семян гречихи сортов Диалог и Молва (2008г.)



по сравнению с контролем, а у сорта Диалог данный показатель не изменялся. Неблагоприятные погодные условия 2008 г. сказались как на уменьшении урожайности, так и на снижении товарного качества зерна гречихи сортов Диалог и Молва. Семена были щуплые и менее выполненные по сравнению с 2007г.

Важным показателем, характеризующим сортовые признаки растений гречихи и определяющим её продуктивность, является число и масса зерна с 1-го растения и масса 1000 семян. Анализируя данные проведённых исследований 2006-2008 гг., о влиянии регуляторов на массу семян с 1-го растения, 1000 семян и с 1м<sup>2</sup> можно сказать, что развитие элементов структуры урожая по годам было неравномерным. Однако, двойная обработка Карвитолом и Цирконом семян и вегетирующих растений гречихи сортов Диалог и Молва способствовала увеличению числа и массы зерна с 1-го растения, что в свою очередь повлияло на увеличение массы семян с 1м<sup>2</sup> по всем годам исследований. Максимальными данные показатели были получены в 2007г. у растений гречихи обоих сортов, обработанных Карвитолом-2 и Цирконом-4, прибавка составила у Диалога 35% и 37%, а у Молвы 7% и 11%, соответственно. Этот год был самым тёплым в период с 2006-2008г.г..

Исследованиями Ф.З.Кадыровой было установлено, что формирование массы 1000 семян определено преимущественно генетическими факторами и слабо зависит от агротехнических и климатических условий. По нашим наблюде-

ниям масса 1000 семян у изучаемых сортов, обработанных Карвитолом и Цирконом, изменялась незначительно и была на уровне или чуть ниже контроля. Максимальным этот показатель был получен в 2008 г. у семян растений гречихи сорта Диалог, обработанных Цирконом-4 прибавка к контролю составила 15%. (рис.1-3).

Таким образом, технологические показатели переработки зерна гречихи обоих сортов определяются не только сортовыми особенностями культуры, но и различными погодными условиями и концентрацией биорегуляторов циркона и карвитола.

#### *Выводы*

1. Изучено влияние регуляторов роста растений циркона и карвитола на технологические качества плодов гречихи. Установлено, что двойная обработка регуляторами карвитолом-2 и цирконом-3 улучшала товарный вид крупы гречихи сорта Молва.

2. У растений гречихи сорта Диалог под действием обоих препаратов увеличивалась доля целых ядер, но на крупность крупы регуляторы не повлияли.

3. Максимальная масса зерна с 1м<sup>2</sup> была получена при обработке у сорта Диалог Цирконом обеих концентраций, а у сорта Молва Карвитолом обеих концентраций и Цирконом-4, прибавка составила более 40% у Диалога, а у Молвы до 78%. Однако, воздействие регуляторов Карвитола и Циркона на такой показатель, как масса 1000 семян было незначительным.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ткач А.М. Повышение эффективности производства и переработки гречихи.- Автореферат канд. экон. наук, М., 2003. - С.40.
2. Фесенко А.Н. Новые методы создания скороспелых сортов гречихи //Вестник Орловского ГАУ, 2009, №3. - С.26-29.
3. Соловьёв А.В. Оптимизация факторов повышения урожайности крупяных культур в условиях северо-запада Поволжья.- Автореферат д.с.-х. н., Брянск, 2008. – 24 с.
4. Гречиха// под ред. В.А.Драгавцева – С.-Пб., ГНЦ РФ ВИР, 2006. - 196 с.
5. [http://www.gks.ru/bgd/regl/b09\\_11/Main.htm](http://www.gks.ru/bgd/regl/b09_11/Main.htm)
6. Шаповал О.А., Вакуленко В.В., Прусакова Л.Д., Можарова И.П., Регуляторы роста растений в практике сельского хозяйства, М., 2009. - С.60.
7. Малеванная Н.Н. Препарат циркон – иммуномодулятор нового типа. // Тез. докл. науч.-практ. конф. «Применение препарата циркон в производстве сельскохозяйственной продукции», М., 2004. - С.40.
8. Шаповал О.А., Вакуленко В.В., Прусакова Л.Д. Регуляторы роста растений.- Защита и карантин растений, №12, 2008. - С.54-71.
9. Мишина О.С., Белопухов С.Л., Прусакова Л.Д. Физиологические основы применения регуляторов роста циркона и карвитола для увеличения продуктивности гречихи //Агрехимия, 2010, №1.- С.52-65.

#### **Summary**

### **ESTIMATION OF TECHNOLOGICAL QUALITY OF GRAIN OF THE BUCKWHEAT, TO DOUBLE PROCESSING BY REGULATORS**

*O.S. Mishina*

Moscow Region State Institute of Humanities

*Abstract.* At processing of a buckwheat the technological properties defining an exit and quality of groats have great value. In manufacture the grades combining productive properties with high quality indicators have great value. Technological indicators of processing of grain of a buckwheat of both grades are defined not only high-quality features of culture, but also various weather conditions and concentration of bioregulators of zircon and karvitol.

*Key words:* agrotechnologies, technological properties of grain, natural regulators of growth, bioregulation.

## МОНИТОРИНГ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ РЕКИ КЛЯЗЬМЫ

*Коротков О.В., Сапова Е.В.*

Московский государственный областной гуманитарный институт

*Аннотация.* Целью и задачей проведенного исследования являлось определение возможности использования основного водоема г. Орехово-Зуево (реки Клязьма) в качестве рекреационного. В ходе исследования использовался стандартный метод титрования на мембранных фильтрах.

*Ключевые слова:* мониторинг, титрование, кишечная палочка.

Развитие современной промышленности и сферы услуг, а также расширяющееся использование ресурсов биосферы, приводит к возрастающему вмешательству человека в процессы, протекающие на планете. Загрязнение - наиболее опасный вид воздействия человека на природу. Непосредственно объектами загрязнения являются атмосфера, вода, почва.

Особенно актуален вопрос загрязнения водных ресурсов, так как наряду с обеспечением физиологических функций организма вода имеет важнейшее гигиеническое значение. Качество воды рекреационных водоемов рассматривается как ведущий показатель санитарного благополучия населения. Основными источниками загрязнения являются главным образом бытовые сточные воды и стоки некоторых промышленных предприятий (предприятия микробиологической промышленности, бойни, кожевенные заводы, крупные животноводческие хозяйства и т.д.). В результате загрязнения изменяются микробиологические показатели воды, что может привести к опасности развития заболеваний: кишечные инфекции бактериальной природы (холера, брюшной тиф, энтериты и энтероколиты), вирусные заболевания (гепатит А, полиомиелит, аденовирусные и энтеровирусные инфекции), глистные инвазии и многое другое.

Несмотря на то, что сегодня имеются разнообразные методы индикации многих патогенных агентов, они остаются достаточно трудоемкими, длительными и дорогостоящими. В связи с этим проведение мониторинга за каждым патогенным микроорганизмом в воде признано не целесообразным. Более логичным подходом является индикация микроорганизмов, присутствующих в организмах человека и животных в качестве индикаторов биологического загрязнения водоемов, а также показателей эффективности процессов очистки и обеззараживания воды. Наличие в пробах воды таких агентов указывает на присутствие патогенных микроорганизмов. Важнейшим индикатором микробио-

логического состояния воды является *E.coli*. Разработан доступный и достоверный титрационный метод или метод мембранных фильтров для количественного обнаружения индикаторных колиформных микроорганизмов. К ним относятся грамтрицательные палочки, обладающие способностью ферментировать лактозу при 35-37°С (общие колиформы) и при 44-44,5°С (термотолерантные колиформы) до кислоты и газа, оксидазоотрицательные, не образующие спор и включающие виды кишечной палочки, цитробактер, энтеробактер, клебсиеллу.

С использованием данного метода оценки микробиологической безопасности воды в ноябре 2009 и в марте 2010 годов нами были исследованы пробы воды основного рекреационного водоема города Орехово-Зуево (реки Клязьмы). Полученные данные представлены в таблице. Пробы воды брались в двух точках: 1) до города, в районе Желтой горы; 2) после сброса очистных сооружений перед д. Войново. В результате проведенных исследований было установлено превышение предельнодопустимых концентраций колиформных бактерий в пробе 1 в 260 раз, а в пробе 2 – в 32 раза. Полученные результаты показывают: а) река Клязьма не может быть использована в качестве рекреационного водоема; б) превышение ПДК колиформных бактерий в пробе 1 свидетельствует о недостаточной очистке бытовых сточных вод городов Павлово-Посад и Дрезна, расположенных выше по течению реки; в) очистные сооружения города Орехово-Зуево существенно (в 8 раз) снижают содержание микробов в пробах воды, но превышение ПДК остается высоким. Из всего вышесказанного следует вывод, что река Клязьма может быть использована в качестве рекреационного водоема только после снижения концентрации микробов до установленных санитарных норм, что может произойти при повышении эффективности работы очистных сооружений городов Павлово-Посад и Дрезна, а также в результате самоочистки водоема.

Таблица 1. Результаты титрования индикаторных колиформных бактерий в пробах воды из р. Клязьма.

Дата	Объект	Разведения пробы	Фильтры на среде Эндо (кол-во колоний)		Оксидазный тест	Окраска по Грамму	Ферментация лактозы до кислоты и газа		ОКБ КОЕ в 100 мл	Превышение ПДК (раз)
			I	II			K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
13.11.09	р.Клязьма до города (в районе Желтая гора)	1,0	0,01						1*10 <sup>5</sup>	200
		0,1	I	3	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
		0,01	II	3	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
		0,001	IV	2	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
			V	1	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
			VI	1	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
					0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
	р.Клязьма после сброса (перед д.Войново)	1,0	0,01						0,12*10 <sup>6</sup>	24
		0,1	II	6	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
		0,01	III	2	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
		0,001	V	3	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
			VI	1	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
					0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
	17.03.10	р.Клязьма до города (в районе Желтая гора)	1,0	0,01						1,3*10 <sup>5</sup>
0,1			I	5	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
0,01			II	4	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
0,001			III	1	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
			IV	3	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
					0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
р.Клязьма после сброса (перед д.Войново)		1,0	0,01						0,16*10 <sup>5</sup>	32
		0,1	II	1	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
		0,01	III	3	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
		0,001	IV	6	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
			V	5	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
			VI	1	0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
					0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		
					0	G <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>		

## **Summary**

### **MONITORING OF MICROBIOLOGICAL SAFETY OF THE KLYAZMA RIVER**

*O.V. Korotkov, E.V.Sapova*

Moscow Region State Institute of Humanities

*Abstract.* The purpose and objective of the study was to determine the possibility of using the main reservoir Orekhovo-Zuyevo (the river Klyazma) as recreational. In the course of the research is a standard method of titration of the membrane filters.

*Key words:* monitoring, coli-forms, titration, escherichia coli.

## ЛЮРАСТИМ – АНТИСТРЕССОВЫЙ РЕГУЛЯТОР РОСТА ПШЕНИЦЫ

*Фролова Н.А., Фадеева Н.В.*

Московский государственный областной гуманитарный институт

МОУ «Ликино-Дулевский лицей»

*Аннотация.* Изучалось влияние препарата «Люрастим» на семена пшеницы сорта «Мионовская-808», подвергнутые воздействию неблагоприятных условий (40°C и 100% относительная влажность воздуха). Обработка семян «Люрастимом» снизила воздействие неблагоприятных факторов и повысила посевные качества семян пшеницы.

*Ключевые слова:* семена, люрастим, неблагоприятные условия.

**В** последние годы большое внимание уделяется проблеме регуляции роста и развития растений. Долгое время с этой целью использовали природные регуляторы роста – фитогормоны. Эти биологически активные вещества действуют в небольших количествах, обнаруживая высокую эффективность.

Сейчас на смену фитогормонам пришли синтетические регуляторы роста с ещё большей эффективностью.

Первые синтетические регуляторы воздействовали только на ростовые процессы. Например, индолилуксусная кислота ускоряла корнеобразование, стимулировала прорастание семян. Гиббереллин использовался для получения бессемянных плодов винограда, увеличения волокна конопли. Затем появились реторданты – вещества, понижающие длину стеблей зерновых культур, что предотвращало их полежание.

Современные регуляторы роста обладают полифункциональным воздействием на растения. Особое предпочтение отдаётся природным веществам, которые могут быть выделены из растений, грибов, микроорганизмов и выполняющим роль, с одной стороны, стимуляторов роста, а с другой стороны, функции защиты растений от неблагоприятного воздействия абиотических и антропогенных факторов и болезней. Применение биологически активных веществ в засушливых и переувлажнённых регионах значительно повышает адаптивные свойства и иммунитет сельскохозяйственных растений, увеличивая их урожай и качество продукции.

К одним из таких препаратов относится люрастим. Это натуральный экологически безопасный препарат широкого спектра действия. Он изготовлен из плаценты по уникальной технологии профессора Любимова Ю.И., позволяющей сохранить высокую биологическую активность природных веществ плаценты.

Он не имеет аналогов по эффективности применения для увеличения энергии прорастания и всхожести семян

зерновых, овощных и цветочных культур. Отмечено фунгицидное и бактерицидное действие препарата. Люрастим увеличивает урожайность и количество земной массы растений. Препарат представляет собой денатурированную и эмульгированную плаценту.

Он содержит 20 аминокислот, низкомолекулярные пептиды, протеины, липиды, коэнзим Q<sub>10</sub>, цитокинины, полинасыщенные кислоты, сбалансированный природный комплекс витаминов, макро- и микроэлементы. Препарат не содержит химических добавок, следов тяжелых металлов, является экологически чистым. Изучали действие люрастима на семена пшеницы «Мионовская-808», подвергнутые воздействию неблагоприятных условий (40°C и 100% относительная влажность воздуха).

### *Методика*

Объектом исследования были семена пшеницы сорта «Мионовская-808». Для выяснения влияния на семена стрессовых условий (40°C и 100% относительная влажность воздуха) использовали метод «ускоренного старения семян», предложенный рядом авторов. С этой целью семена пшеницы помещали в термостат при температуре 40°C и 100% относительной влажности воздуха на специальные сетки, где они находились в течение двух и четырех суток.

### *Опыт проводили по следующей схеме:*

Контроль – семена не подвергались действию неблагоприятных условий (НУ): 40°C и 100% относительная влажность воздуха;

2 НУ и 4 НУ – семена в течение 2-х и 4-х дней находились в неблагоприятных условиях;

2НУ + Л – семена в течение 4-х часов замачивали в 0,1% растворе люрастима, затем подвергали воздействию неблагоприятных условий в течение 2-х дней.

4НУ + Л – семена в течение 4-х часов замачивали в 0,1% растворе люрастима, затем подвергали воздействию неблагоприятных условий в течение 4-х дней.

Энергию прорастания определяли на 3-й день, а всхожесть на 7-й день от начала проращивания. Повторность опытов трёхкратная по 100 семян в каждой.

#### Результаты

Проведенные исследования показали, что неблагоприятные условия заметно снижают посевные качества семян. Так, энергия прорастания после 2-х суток пребывания семян в стрессовых условиях была ниже контроля на 29%, а всхожесть на 6%. После 4-х суток воздействия неблагоприятных условий эти показатели были ниже на 31% и 11% соответственно.

Обработка семян люрастимом снизила воздействие неблагоприятных условий. Обработанные семена, находившиеся в течение 2-х дней в неблагоприятных условиях почти приблизились к контрольным значениям, а семена, находившиеся в стрессовых условиях 4 дня, хотя и не достигли контроля, но значительно повысили энергию прорастания и всхожесть (табл. 1).

Положительное влияние люрастима сказалось и на проростках, выращенных из опытных семян. Наибольший эффект люрастима отмечен для корневой системы. Так, обработка семян люрастимом, увеличила длину корней проростков на 0,5 см по сравнению с контролем, несмотря на то, что семена находились в антистрессовых условиях в течение 2-х суток. Сходные результаты были получены по высоте проростков (табл. 2).

**Таблица 1.** Влияние неблагоприятных условий и люрастима на энергию прорастания и всхожесть семян пшеницы сорта «Мироновская-808»

Вариант	Энергия прорастания (%)	Всхожесть (%)
Контроль	81,0 + 0,3	92,0 + 0,1
2 НУ	52,0 + 0,2	86,0 + 0,1
4 НУ	50,1 + 0,1	81,3 + 0,2
2 НУ +Л	79,5 + 0,1	86,6 + 0,1
4 НУ + Л	76,5 + 0,2	89,3 + 0,2

**Таблица 2.** Влияние неблагоприятных условий и люрастима на длину корней и высоту проростков пшеницы сорта «Мироновская-808»

Вариант	Длина корней (см)	Высота проростков (см)
Контроль	10,5 + 0,01	7,3 + 0,02
2 НУ	9,4 + 0,01	7,0 + 0,01
4 НУ	8,3 + 0,02	6,2 + 0,02
2 НУ +Л	11,0 + 0,02	7,3 + 0,01
4 НУ + Л	11,0 + 0,02	7,1 + 0,01

На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что люрастим снимает отрицательное влияние неблагоприятных условий (40°C и 100% относительная влажность воздуха), повышает посевные качества семян, стимулирует рост и развитие проростков пшеницы сорта «Мироновская-808»..

## Summary

### LJURASTIM – THE ANTISTRESSFUL REGULATOR OF GROWTH OF WHEAT

*N.A.Frolova, N.V.Fadeeva*

Moscow Region State Institute of Humanities,  
Likino-Dulevsky lycée

**Abstract.** The impact of the specimen “Lyurastim” on the wheat seeds of the variety “Myronovskaya-808” was studied. The seeds were subjected to the effect of unfavorable conditions (40 °C and 100% relative humidity).

Seed processing with “Lyurastim” reduced the impact of the unfavorable factors and improved the sowing qualities of the wheat seeds.

**Key words:** seeds, “Lyurastim”, unfavorable conditions.

## РАЗДЕЛ 2.

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК 615.272

### ВОЗМОЖНОСТЬ КОРРЕКЦИИ КАРНИТИНА ХЛОРИДОМ ИЗМЕНЕНИЙ НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В МУЖСКИХ ДОБАВОЧНЫХ ПОЛОВЫХ ЖЕЛЕЗАХ КРЫС ПРИ БЕЛКОВОДЕФИЦИТНОЙ ДИЕТЕ

*Звягина В.И.*

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова

*Аннотация.* Экспериментальная белководефицитная диета, помимо снижения веса тела животных, сопровождалась падением объема секрета семенных пузырьков и уровня секреторируемой семенными пузырьками фруктозы. При курсовом введении карнитина на фоне низкобелковой диеты установлено, что неседиментируемая активность кислой фосфатазы и  $\beta$ -галактозидазы достигала уровня, характерного для интактных животных, во всех исследуемых органах.

*Ключевые слова:* белководефицитная диета, карнитин, семенные пузырьки, неседиментируемая активность кислой фосфатазы, лизосомальные гидролазы.

**Н**едостаток белков в питании вызывает у детей замедление роста и развития, а у взрослых – глубокие изменения в печени, нарушение деятельности желез внутренней секреции, изменение гормонального фона, ухудшение усвоения питательных веществ, проблемы с сердечной мышцей, ухудшение памяти и работоспособности. Кроме того, белковая недостаточность часто сопровождается авитаминозом, что также влияет на состояние здоровья.

Белковая недостаточность организма возникает при продолжительном нарушении равновесия между образованием и распадом белка в организме в сторону распада. Алиментарные причины этого явления – малое содержание белка в пище или преобладание белков низкой биологической ценности с дефицитом незаменимых аминокислот. При этом питание может удовлетворять потребность организма в энергии за счет углеводов и жиров. Однако энергетическая недостаточность питания усугубляет дефицит белков в пище: белки начинают расходоваться на покрытие энерготрат организма, и, кроме того, усвоение поступившего с пищей белка ухудшается.

Карнитин (L-триметил - 3 - гидроксид - 4 - аминокислота) по современной классификации относится к витаминоподобным веществам [3,4]. Большая его часть (около 75%) поступает в организм человека в составе мясных продуктов, остальное количество синтезируется из незаменимой аминокислоты лизина [4]. При недостаточном поступлении

в организм пищевого белка будет возникать и недостаток субстрата для синтеза карнитина. Нет однозначного мнения о целесообразности назначения карнитина взрослым, получающим полное парентеральное питание, так как данные о влиянии экзогенно вводимого карнитина на биохимический статус таких пациентов достаточно противоречивы, однако очевидно, что нарушения его обмена при некоторых врожденных и приобретенных заболеваниях веществ, требуют заместительной коррекции карнитином [5].

Цель работы: изучить изменения биохимических показателей, возникающих в мужских добавочных половых железах крыс при дефиците пищевого белка в рационе, и оценить эффективность экзогенного введения карнитина для коррекции измененного статуса животного.

#### *Материалы и методы.*

Эксперименты проведены на белых половозрелых крысах-самцах, массой 230-250 г. Опытные крысы в течение 30 дней находились на диете с дефицитом пищевого белка (7,5%), контрольные животные получали пищу с 18% содержанием белка (стандартный рацион вивария). Затем опытным животным вводили карнитина хлорид в дозе 25 мг/кг в течение 14 дней.

В каждую группу сравнения входило 6-8 животных.

Общий карнитин определялся газохроматографически по образованию летучего продукта  $\gamma$ -бутиролактона

по методу L.M.Lewi (1977) в модификации, на базе лаборатории биохимической экологии РязГМУ. Содержание карнитина в тканях выражали в нмоль/мг сырой ткани, в сыворотке крови – в нмоль/л. Активность НАД<sup>+</sup> и НАДФ<sup>+</sup> зависимой малатдегидрогеназы (МДГ) и НАД<sup>+</sup> и НАДФ<sup>+</sup> зависимой изоцитратдегидрогеназы (ИЦДГ) определяли по методу, описанному Д.Гебелом и М.Клингенбергом (1964). Субстратом для ИЦДГ служила изолимонная кислота, для МДГ - D, L малат. Для определения количества секретлируемой семенными пузырьками фруктозы использовали метод M.Roe (1934). Концентрацию тестостерона в сыворотке крови измеряли радиоиммунным методом при помощи набора «Testo СТ2» в ЦНИЛ РязГМУ. В гомогенатах тканей вентральной доли предстательной железы, семенных пузырьков и головки эпидидимиса, приготовленных по стандартной методике с использованием 0,25 М сахарозы рН 7,4, содержащей 1 мМ ЭДТА, определяли неседиментируемую и седиментируемую активность β-глюкозидазы, кислой фосфатазы и β-галактозидазы. Активность кислой фосфатазы оценивали спектрофотометрически по гидролизу п-нитрофенилфосфата, субстратным раствором для определения активности β-галактозидазы служил п-нитрофенил β-D галактопиранозид, для β-глюкозидазы – п-нитрофенил β-D глюкопиранозид (А.Дж. Баррет и М.Ф. Хит, 1980). Содержание белка в гомогенате определяли по методу Bradford (1976). Результаты исследований обработаны методом вариационной статистики. Достоверность различий оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента.

*Результаты и их обсуждение.*

В ходе эксперимента установлено, что животные, находящиеся на диете с недостаточным содержанием пищевого белка, отличались от крыс контрольной группы: со второй недели опыта они становились малоподвижными, у них пропадал аппетит и, начиная с четвертой недели опыта, они теряли в массе тела. В отличие от контрольных животных, масса тела которых за 30 дней опыта увеличивалась в среднем на 19,7 ± 0,82 г (P < 0,01), крысы, содержащиеся на диете бедной белком, за этот же период теряли в весе до 14,9 ± 1,2 г (P < 0,01). Белководефицитная диета, помимо снижения веса тела животных, сопровождалась падением объема секрета семенных пузырьков и уровня секретлируемой семенными пузырьками фруктозы (табл. 1).

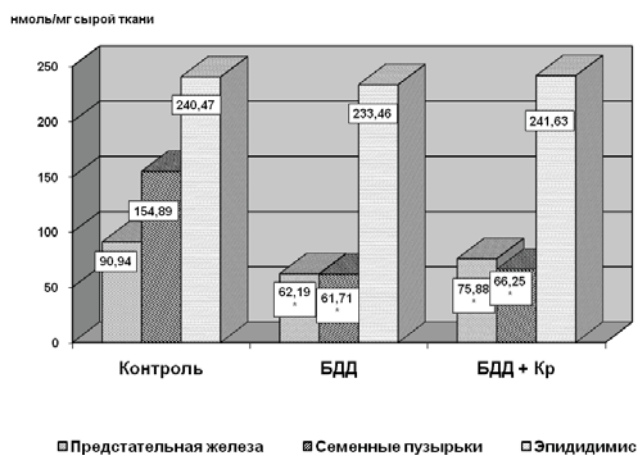
**Таблица 1.** Влияние белководефицитной диеты на концентрацию фруктозы в семенных пузырьках, объем секрета семенных пузырьков и уровень тестостерона в сыворотке крови (n=6)

	Контроль	БДД	БДД + Кр
Объем секрета (мл)	0,250 ± 0,030	075±0,015*	67±0,120 (*)

Фруктоза (нмоль/л)	0,528 ± 0,042	0,234 ± 0,021*	,308±0,060 (*)
Тестостерон (нмоль/л)	11,90±0,34	2,40±0,75*	4,96±0,34 (*)

*Примечание:* \* – достоверность различий по сравнению с контролем, – P < 0,001; (\*) - достоверность различий по сравнению с БДД, P < 0,01; БДД – белководефицитная диета; БДД + Кр – белководефицитная диета + карнитин в течение 14 дней.

Масса предстательной железы и семенных пузырьков при дефиците белка в рационе снижалась на 10% (P < 0,01) и 7,5% (P < 0,05) соответственно. Уровень тестостерона падал до 2,40 ± 0,11 нмоль/л (P < 0,001), что составило 20,0% от показателей крыс контрольной группы (табл. 1). Содержание эндогенного карнитина у животных, находящихся на белководефицитной диете, достоверно уменьшалось только в вентральной доле предстательной железы на 31,6% и семенных пузырьках на 60,2% (рис. 1).



**Рисунок 1.** Изменение уровня эндогенного карнитина у животных в условиях белководефицитного состояния и при введении им карнитина хлорида (\* – достоверность различий по сравнению с контролем, P < 0,001)

Концентрация карнитина в тканях эпидидимиса оставалась практически неизменной. Поскольку сперматозоиды используют жирные кислоты в качестве источника энергии в период их созревания то, вероятно, карнитин компенсаторно перераспределялся в придаток яичка из других тканей.

Результаты ферментного анализа лизосомальных гидролаз, (табл. 2), свидетельствуют о том, что наиболее выраженным изменениям подверглась неседиментируемая активность β-глюкозидазы во всех исследуемых нами органах она повышалась на 53,7%, 34,9% и 10,4% соответственно. Характер изменения неседиментируемой активности лизосомальных ферментов в мужских добавочных половых железах крыс позволяет сделать вывод, что при белковой



недостаточности, в значительной степени снижается стабильность лизосомальных мембран, о чем свидетельствует увеличение неседиментируемой активности исследуемых ферментов лизосом. Сходные результаты получены В.А.Тутельяном и А.В.Васильевым (1980) в исследованиях лизосомальной системы печени ими показано, что при белковой недостаточности наблюдается резкое усиление образования первичных лизосом и аутофаголизосом [1, 2].

**Таблица 2.** Влияние дефицита пищевого белка и курсового назначения карнитина на неседиментируемую активность лизосомальных гидролаз в мужских добавочных половых железах крыс

Исследуемые ферменты	Содержание белка в рационе		Белководефицитная диета + карнитин
	18%	7,5%	
Вентральная доля предстательной железы			
Кислая фосфатаза	2,17±0,07	2,29±0,04*	2,20±0,09
β-глюкозидаза	8,54±0,19	13,13±0,26***	9,03±0,09(***)
β-галактозидаза	33,89±0,36	34,86±0,22*	33,43±0,21(***)
Семенные пузырьки			
Кислая фосфатаза	3,52±0,08	3,97±0,13*	3,57±0,07
β-глюкозидаза	9,52±0,14	12,85±0,13***	10,34±0,15(***)
β-галактозидаза	39,52±0,23	39,91±0,41*	39,65±0,28
Эпидидимис (головка)			
Кислая фосфатаза	9,54±0,23	9,72±0,24**	8,67±0,25(*)
β-глюкозидаза	14,70±0,32	16,24±0,26**	14,53±0,17(***)
β-галактозидаза	44,99±0,31	46,16±0,10**	44,93±0,15(***)

*Примечание: достоверность различий по сравнению с контрольными животными – \*\*\*-  $P < 0,001$ ; \*\* -  $P < 0,01$ ; \* -  $P < 0,05$ ; достоверность различий по сравнению с моделью патологии – (\*\*\*) -  $P < 0,001$ ; (\*\*) -  $P < 0,01$ ; (\*) -  $P < 0,05$ . Активность кислой фосфатазы, β-глюкозидазы и β-галактозидазы выражали в нмоль *p*-нитрофенола / мг белка в час.*

Активность ИЦДГ (НАД<sup>+</sup>) уменьшалась в вентральной доле предстательной железы на 18,6% ( $P < 0,01$ ), семенных пузырьках на 14,1% ( $P < 0,05$ ) относительно контроля. Активность ИЦДГ (НАДФ<sup>+</sup>) увеличивалась в тканях простаты

на 19,1% ( $P < 0,01$ ). В гомогенате ткани придатка яичка активность МДГ(НАД<sup>+</sup>) и ИЦДГ(НАД<sup>+</sup>) снижалась на 17,8 ( $P < 0,05$ ) и 33,2% ( $P < 0,001$ ) соответственно. Активность МДГ (НАДФ<sup>+</sup>) достоверно не изменялась, а активность ИЦДГ(НАДФ<sup>+</sup>) увеличивалась на 56,1% ( $P < 0,001$ ). Дефицит белка, вероятно, приводит к снижению энергопродукции в эпидидимисе, о чем свидетельствует уменьшение активности дегидрогеназ цикла Кребса и приспособительной активации синтетических и обезвреживающих процессов, протекающих с участием НАДФН<sub>2</sub>.

При курсовом назначении карнитина крысам, получающим низкобелковый рацион, наблюдалось увеличение уровня карнитина в тканях предстательной железы на 22%, в семенных пузырьках на 7,4% (рис. 1). Экзогенно введенный карнитин, по-видимому, опосредованно усиливает биосинтез карнитина, либо в данном случае определяется и экзогенный и эндогенный карнитин одновременно. Содержание тестостерона после приема карнитина увеличивалось в два раза (табл.1), возможно, за счет стимуляции его синтеза корой надпочечников. Частично нормализовалась и концентрация фруктозы в семенных пузырьках. Активность НАД<sup>+</sup> - зависимых ферментов цикла ди- и трикарбоновых кислот увеличивалась на фоне введения карнитина, причем, наиболее выраженным изменениям подвергалась активность МДГ и ИЦДГ в тканях головки эпидидимиса, она увеличивалась на 17,9% ( $P < 0,001$ ) и 26,5% ( $P < 0,01$ ) соответственно.

При курсовом введении карнитина на фоне низко белковой диеты установлено, что неседиментируемая активность кислой фосфатазы и β-галактозидазы достигала уровня, характерного для интактных животных, во всех исследуемых органах; аналогичная активность β-глюкозидазы уменьшалась в простате на 31,2%, семенных пузырьках на 19,6%, но при этом значения превышали показатели крыс контрольной группы.

Снижение неседиментируемой активности лизосомальных энзимов после назначения карнитина свидетельствует о лизосомостабилизирующем действии карнитина в условиях данного эксперимента.

#### Выводы.

Таким образом, экзогенно введенный карнитин способствует нормализации нарушенных биохимических процессов в условиях белководефицита.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев А.В. Лизосомальные гидролазы различных органов крыс в процессе клеточного питания /А.В.Васильев, Ш.С.Брегвадзе, В.А.Тутельян // Вопросы медицинской химии. – 1990. – № 4. – С. 40-47.
2. Тутельян В.А. Лизосомы и клеточное питание // Вопросы питания. – 1980. – № 5. – С. 56-61.
3. Brass E.P. Carnitine metabolism in the fasting rat / E.P. Brass, C.L. Hoppel // J. Biol. Chem. - 1978. - Vol. 253, N 8. - P. 2688 - 2693.
4. Bremer J, Carnitine - metabolism and functions // Physiol. Rev. - 1983. -Vol.63.-P. 1420-1480.
5. Bowyer B.A. L-carnitine: effect of intravenous administration on fuel homeostasis in normal subjects and home-parenteral-nutrition patients with low plasma carnitine concentrations / B.A. Bowyer, C.R. Fleming, M.W. Haymond, J.M. Miles // Am. J. Clin. Nutr. - 1989. - Vol. 46. - P. 618 - 623.
6. Rebouche C.J. Metabolic fate of dietary carnitine in human adults: identification and quantification of urinary and fecal metabolites / C.J. Rebouche, C.A.Chenard//J. Nutr. - 1991. - Vol. 121. - P. 539-546.

## Summary

### POSSIBILITY OF CORRECTION OF THE CARNITINE CHLORIDE OF CHANGES OF SOME BIOCHEMICAL INDICATORS IN MAN'S ADDITIONAL SEXUAL GLANDS OF RATS DIET IN PROTEINDEFITSITNOY

*V.I. Zvjagina*

The Ryazan state medical university of a name of academician I.P.Pavlov

*Abstract.* Experimental of rats diet in proteindefitsitnoy the diet, besides weight reduction of a body of animals, was accompanied by falling of volume of a secret of seed vials and level secretion secreting seed vials of fructose. At course introduction of a carnitine against low albuminous diet it is established that neseiment activity sour phosphatase and  $\beta$ -galaktozidazy reached level, characteristic for intaction animals, in all investigated bodies.

*Key words:* protein a scarce diet, a carnitine, seed vials, neseiment activity sour phosphatase, lysosomal hydromanholes.

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ АПИКОМПОЗИЦИЙ, СОДЕРЖАЩИХ МАТОЧНОЕ МОЛОЧКО В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Киселева В.А., Черятников А.С.

Московский государственный областной гуманитарный институт

*Аннотация.* Проблема снижения негативного влияния на организм человека свинца и его соединений в настоящее время представляется весьма актуальной. Продукты пчеловодства, содержащие разнообразные биологически активные компоненты, достаточно привлекательны для включения их в исследование при оценке возможного защитного действия на организм в условиях свинцовой интоксикации.

*Ключевые слова:* свинцовая интоксикация, биологически активные продукты, маточное молочко, биохимические показатели сыворотки крови, перекисное окисление липидов, антиоксидантное действие

**З**агрязнение свинцом атмосферного воздуха, почвы и воды в окрестности некоторых производств, а также вблизи крупных автомобильных дорог создает угрозу поражения свинцом населения, проживающего в этих районах [2]. Лица, контактирующие со свинцом и его соединениями, население городов и населенных пунктов с развитой промышленностью и интенсивным движением автотранспорта составляют группу риска развития свинцовой интоксикации. Проблема снижения негативного влияния на организм человека свинца и его соединений в настоящее время представляется весьма актуальной.

Свинец и его неорганические соединения в зависимости от их агрегатного состояния и характера контакта с ними могут проникать в организм через дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт и частично кожные покровы. Свинец относится к ядам с выраженным кумулятивным действием. Местом депонирования свинца являются главным образом кости, печень, почки. В меньшей степени свинец откладывается в селезенке, в головном мозге, лимфатических узлах. Свинец выводится преимущественно через кишечник и почки, а также с потом, грудным молоком и слюной. Выделение свинца из организма происходит постепенно в течение нескольких месяцев и даже лет [3].

Продукты пчеловодства (мед, маточное молочко, прополис, пыльца обножка и др.), благодаря своему широкому спектру разнообразных биологически активных компонентов, обладающих целым букетом целебных свойств, в т.ч. органопротективным и антиоксидантным действием, достаточно привлекательны для включения их в исследование для оценки возможного защитного действия на организм в условиях свинцовой интоксикации [1,5,6,7].

Целью настоящей работы явилось проведение сравнительной оценки антиоксидантного действия апикомпозиций,

содержащих биологически активные продукты пчеловодства, в условиях экспериментальной свинцовой интоксикации.

### *Материалы и методы.*

Исследование выполнено на 30 белых нелинейных крысах-самцах массой тела 180-210 г, разделенных на пять групп сравнения: 1-я – манипуляционный контроль – крысы, которым в течение всего экспериментального периода внутрь вводили эквивалентное количество дистиллированной воды; 2-я – контроль патологии – животные, которым ежедневно в течение 14 дней вводили внутрь через желудочный зонд раствор хлорида свинца в дозе 5 мг/кг; 3-я, 4-ая и 5-я серии – крысы, которым в течение 14 дней до введения токсина и в течение 14 дней наряду с ним назначали композиции биологически активных продуктов пчеловодства: Апитонус (2% маточного молочка + 98% меда), Апиток (1% прополиса + 2% маточного молочка + 97% меда) и Апифитотонус (2% маточного молочка + 20% пыльцы + 78% меда) в виде свежеприготовленных на дистиллированной воде суспензий в дозах 500 мг/кг, стандартизированных по содержанию маточного молочка 10 мг/кг, что соответствует самой распространенной дозе, применяемой в экспериментальной фармакологии) [8].

Через час после последнего введения у крыс, находящихся под эфирным наркозом проводили забор крови и тканей печени и почек. В крови животных общелабораторным методом определяли уровень общего белка, активность аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), щелочной фосфатазы (ЩФ); в гомогенате тканей печени и почек спектрофотометрическим методом по реакции с тиобарбитуровой кислотой определяли содержание одного из вторичных продуктов перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (МДА) [4].

### Результаты и их обсуждение.

Следует отметить, что крысы в сериях 3-5, т.е. получавших исследуемые апикомпозиции, внешне не отличались от группы «манипуляционный контроль»: поведение животных было спокойным, они нормально реагировали на процесс введения желудочного зонда; шерстка была гладкой и чистой. В то время как у животных в группе «контроль патологии» отмечались внешние признаки свинцовой интоксикации: агрессивное поведение – крысы набрасывались друг на друга, шерстка была грязной, всклокоченной, с участками облысения.

В серии «контроль патологии» статистически подтвержденная гипертрансаминаземия (АСТ –  $3,12 \pm 0,08$  ммоль/л\*ч, или 211% от контроля, АЛТ –  $489 \pm 0,26$  ммоль/л\*ч, или 526%), вероятнее всего, явилась отражением усилившегося гепатоллиза. Гипоальбуминемию ( $66,4 \pm 1,5$  г/л, или 87%), видимо, можно рассматривать в качестве маркера снижения синтетической функции печени в условиях ее поражения свинцом. Рост активности ЩФ ( $2,52 \pm 0,24$  ммоль/л\*ч, или 214%) в этих условиях мог быть связан с редукцией желчевыводящей функции.

Превентивное назначение изучаемых средств в течение 14 дней до и введение их еще в течение 14 дней наряду с хлоридом свинца вызвало, судя по значениям биохимических показателей крови, заметный гепатопротекторный эффект. Его выраженность в различных опытных сериях существенно различалась. В частности, активность АСТ, оставаясь во всех препаратных группах достоверно большей, чем у интактных крыс, была статистически ниже, чем у животных серии «свинец»: Апитонус –  $2,78 \pm 0,05$  ммоль/л\*ч (188%), Апиток –  $2,30 \pm 0,04$  ммоль/л\*ч (155%), Апифитотонус –  $2,15 \pm 0,05$  ммоль/л\*ч (145%). Аналогичная картина – сохранение статистически подтвержденной гиперферментемии, но на более низком уровне, чем у «свинцовых» крыс – отмечена и для значений АЛТ. Ее уровень составил: 374% ( $3,48 \pm 0,15$  ммоль/л\*ч) от контроля - Апитонус, 302% ( $2,81 \pm 0,19$  ммоль/л\*ч) - АпитокТ, 180% ( $1,67 \pm 0,15$  ммоль/л\*ч) - Апифитотонус.. Еще более отчетливое «нормализующее» действие отмечено для значений щелочной фосфатазы: 162% ( $191 \pm 0,15$  ммоль/л\*ч) – Апитонус, 131% ( $1,55 \pm 0,09$  ммоль/л\*ч) Апиток, и 109% ( $1,29 \pm 0,05$  ммоль/л\*ч) – Апифитотонус. Следует особо отметить, что в серии «Апифитотонус + хлорид свинца» активность ЩФ уже не отличалась от данных крыс «контроль манипуляции».

Во многом соответственной ферментным изменениям оказалась и динамика значений определяемого в сыворотке крови общего белка. При применении Апитонуса –  $70,8 \pm 1,2$  г/л, или 92%; Апитока –  $76,0 \pm 2,3$  г/л, или 99%; Апифитотонуса –  $74,7 \pm 2,3$  г/л, или 97%.

С учетом патогенетических особенностей поражения печени и почек при свинцовой интоксикации, главная из которых – инициация свободно-радикального окисления, принципиально важной являлась оценка антиоксидантных свойств сравниваемых апикомпозиций в условиях примененной экспериментальной модели. Зафиксированные значения определяемых параметров свидетельствуют о четком антиоксидантном действии во всех препаратных сериях.

При введении хлорида свинца концентрация МДА в печени и почках существенно возросла и составила 341% и 389% соответственно ( $p < 0,01$ ). Назначение апикомпозиций вызвало меньшую степень активации перекисного окисления липидов, составив в ткани печени при введении Апитонуса – 196%; Апитока – 167%; Апифитотонуса – 170% от контроля. Изменения содержания малонового диальдегида в ткани почек имели аналогичную картину: при назначении Апитонуса – 213%; Апитока – 181%; Апифитотонуса – 175% от значений интактных животных. Выраженность защитного действия маточного молочка на печень и почки при свинцовой интоксикации существенно возрастала при дополнении к ним прополиса или пыльцы-обножки.

### Выводы.

Таким образом, полученные результаты предопределяют целесообразность применения апикомпозиций, содержащих маточное молочко с профилактической целью у лиц, подверженных токсическому воздействию соединений свинца (рабочих, контактирующих со свинцом на производстве, а также у населения, проживающего на экологически неблагоприятной территории, в т.ч. вблизи крупных авто-трасс). Наибольшее защитное действие выявлено у апикомпозиций, которые помимо маточного молока в своем составе содержали прополис (апикомпозиция Апиток) и цветочную пыльцу-обножку (апикомпозиция Апифитотонус), что связано с расширением химического состава данных комбинаций за счет содержания в них соединений с антиоксидантными свойствами – токоферола, аскорбиновой кислоты, флавонов и флавоноидов [1,8,9].

### ЛИТЕРАТУРА

1. Воскресенский О.Н. Биоантиоксиданты - облигатные факторы питания /О.Н.Воскресенский, В.И. Бобырев // Вопросы медицинской химии. – 1992. - №4. – С. 21-24.
2. Габович Р.Д. Клиника, лечение и профилактика свинцовой интоксикации /Р.Д.Габович, С.С.Познанский, Г.Х. Шахбазян // Гигиена. – М.: Медицина, 1971. – С. 306-311.
3. Нейропротекторный эффект коеновой кислоты при цитотоксическом действии глутамата *in vitro* на фоне свинцовой интоксикации / А.А. Кравцов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – Т.150, №10. – С. 410-413.
4. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты /И.Д.Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

5. Узбекова Д.Г. Медико-биологические свойства продуктов пчеловодства при экспериментальной патологии печени /Д.Г. Узбекова, А.Н.Рябков, Г.Б. Артемьева //Апитерапия сегодня: Тез. докл. науч.-практ. конф. - Рыбное, 1992. - С. 57-59.
6. Хвойницкая Л.Г. Сравнительная оценка антиоксидантного эффекта экстракта прополиса и прополисованного маточного молочка при экспериментальном гипертиреозе /Л.Г.Хвойницкая, В.А.Киселева, А.Н.Рябков //Тезисы докладов 4-й Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы эндокринологии». – Пермь, 2002.- С. 258.
7. Экстрагирование 10-гидрокси-транс-2-деценовой кислоты (10-ГДА) из фильтрованных остатков свежего маточного молочка /Сю Мин, Юань Зе-лиан, Чжен Ли-хон, Сю Ли-хон //XXXIII Международный Конгресс по пчеловодству Апимондии: Тез. докл. - Пекин, 1993. - С. 124-125.
8. Brown R. Hive products: Pollen, propolis and royal jelly /R.Brown //Bee word. - 1989. - V. 70. - P. 109-117.
9. Echigo T. Comparative studies on chemical composition of honey, royal jelly and pollen loads /T.Echigo, T.Takenaka, K.Yatsunami //Bull Fac. Agr. Tamagawa Univ. Tokyo. - 1986. -V. 26. - P. 1-8.

## Summary

### THE COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF PROTECTIVE ACTION ON ORGANISM APICOMPOSITIONS, CONTAINING ROYAL JELLY IN THE CONDITIONS OF THE EXPERIMENTAL LEAD INTOXICATION

*V.A. Kiseleva, A.S. Cherjatnikov*

Moscow Region State Institute of Humanities

*Abstract.* The problem of decrease in negative influence on a human body of lead and its connections is represented now rather actual. The products of beekeeping containing various biologically active components are attractive enough to their inclusion in research at an estimation of possible protective action on an organism in the conditions of a lead intoxication.

*Key words:* a lead intoxication, biologically active products, royal jelly, biochemical indicators of whey of blood, peroxidation of lipids, antyoxidation action.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДИНАМИКИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ И ФЕРМЕНТНЫХ ПАРАМЕТРОВ ЭРИТРОЦИТОВ КАК МАРКЕРОВ АНТИГИПОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ПРЕПАРАТОВ ИЗ БИОМАСС КУЛЬТУРЫ ТКАНЕЙ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА АРАЛИЕВЫХ

*Рябков А.Н. , Киселева В.А.*

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова  
Московский государственный областной гуманитарный институт

*Аннотация.* Препараты из биологических масс фитоадаптогенов (женьшеня и полисиаса папоротниколистного) при воздействии факторов, приводящих к развитию острой гипоксии у лабораторных животных, оказали четкое антигипоксическое действие, проявившееся меньшей степенью биохимических изменений в эритроцитах. Статистический анализ итоговых результатов свидетельствует о большей выраженности данного эффекта в серии, где животным перед помещением в гипобарическую камеру вводили препарат биологической массы полисиаса папоротниколистного.

*Ключевые слова:* препараты из биологических масс фитоадаптогенов, острая экспериментальная гипоксия, метаболические и ферментные показатели эритроцитов, антигипоксический эффект.

**А**ктуальность и значимость поиска оптимальных по соотношению эффективности и безопасности антигипоксантов предопределена чрезвычайно широким распространением гипоксии – состояния, возникающего как в условиях дефицита кислорода во внешней среде, так и в результате различных патологий, связанных с нарушением функций дыхательной, сердечно-сосудистой систем, а также транспортной функции крови [3, 6]. Цель настоящей работы – сравнительная оценка антигипоксического эффекта препаратов из биомасс культуры тканей растений семейства аралиевых – женьшеня (б.к.т. ЖШ) и полисиаса папоротниколистного (б.к.т. ПП).

### *Материалы и методы.*

Исследования выполнены на взрослых нелинейных крысах-самцах массой 160-230 г. Использован вариант острой гипоксической гипоксии, вызываемой шестичасовой экспозицией подопытных животных в вентилируемой барокамере с остаточным давлением соответствующим подъему на высоту 8000 м. Он характеризуется большим диапазоном изменений количественных значений биохимических показателей крови и параметров свободно-радикального окисления тканей, что позволяет провести достаточно корректную оценку наличия и выраженности антигипоксического действия у исследуемых средств [4, 5, 7, 8, 9].

На предварительном этапе из биомасс культуры тканей женьшеня и полисиаса готовили настойки методом перколяции на 40% этаноле. Далее их деалкоголизовали упариванием на роторном испарителе до каломельного состояния, затем в колбу добавляли дистиллированную воду

до восстановления исходного объема. Полученные деалкоголизованные препараты из б.к.т. ЖШ и б.к.т. ПП вводились животным внутрь через желудочный зонд в дозе 5 мл/кг (в пересчете на исходную настойку) в течение 7 дней перед помещением в барокамеру.

Сразу же после извлечения животных из барокамеры их наркотизировали эфиром и проводили взятие крови, в эритроцитах которой определяли комплекс биохимических показателей, характеризующих состояние липопероксидации и гликолиза, а также активности их мембранного транспорта, т.е. процессов, во многом определяющих степень воздействия гипоксической гипоксии на данные клетки в частности и организм в целом.

### *Результаты и их обсуждение.*

Интенсивность перекисного окисления липидов определялась по содержанию в эритроцитах малонового диальдегида (МДА), а состояние их антиоксидантной защиты – по уровню сульфгидрильных групп (SH-групп) и показателю перекисного гемолиза эритроцитов (ПГЭ – степени их гемолиза в специальном буферном растворе). Маркером, отражающим состояние мембранного транспорта, служила активность натрий-калий-магний-зависимой аденозинтрифосфатазы (АТФ-азы). Интенсивность ранних стадий гликолиза – основного энергопродуцирующего метаболического процесса эритроцитов, во многом определяющего их структурную целостность и функциональную стабильность – оценивали по концентрации 2,3-дифосфолицерата (2,3-ДФГ), поздних – по активности пируваткиназы (ПК).

Шестичасовое пребывание крыс в барокамере на «высоте 8000 м» сопровождалось статистически подтвержденным изменением всех параметров перекисного окисления липидов (табл. 1, рис. 1). Так, ПГЭ достиг значения  $16,37 \pm 1,52\%$ , что почти вдвое больше, чем в контрольной группе. Концентрация МДА увеличилась до 235%. Уровень сульфгидрильных групп снизился на 49%. Достоверно возросли оба показателя интенсивности гликолиза: активность ПК – до 152%, концентрация 2,3-ДФГ – до 135%. Эти сдвиги, вероятнее всего, свидетельствуют о компенсаторном усилении гликолиза как защитной реакции на воздействие гипоксии. Резко увеличилась и активность АТФ-азы (175%), что, по-видимому, отражает происходящие в условиях дефицита кислорода метаболические нарушения, в частности, внутриклеточного баланса электролитов, которые и индуцируют усиление процессов активного мембранного транспорта.

Изменения параметров пероксидации и антиоксидантной защиты в препаратных сериях характеризуются следующими особенностями. У крыс, получавших до помещения в барокамеру превентивный курс препарата из б.к.т. ЖШ, все показатели, хотя достоверно и отличались от контрольных величин (концентрация МДА – 137%; уровень SH-групп – 79%; ПГЭ – 145%), но были уже гораздо ближе к ним по абсолютным

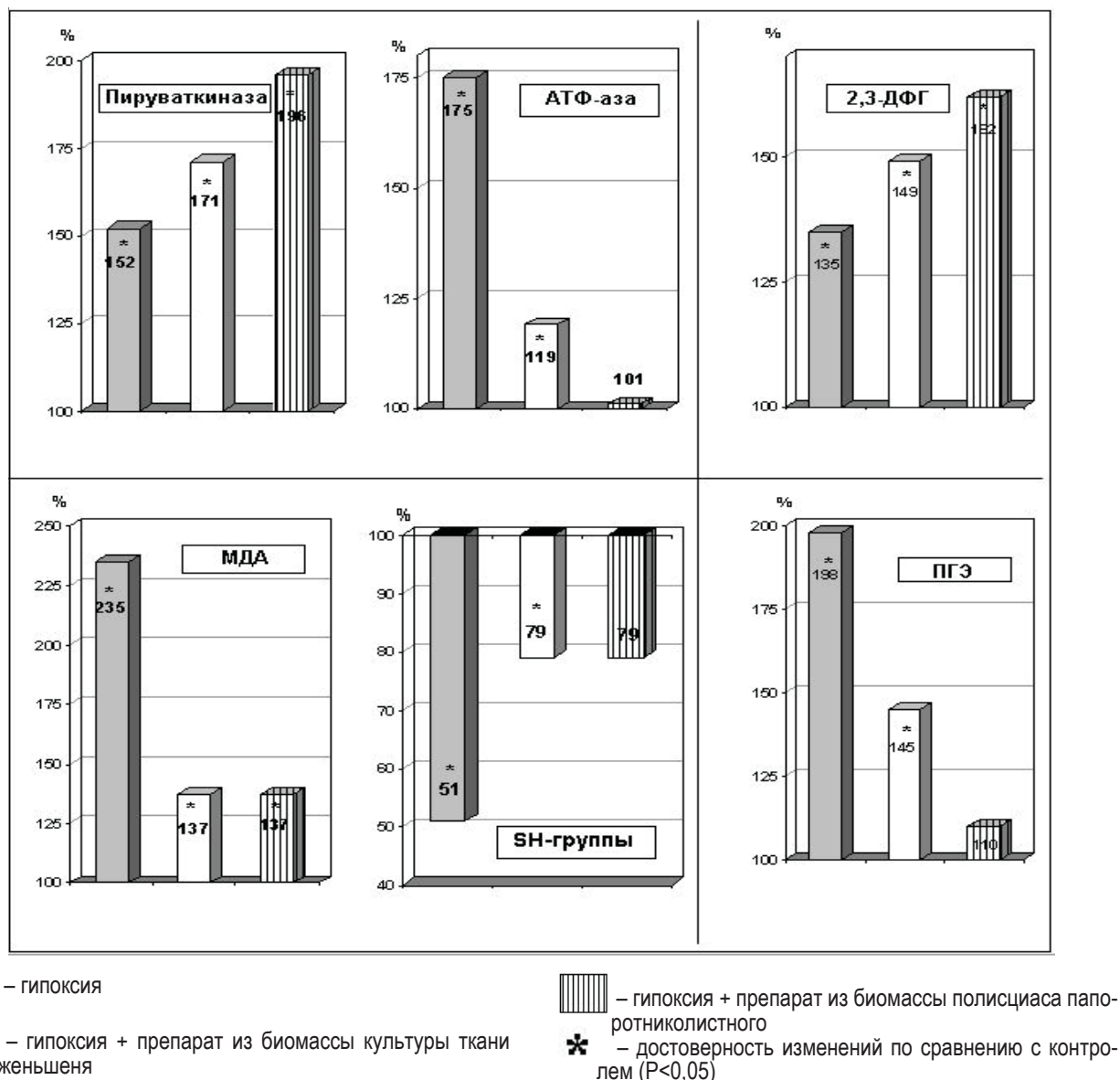
значениям, что предопределило и их достоверное отличие от соответствующих величин серии «гипоксия». Аналогичная по направленности, но количественно более выраженная сравнительная динамика отмечена после назначения лабораторным животным препарата из б.к.т. ПП. В данной серии только содержание МДА статистически подтвержденно превышало контрольный уровень (на 37%), а концентрация SH-групп и ПГЭ уже достоверно не отличались от контрольных значений.

Семидневное введение сравниваемых препаратов существенно повлияло и на вторую группу анализируемых параметров эритроцитов. Активность ПК продолжала возрастать по сравнению с серией «гипоксия» («ЖШ + гипоксия» – 171% от контроля, «ПП + гипоксия» – 196%). Также в еще большей степени, чем у крыс с «чистой» гипоксией, увеличилось и содержание в эритроцитах 2,3-ДФГ (149% и 162% соответственно). Итак, исследуемые препараты способствовали дальнейшей интенсификации гликолиза, как ранних, так и завершающих его стадий. Причем это действие (судя по абсолютным значениям и ПК, и 2,3-ДФГ) оказалось более выраженным у препарата из б.к.т. ПП. Вполне вероятно, что выявленный метаболический сдвиг является одним из решающих в механизме антигипоксического действия вводимых препаратов на эритроцитарном уровне.

**Таблица 1.** Влияние препаратов из биомасс культуры тканей женьшеня (ЖШ) и полисциаса папоротниколистного (ПП) на ферментные и метаболические показатели эритроцитов крыс при моделировании острой гипоксической гипоксии.

Серии показатели	Контроль	Гипоксия	ЖШ + гипоксия	ПП + гипоксия
Пируваткиназа (мкмоль / г Нв*мин) M ± m T <sub>k</sub> P <sub>k</sub>	6,77 ± 0,43 - -	10,28 ± 0,22 7,26 < 0,001	11,58 ± 0,29 11,7 < 0,001	13,25 ± 0,19 13,8 < 0,001
АТФ-аза (мкмоль/г Нв*час) M ± m T <sub>k</sub> P <sub>k</sub>	30,43 ± 2,09 - -	53,31 ± 3,67 5,42 < 0,001	36,22 ± 1,45 2,98 < 0,05	30,55 ± 2,64 0,04 > 0,05
2,3-ДФГ (мкмоль/г Нв) M ± m T <sub>k</sub> P <sub>k</sub>	20,73 ± 0,64 - -	28,00 ± 0,85 6,83 < 0,001	30,89 ± 1,52 6,14 < 0,001	33,60 ± 1,39 8,41 < 0,001
МДА (нмоль/мл) M ± m T <sub>k</sub> P <sub>k</sub>	11,82 ± 1,24 - -	27,74 ± 0,83 10,71 < 0,001	16,23 ± 0,75 3,06 < 0,01	16,22 ± 0,58 3,25 < 0,01
SH-группы (мкмоль/г Нв) M ± m T <sub>k</sub> P <sub>k</sub>	13,67 ± 1,18 - -	6,99 ± 0,55 5,13 < 0,001	10,83 ± 0,46 2,24 < 0,05	10,86 ± 0,82 1,96 > 0,05
ПГЭ (%) M ± m T <sub>k</sub> P <sub>k</sub>	8,29 ± 0,60 - -	16,37 ± 1,52 4,95 < 0,001	12,04 ± 0,65 4,24 < 0,01	9,13 ± 0,43 1,14 > 0,05

Примечание. АТФ-аза – натрий-калий-магний-зависимая аденозинтрифосфатаза; 2,3-ДФГ – дифосфоглицерат; МДА – малоновый диальдегид; SH-группы – сульфгидрильные группы; ПГЭ – перекисный гемолиз эритроцитов. «T<sub>k</sub>, P<sub>k</sub>» – значения коэффициента Стьюдента и вероятности ошибочного прогноза при сравнении с соответствующими показателями серии «контроль».



**Рисунок 1.** Изменения (в %) ферментных и метаболических показателей эритроцитов крыс при моделировании острой гипоксической гипоксии и превентивном назначении препаратов из биомасс культуры тканей женьшеня и полисциаса папоротниколистного по сравнению с контролем (100%-й уровень)

Кроме того, значительное возрастание содержания 2,3-ДФГ предопределяет снижение сродства гемоглобина к кислороду, что, в свою очередь, способствует сохранению необходимого уровня оксигенации тканей. Косвенным подтверждением данных предположений может рассматриваться и тот факт, что у животных, получавших препарат из б.к.т. ЖШ, активность АТФ-азы оказалась гораздо более низкой, чем у крыс серии «гипоксия», хотя осталась достоверно превышающей (на 19%) контрольный параметр. А после введения препарата из б.к.т. ПП активность данного фермента практически не отличалась от показателя у интактных животных. Это свидетельствует о функциональной стабильности клеточных мембран эритроцитов крыс данной серии даже в условиях воздействия гипоксических факторов.

Особенности отмеченных изменений активности ПК и содержания 2,3-ДФГ могут рассматриваться как реальная

составляющая механизма антигипоксического эффекта, установленного для препарата из б.к.т. ПП в настоящем исследовании и изученного другими авторами при применении препарата из б.к.т. ЖШ. Выраженность анализируемого действия, оцениваемая по динамике ПК и 2,3-ДФГ, оказалась большей у препарата из б.к.т. ПП. Дополнительным подтверждением этого могут служить и выявленные различия активности АТФ-азы в препаратных сериях, а также отмеченная выше более жесткая стабильность биохимических показателей сыворотки крови в случае введения животным перед помещением в гипобарическую камеру препарата из б.к.т. ПП.

Немаловажное значение имеет и антипероксидное действие препаратов из биомассы фитоадаптогенов, проявившееся меньшими изменениями уровней МДА и параметров антиоксидантной защиты по сравнению с серией «гипоксия»



и также оказавшееся более выраженным в случае применения препарата из б.к.т. ПП. Оно ограничивает степень деградации мембранных структур эритроцитов, происходящую за счет активации свободно-радикального окисления при гипоксии и способствует максимальной эффективности участия этих клеток крови в повышении устойчивости организма к дефициту кислорода.

#### Выводы.

Препараты из биомасс фитoadаптогенов при воздействии факторов, приводящих к развитию острой гипоксии, оказали четкое антигипоксическое действие, проявившееся меньшей степенью биохимических изменений в эритроцитах. Статистический анализ итоговых результатов свидетельствует о большей выраженности данного эффекта в

серии, где животным перед помещением в гипобарическую камеру вводили препарат из б.к.т. ПП.

Таким образом, установленные проявления и возможные механизмы антигипоксического действия препарата из б.к.т. ПП характеризуются достаточной выраженностью, обеспечивающей высокую устойчивость организма в условиях остро развившейся кислородной недостаточности. Данная характеристика безусловно важна и может способствовать расширению диапазона практического использования оцениваемого препарата. В частности, в качестве вспомогательного профилактического средства при угрозе гипоксического повреждения тканей при ишемической болезни сердца, бронхиальной астме и других патологиях, а также в гериатрической практике, где значение длительного применения максимально безопасных антигипоксантов особенно велико [1, 2].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Воскресенский О.Н. Биоантиоксиданты – облигатные факторы питания / О.Н. Воскресенский, В.И. Бобырев // *Вопр. мед. химии.* – 1992. – № 4. – С. 21-24.
2. Жаляускене Г.К. Применение продуктов пчеловодства и лекарственных растений как корректоров физиологических функций организма человека / Г.К. Жаляускене, К.В. Кадзяускене // *Апитерапия и пчеловодство: тез. докл. науч.- практ. конф.* – Вильнюс, 1993. – С. 204-207.
3. Зеленская И.Л. Влияние извлечений из *Inula Helenium L.* на течение острой гипоксической гипоксии у мышей / И.Л. Зеленская, Т.Н. Поветьева, В.Г. Пашинский // *Растит. ресурсы.* – 2000. – Т. 36, вып. 4. – С. 73-78.
4. Изучение антигипоксического эффекта композиций маточного молочка и пыльцы / В.Г. Макарова [и др.] // *IV Нац. конгресс по болезням органов дыхания: сб. резюме.* – Новосибирск, 1996. – С. 478 (№ 1813).
5. Киселева В.А. Биохимическая характеристика действия некоторых пищевых добавок, содержащих маточное молочко и другие биологически активные продукты пчеловодства: автореф. дис.... канд. мед. наук / В.А. Киселева. – Рязань, 1998. – 22 с.
6. Лукьянова Л.Д. Современные подходы к поиску антигипоксантов / Л.Д. Лукьянова // *Актуальные проблемы фармакологии и поиск новых лекарственных препаратов: тез. докл.* – Томск, 1999. – С. 59-67.
7. Маньковская И.Н. Особенности реализации механизмов перекисного окисления липидов при прерывистой гипоксической тренировке / И.Н. Маньковская // *Hypoxia Medical J.* – 1993. – № 4. – С. 9-12.
8. Lyapkov B.G. Biochemical Aspect of Hypoxia / B.G. Lyapkov // *Hypoxia Medical J.* – 1994. – № 1. – P. 3-10.
9. Takahashi H. The Leakage of Fatty Acid Binding Protein from Cultured Myocardial Cells during Hypoxia / H. Takahashi // *Cardiovasc. Drugs Ther.* – 1991. – № 5-6. – P. 1021-1026.

#### Summary

### EXPERIMENTAL ESTIMATION OF DYNAMICS OF METABOLIC AND FERMENTAL PARAMETERS IN RED BLOOD CELLS AS MARKERS OF ANTIHYPOXEMIC EFFECT OF PREPARATIONS FROM THE BIOMASS OF CULTURE OF FABRICS OF PLANTS OF FAMILY ARALIEVYH

*A.N. Ryabkov, V.A. Kiseleva*

The Ryazan state medical university of a name of academician I.P.Pavlov,  
Moscow Region State Institute of Humanities

*Abstract.* Preparations from biological weights fitoadaptation (Ginseng and Polistsias) at influence of the factors leading to development of a sharp hypoxemia at laboratory animals, had the accurate antihypoxemic an effect shown by smaller degree of biochemical changes in eritrotsitah. The statistical analysis of total results testifies about expressivenesses of the given effect in a series where an animal before pomeshcheniem in gipobaric the chamber entered a preparation of biological weight on Polistsias.

*Key words:* preparations from biological weights fitoadaptation, sharp experimental hypoxemia, metabolic and fermental indicators of read blood cells, comparative expressiveness of antihypoxemic effect.

## ОЦЕНКА ПРЕКАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ В РАЗЛИЧНЫХ ФРАКЦИЯХ ЛЕЙКОЦИТОВ И ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ТРОМБОФЛЕБИТОМ

Фомина Н.В., Фомина М.А., Звягина В.И.

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова

*Аннотация.* Изучение прекаталитической активации лизосомальных цистеиновых протеиназ в различных фракциях лейкоцитов и плазме крови больных тромбозом вен нижних конечностей обнаружило, что данная патология сопровождается выходом в плазму более активных форм катепсинов L и H, полной активацией данных ферментов в гранулоцитах, без изменения описанного уровня регуляции в моноядерных лейкоцитах.

*Ключевые слова:* тромбоз, катепсины L и H, прекаталитическая активация.

**П**ротеолиз – процесс гидролитического распада белков, осуществляемый тканевыми протеиназами (катепсинами). Различают несколько классов катепсинов, все они имеют оптимум pH в кислой среде в пределах 4,0 - 6,0 и сохраняются в клетке в неактивном состоянии в лизосомах, будучи стерически изолированы от контакта с цитоплазматическими белками лизосомальной мембраной. В настоящее время известны такие физиологические функции катепсинов, как посттрансляционная модификация вновь синтезированных полипептидных цепей, переваривание белков пищи в желудочно-кишечном тракте, образование биологически активных полипептидов, функционирование системы гемостаза, активирование неактивных предшественников биологически активных белков [5, 7]. Активация протеолиза представляет собой важнейший биохимический механизм развития фундаментального патологического процесса – воспаления. Смещение реакции среды в очаге воспаления в кислую сторону способствует лабильности мембран лизосом, выходу катепсинов в цитоплазму, их активации и протеолитической деструкции вовлечённой в процесс воспаления ткани [1, 4].

Особенный интерес вызывает способность ферментов данной группы секретироваться во внеклеточную среду, где они и обнаруживаются при ряде патологических состояний, в частности при различных заболеваниях сосудов. Представляет собой интерес и их способность к частичному протеолизу компонентов внеклеточного матрикса и стимуляции неоангиогенеза [6].

В настоящее время известно, что ЛЦП чувствительны к мультифакторной регуляции. Одним из возможных механизмов регуляции активности данных ферментов является их аутокаталитическая активация [3]. Данный механизм описан для многих ЛЦП, таких как предшественник папаина, катепсин В, катепсин L, катепсин К, катепсин Н. В ранних работах по изучению этого процесса был предложен внутримолеку-

лярный механизм прекаталитической активации. Последние исследования свидетельствуют о межмолекулярном механизме прекаталитического процессинга ЛЦП.

Целью нашей работы явилось изучение и сравнительная оценка прекаталитической активации лизосомальных цистеиновых протеиназ L и H в различных фракциях лейкоцитов и в плазме крови больных тромбозом.

### *Материалы и методы.*

В работе представлены результаты обследования 24 человек, разделённых в ходе исследования на 2 группы: здоровые доноры, сдавшие кровь в отделении переливания крови Рязанской ОКБ (группа 1, «контроль»; n=12); больные с диагнозом «тромбоз глубоких вен нижних конечностей», находящиеся на стационарном лечении в РОККД (группа 2; n=12). Активность катепсинов L и H изучали спектрофлуориметрическим методом по Barrett & Kirschke [2]. Оценка прекаталитической активности проводилась путём преинкубирования биологического материала в реакционной смеси, не содержащей субстрат, в течение 15 минут при 37°C с последующим добавлением последнего. Степень нарастания активности выражалась в процентах по отношению к параллельно определяемому значению активности, полученному без преинкубации.

Для выделения различных фракций лейкоцитов использовали венозную кровь (7-10 мл). Эритроциты осаждали 6% раствором декстрана, после чего плазму со взвешенными в ней лейкоцитами подвергали изопикническому центрифугированию на градиенте плотности урографин – полиглюкин. При этом получали две фракции лейкоцитов: интерфазный слой содержал моноядерные лейкоциты, представленные лимфоцитами и моноцитами, осадок – полиморфноядерные гранулоциты. Клетки отмывали раствором хлорида натрия и пропускали через капроновый фильтр для удаления конгломератов клеток.

Статистическая значимость отличий полученных результатов от контрольной группы и группы сравнения оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента.

*Результаты и обсуждения.*

При сопоставлении показателей прекаталитической активации катепсинов L и H в плазме крови больных тромбофлебитом с аналогичными для здоровых доноров нами были обнаружены следующие тенденции (табл. 1).

**Таблица 1.** Сравнительный анализ повышения степени активности катепсинов L и H после прекаталитической активации в плазме крови здоровых доноров и больных тромбофлебитом (в %), M±s

	Группа 1	Группа 2
	n=12	n=12
Катепсин L	92,4±56,6	23,0*±13,5
Катепсин H	99,4±99,1	95,4±56,0

*Примечание:* \* – статистически значимые отличия от группы 1 (p<0,05)

Степень повышения активности катепсина L после прекаталитической активации в плазме крови контрольной группы и больных тромбофлебитом повышалась на 92,4% и 23,0% соответственно (см. Табл. 1). При сравнении степени повышения активности катепсина L после его прекаталитической активации в плазме испытуемых двух групп видно, что процентное повышение его активности снижается в группе больных тромбофлебитом в 4 раза по сравнению с контролем. Причём, последнее отличие оказалось статистически значимым.

Повышение степени активности катепсина L у больных с тромбофлебитом гораздо в меньшей степени после его прекаталитического процессинга, чем у здоровых доноров, может свидетельствовать о том, что в плазме крови больных тромбофлебитом катепсин L находится в более активном состоянии, что возможно вносит немаловажную роль в патогенез тромбофлебита.

Степень повышения активности катепсина H после его прекаталитической активации в плазме крови пациентов испытуемых групп повышалась на 99,4% и 95,4% соответственно. При сравнении степени повышения активности катепсина H после его прекаталитической активации в плазме испытуемых двух групп оказалось, что процентное его повышение снижается у больных с тромбофлебитом в 1,04 раза соответственно. Данные отличия оказались недостоверными.

При сопоставлении показателей активности катепсинов L и H в различных фракциях лейкоцитов больных тромбофлебитом с аналогичными для здоровых доноров после их прекаталитической активации нами было обнаружены следующие тенденции.

Оказалось, что активность катепсинов L и H в гранулоцитах после их прекаталитической активации в группе здоровых доноров осталась без изменений у большего количества обследованных (80%). В группе больных тромбофлебитом после прекаталитической активации снизилась активность катепсина L в гранулоцитах у 75% больных в среднем на 26%±13,1% и снизилась активность катепсина H в гранулоцитах у 100% обследованных в среднем на 75%±24,3% по сравнению с контрольной группой. Данные отличия оказались статистически значимыми. Снижение активности катепсинов L и H в гранулоцитах может происходить в результате их аутокаталитического процессинга в результате проведённой прекаталитической активации.

В моноядерных лейкоцитах здоровых доноров и пациентов, больных тромбофлебитом, наблюдалась очень низкая активность катепсина H. Статистически значимых отличий после проведённой прекаталитической активации не наблюдалось.

*Выводы.*

На основании полученных в настоящей работе данных можно сделать вывод о том, что тромбофлебит сопровождается выходом в плазму более активных форм катепсинов L и H, полной активацией данных катепсинов в гранулоцитах, без изменения описанного уровня регуляции в моноядерных лейкоцитах.

**ЛИТЕРАТУРА**

- Ежова Г.П., Бабаев А.А., Новиков В.В. Биоинформационные аспекты протеомики и деградации белка : учеб.-методические материалы по программе повышения квалификации «Хранение и обработка информации в биологических системах». – Н. Новгород, 2007.
- Barrett A.J., Kirschke H. Cathepsin B, cathepsin H, cathepsin L // *Methods in Enzymol.* – 1981. – Vol. 80. – P. 535-561
- Васильева О.С., Серебров В.Ю., Турк Б., Турк В. Изучение механизма аутокаталитической активации прокатепсина H in vitro // *Исследовано в России.* – 2002. – С. 1092-1102.
- Ishidoh K., Kominami E. Procathepsin L degrades extracellular matrix proteins in the presence of glycosaminoglycans in vitro // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1995. – Vol. 217. – P. 624-631.
- Turk B., Turk D., Turk V. Lysosomal cysteine proteases: more than scavengers // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2000. – Vol. 1477. – P. 98-111.
- Urbich C., Heeschen C., Aicher A. et al. Cathepsin L is required for endothelial progenitor cell-induced neovascularization // *Nat. Med.* – 2005. – Vol. 11. – P. 206-213.
- Vasiljeva O., Reinheckel T., Peters C. et al. Emerging roles of cysteine cathepsins in disease and their potential as drug targets // *Curr. Pharm. Des.* – 2007. – Vol. 13. – P. 387-403.

## Summary

# EVALUATION PRECATALITIC ACTIVATION OF LYOSOMAL CYSTEINE PROTEASE IN THE DIFFERENT FRACTIONS OF LEUCOCYTES AND IN THE BLOOD SERUM IN THROMBOFLEBITIS PATIENT

*N.V. Fomina, M.A. Fomina, V.I. Zvjagina*

The Ryazan state medical university of a name of academician I.P.Pavlov

*Abstract.* The precatalytic activation of lysosomal cystein protease L and H in the different fractions of leucocytes and in the blood serum in thrombophlebitis patient has been learned. Thrombophlebitis accompanies outleting of active forms lysosomal cystein protease L and H in granulocytes, without any changes of regulation level in mononuclear leucocytes.

*Key words:* thrombophlebitis, lysosomal cystein protease L and H, precatalytic activation.

## ПРИМЕНЕНИЕ ЗДОРОВЬЕСБЕРЕГАЮЩИХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ПРИ ОБУЧЕНИИ ШКОЛЬНИКОВ

Шаталов О.А.

Московский государственный областной гуманитарный институт

*Аннотация.* Задача государства, общественного мнения – сформировать у человека отношение к своему здоровью, как к частной собственности, от сбережения которой зависит всё его благополучие и сама жизнь. Это отношение необходимо формировать еще в школе. В настоящее время в учебный процесс в школе внедряются здоровьесберегающие технологии.

*Ключевые слова:* здоровьесберегающие технологии, компоненты здоровья сбережения, обучение школьников.

**З**доровье человека – главная ценность, сохранение и приумножение которой должно является первой обязанностью человека и государства.

К сожалению, в России общество еще не сформировало систему неприятия и отчуждения всего того, что мы называем «нездоровым образом жизни». Такие пороки как курение, употребление алкоголя, ожирение пока не вызывают сугубо отрицательную реакцию не только в общественном мнении. Но ситуация постепенно меняется, так в России многие работодатели выдвигают свои требования к состоянию здоровья своих работников, но больше это проявляется в частных структурах.

Задача государства, общественного мнения – сформировать у человека отношение к своему здоровью как к частной собственности, от сбережения которой зависит всё его благополучие и сама жизнь. Это отношение необходимо формировать еще в школе. В настоящее время в учебный процесс в школе внедряются здоровьесберегающие технологии [1, 2, 4, 6].

**Цель здоровьесберегающих образовательных технологий** обучения – обеспечить школьнику возможность сохранения здоровья за период обучения в школе, сформировать у него необходимые знания, умения и навыки по здоровому образу жизни, научить использовать полученные знания в повседневной жизни. Для этого необходимо: организация рационального учебного процесса в соответствии с САНиП; рациональная организация двигательной активности учащихся; система работы по формированию ценности здоровья и здорового образа жизни. **Но до сих пор не выработан единый подход и не определены критерии здоровьесбережения. В данной статье сделаны попытки систематизации основных подходов и требований к реализации здоровьесберегающих технологий в школе.**

*Здоровьесбережение в школе может включать 7 основных модулей:*

1. Школьное питание;
2. Образование детей в сфере здоровья;
3. Программы и практические руководства по физической активности;

4. Медицинские услуги в школе;
5. Психологическое и социальное консультирование;
6. Повышение квалификации работников школ в области здравоохранения;
7. Активное участие семьи и общества.

*Принципиально важным моментом при внедрении здоровьесберегающих технологий в учебный процесс школы являются:*

1. Осознание педагогами проблемы негативного воздействия школы на здоровье учащихся и необходимости ее незамедлительного разрешения;
2. Признание педагогами школы своей солидарной ответственности за неблагополучие состояния здоровья школьников;
3. Овладение необходимыми здоровьесберегающими технологиями;
4. Реализация полученной подготовки на практике, в тесном взаимодействии друг с другом, с медиками, с самими учащимися и их родителями;
5. Изменение мировоззрения учителя, его отношения к себе, своему жизненному опыту в сторону, осознания собственных чувств, переживаний с позиции проблем здоровьесбережения;
6. Изменение отношения учителя к учащимся. Педагог должен полностью принимать ученика таким, каков он есть, и на этой основе стараться понять, каковы его способности;
7. Изменение отношения учителя к задачам учебного процесса педагогики оздоровления, которое предполагает не только достижение дидактических целей, но и развитие учащихся с максимально сохраненным здоровьем.

Здоровьесберегающие технологии должны удовлетворять принципам здоровьесбережения, которые сформулировал Н.К. Смирнов: «*Не навреди!*» – все применяемые методы, приемы, используемые средства должны быть обоснованными, проверенными на практике, не наносящими вреда здоровью ученика и учителя.

*Приоритет заботы о здоровье учителя и учащегося* – все используемое должно быть оценено с позиции влияния

на психофизиологическое состояние участников образовательного процесса.

*Непрерывность и преемственность* – работа проводится не от случая к случаю, а каждый день и на каждом уроке.

*Субъект-субъектные взаимоотношения* – обучающийся является непосредственным участником здоровьесберегающих мероприятий и в содержательном, и в процессуальном аспектах.

*Соответствие содержания и организации обучения возрастным особенностям учащихся* – объем учебной нагрузки, сложность материала должны соответствовать возрасту обучающихся.

*Комплексный, междисциплинарный подход* – единство в действиях педагогов, психологов и врачей.

*Успех порождает успех* – акцент делается только на хорошее; в любом поступке, действии сначала выделяют положительное, а только потом отмечают недостатки.

*Активность* – активное включение, а любой процесс снижает риск переутомления.

*Здоровьесберегающие технологии условно можно подразделить:*

По **характеру деятельности на:** частные (узкоспециализированные) и комплексные (интегрированные).

По **направлению деятельности на:**

- медицинские (технологии профилактики заболеваний, коррекции и реабилитации соматического здоровья, санитарно-гигиенической деятельности);
- образовательные, содействующие здоровью (информационно-обучающие и воспитательные);
- социальные (технологии организации здорового и безопасного образа жизни; профилактики и коррекции девиантного поведения);
- психологические (технологии профилактики и психокоррекции психических отклонений личностного и интеллектуального развития).

К **комплексным** здоровьесберегающим технологиям относят: технологии комплексной профилактики заболеваний, коррекции и реабилитации здоровья (физкультурно-оздоровительные и валеологические); педагогические технологии, содействующие здоровью; технологии, формирующие ЗОЖ [2, 4, 5].

*По типам здоровьесберегающие технологии можно выделить:*

- **Здоровьесберегающие** (профилактические прививки, обеспечение двигательной активности, витаминизация, организация здорового питания);
- **Оздоровительные** (физическая подготовка, физиотерапия, ароматерапия, закаливание, гимнастика, массаж, фитотерапия, арттерапия);
- **Технологии обучения здоровью** (включение соответствующих тем в предметы общеобразовательного цикла);
- **Воспитание культуры здоровья** (факультативные занятия по развитию личности учащихся, внекласс-

ные и внешкольные мероприятия, фестивали, конкурсы и т.д.).

Выделенные технологии могут быть представлены в иерархическом порядке по критерию субъектной включенности учащегося в образовательный процесс:

**Внесубъектные:** технологии рациональной организации образовательного процесса, технологии формирования здоровьесберегающей образовательной среды, организация здорового питания (включая диетическое) и т.п.

**Предполагающие пассивную** позицию учащегося: фитотерапия, массаж, офтальмотренажеры и т.п.

**Предполагающие активную** субъектную позицию учащегося различные виды гимнастики, технологии обучения здоровью, воспитание культуры здоровья [3, 5].

*К основным компонентам здоровьесберегающих технологий можно отнести:*

1. **Здоровьесберегающий** – формирование *системы гигиенических навыков и умений* необходимых для нормального функционирования организма, а также систему упражнений, направленных на совершенствование навыков и умений по уходу за самим собой, одеждой, местом проживания, окружающей средой. Особая роль в этом компоненте отводится соблюдению режима дня, режима питания, чередования труда и отдыха, что способствует предупреждению образования вредных привычек, функциональных нарушений заболеваний, включает в себя психогигиену и психопрофилактику учебно-воспитательного процесса, использование оздоровительных факторов окружающей среды и ряд специфических способов оздоровления ослабленных. Необходимым условием сохранения здоровья являются положительные эмоции; переживания, благодаря которым у человека закрепляется желание вести здоровый образ жизни. Воля – психический процесс сознательного управления деятельностью, проявляющийся в преодолении трудностей и препятствий на пути к поставленной цели. Личность с помощью воли может осуществлять регуляцию и саморегуляцию своего здоровья.

2. **Аксиологический** – проявляющийся в *осознании учащимися высшей ценности своего здоровья*, убежденности в необходимости вести здоровый образ жизни, который позволяет наиболее полно осуществить намеченные цели, использовать свои умственные и физические возможности. Осуществление аксиологического компонента происходит на основе формирования мировоззрения, внутренних убеждений человека, определяющих рефлексивную и присвоение определенной системы духовных, витальных, медицинских, социальных и философских знаний, соответствующих физиологическим и нейропсихологическим особенностям возраста; познание законов психического развития человека, его взаимоотношений с самим собой, природой, окружающим миром.

3. **Гносеологический** – связанный с *приобретением необходимых для процесса здоровьесбережения знаний и умений, познанием себя*, своих потенциальных способностей и возможностей, интересом к вопросам собственного

здоровья, к изучению литературы по данному вопросу, различных методик по оздоровлению и укреплению организма. Это происходит благодаря процессу формирования знаний о закономерностях становления, сохранения и развития здоровья человека, овладению умениями сохранять и совершенствовать личное здоровье, оценке формирующих его факторов, усвоению знаний о здоровом образе жизни и умений его построения.

4. **Экологический** – учитывающий то, что человек как биологический вид существует в природной среде, которая обеспечивает человеческую личность определёнными биологическими, экономическими и производственными ресурсами. Кроме того, она обеспечивает ее физическое здоровье и духовное развитие. Осознание бытия человеческой личности в единстве с биосферой раскрывает зависимость

физического и психического здоровья от экологических условий.

5. **Физкультурно-оздоровительный** – предполагает владение способами деятельности, направленными на *повышение двигательной активности*, предупреждение гиподинамии. Кроме того, этот компонент содержания *воспитания обеспечивает закаливание организма, высокие адаптивные возможности*. Физкультурно-оздоровительный компонент направлен на освоение личностно-важных жизненных качеств, повышающих общую работоспособность, а также навыков личной и общественной гигиены [2, 4].

Таким образом, здоровьесберегающие образовательные технологии еще предстоит детально изучить и оптимизировать с учетом реальных условий их выполняемости в каждом конкретном случае.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бабанский Ю.К. Методические основы оптимизации учебно-воспитательного процесса / Ю.К. Бабанский. – 1982. – 480 с.
2. Ковалько В.И. Здоровьесберегающие технологии в начальной школе. 1-4 классы / В.И. Ковалько. – М.: ВАКО, 2004. – 296 с.
3. Кукушин В.С. Теория и методика обучения / В.С. Кукушин. – Ростов н/Д.: Феникс, 2005. – 474 с.
4. Менчинская Е.А. Основы Здоровьесберегающего обучения в начальной школе: Методические рекомендации по преодолению перегрузки учащихся / Е.А. Менчинская. – М.: Вентана-Граф, 2008. – 112 с.
5. Наш выбор – здоровье: досуговая программа, разработки мероприятий, рекомендации / авт.-сост. Н.Н. Шапцева. – Волгоград: Учитель, 2009. – 184 с.
6. Орехова В. А. Педагогика в вопросах и ответах. – М.: КНОРУС, 2006. – 147 с.

## Summary

### APPLICATION HEALTH SAVING UP OF EDUCATIONAL TECHNOLOGIES AT TRAINING OF SCHOOLBOYS

*O.A. Shatalov*

Moscow Region State Institute of Humanities

*Abstract.* The problem of the state, public opinion - to generate at the person the relation to the health, as to a private property on which savings all its well-being and life depends. This relation is necessary for forming at school. Now saving up technologies take root into educational process at school health.

*Key words:* health saving up technologies, components of health of savings, training of schoolboys.

## ВЫБОР МЕТОДИКИ СКРИНИНГА ЛИПОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ МИКРООРГАНИЗМОВ, ПРИГОДНОЙ ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ НАВЫКОВ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ ШКОЛЬНИКОВ

*Короткова Е.О., Короткова А.В., Колонцов А.А.*

Московский государственный областной гуманитарный институт

*Аннотация.* Апробирована методика скрининга липолитических ферментов микроорганизмов, пригодная для формирования научно-исследовательских навыков у школьников. Методика основана на выявлении физических изменений вокруг колоний микроорганизмов, выращенных на среде с агаром, содержащей яичный желток. В перспективе методика может быть полезной для поиска новых продуцентов липаз.

*Ключевые слова:* средняя школа, исследовательская работа, липолитические ферменты.

Одной из форм современного обучения в средней школе является проектная и научная деятельность учащихся. Для успешной реализации данной формы обучения учитель биологии должен ознакомить школьников с основными принципами научной работы (постановка проблемы, проведение эксперимента с соответствующими контролями, обработка результатов, формулирование выводов) на простых и доступных методиках. Перечень таких методик не слишком длинен. Так, согласно материалам научно-практической конференции 2011 года «Взаимодействие высшей и средней школы в условиях модернизации образования» выпускники МГОГИ в своей практической деятельности опираются в основном на различные варианты экологического мониторинга [1].

Цель данной работы заключалась в апробировании лабораторных методик, которые можно использовать в средней школе и ВУЗах не только для обучения навыкам научной работы, но и для решения прикладных задач. В качестве таких методик были выбраны методики качественного обнаружения липолитических ферментов, секретируемых микроорганизмами.

Сферы практического использования липаз микробного происхождения включают, в частности, обработку мехового сырья для получения жирных кислот из масла сафлора [2], ферментативное обессмоливание целлюлозы и механической массы [3], локальную очистку жиросодержащих сточных вод [4].

Биотехнологическое использование липаз требует поиска новых высокоактивных культур, продуцирующих данные ферменты. Первоначальный скрининг в этом случае проводят с помощью качественного определения липолитической активности микроорганизмов. Скрининг удобно проводить, оценивая физические изменения вокруг колоний микроорганизмов, выращенных на среде с агаром, содержа-

щей субстрат для липолитических ферментов.

Таким образом, методики качественного выявления липаз грибного и бактериального происхождения с одной стороны имеют практическое значение, а с другой стороны, просты в исполнении и не требуют сложной аппаратуры и дорогостоящих реактивов. Это и определяет их выбор в качестве методик, пригодных для формирования научно-исследовательских навыков у школьников.

В данной работе осуществлена оценка двух методик, использующих различные субстраты (твин 40, яичный желток) для качественного выявления липаз [5].

### *Материалы и методы.*

Стерилизация посуды достигалась нагреванием завернутых в бумагу предметов при 160-170°C в течение 2ч.

Для приготовления желточного агара пептон (20г),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (2,5г),  $\text{NaCl}$  (1г),  $\text{MgSO}_4$  (0,5г) растворяли в дистиллированной воде, доводили pH смеси до 7,3-7,4, вносили агар (12,5г) и добавляли дистиллированную воду до объема 500 мл. Смесь кипятили для растворения агара и охлаждали до 60°C в водяной бане. Скорлупу яйца дезинфицировали спиртом и давали ей обсохнуть. Яйцо разбивали и отделяли желток от белка. Желток переносили в расплавленный агар и перемешивали до получения однородной суспензии. Разливали в чашки Петри и оставляли до затвердения. Желточный агар в чашке засеивали штрихом для получения изолированных колоний. О наличии липазы свидетельствовало образование маслянистого блестящего с переливами или перламутрового слоя над колонией и вокруг нее на поверхности агара. Лецитиназу выявляют по образованию мутной (непрозрачной) зоны вокруг колоний.

Для приготовления мясо-пептонного агара с твином 40 два бульонных кубика растворяли в 1л воды при кипячении. Затем бульон фильтровали через ватный фильтр, добав-



ляли 2% агара и нагревали до полного растворения агара. Добавляли твин 40 в расплавленную агаровую среду при 45-50°C до конечной концентрации 1% (по объему). Среду встряхивали до полного растворения твина, разливали по чашкам Петри, оставляли до затвердения и засеивали штрихом. О положительном результате свидетельствовало появление мутного ореола вокруг колоний. При исследовании под микроскопом должно быть видно, что ореолы состоят из кристаллов кальциевого мыла.

*Результаты и их обсуждение.*

Чашки Петри с желточным агаром и с агаром с добавлением твина оставляли открытыми на 20 мин. В этом случае источником микроорганизмов служила воздушная среда. Поскольку одним из основных продуцентов липолитических ферментов являются микроскопические грибы, развивающиеся на сыре и других молочных продуктах, в качестве источника липазы была так же использована плесень, которую отбирали с сыра «Российский» и «Тильзитер». Мицелий плесневых грибов со спорами разводили в стерильном забуференном физиологическом растворе и далее осуществляли посев штрихом на питательную среду.

После инкубации при комнатной температуре в течение 1 недели на поверхности питательных сред, контактировавших с воздушной средой, образовалось несколько колоний микроорганизмов. На желточном агаре – колонии бело-зеленого и серого цвета, на среде с добавлением твина – бело-зеленого, коричневого и желтого цвета. На контрольных пробах (не контактировавших с воздушной средой) не наблюдалось образования колоний.

При рассмотрении при косом освещении поверхности питательной среды с желточным агаром и колоний под микроскопом положительного результата – образование маслянистого слоя вокруг колоний, или образования мутного слоя – обнаружено не было.

При исследовании под микроскопом колоний, выращенных на среде с твином 40 так же не выявлено кристаллов кальциевого мыла вокруг колоний. Таким образом, липолитически активные микроорганизмы в данном источнике не содержались.

На питательной среде, которую засеивали плесенью с сыра «Тильзитер» проросли колонии бело-зеленого цвета, по краям которых видны нити грибницы или мицелий. При рассмотрении под микроскопом положительного результата обнаружено не было.

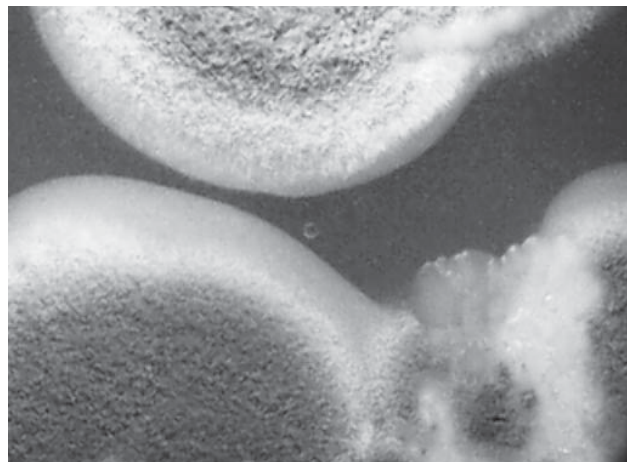
На питательной среде, которую засеивали плесенью с сыра «Российский», сформировались колонии бело-зеленого цвета, по внешнему виду несколько отличающиеся от колоний грибов с сыра «Тильзитер». Образование маслянистого слоя вокруг колоний не наблюдалось. Однако при рассмотрении под микроскопом отчетливо выделялся мутно-белый слой.

Таким образом, было отмечено изменение агарового слоя в виде гомогенной белой массы вокруг колоний, свидетельствующего о присутствии в среде лецитиназы (рис. 1).

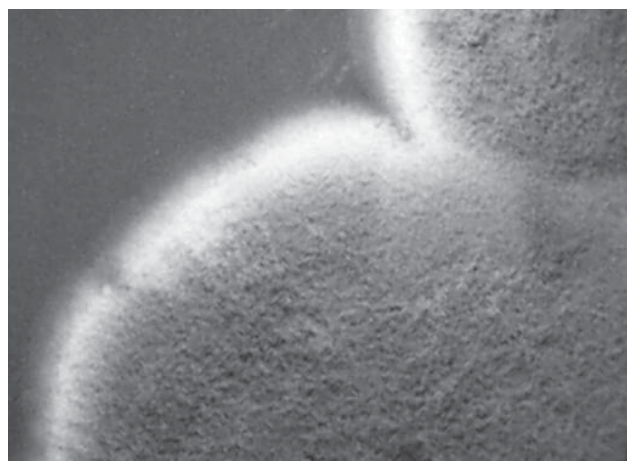
При посеве данного микроорганизма на среду, не содержащую куриный желток, мутно-белый слой вокруг колоний не образовывался. Следует отметить, что на среде, не содержащей куриный желток, образование колоний было замедленно по сравнению с ростом колоний на агаре, содержащем желток. Таким образом, культура гриба, ведущего свое происхождение с сыра «Тильзитер», секретировала в среду культивирования лецитиназу.

Сравнение морфологических признаков полученной культуры с морфологией грибов, преимущественно растущих на сырах и других молочных продуктах, показало наибольшее сходство ее с плесневыми грибами рода *Penicillium*.

А



Б



**Рисунок 1.** Колонии микроскопических грибов, отобранных с сыра «Тильзитер» (А) и сыра «Российский» (Б), выращенных на агаре, содержащем куриный желток. В первом случае вокруг колоний видно изменение агарового слоя в виде мутного ореола.

*Выводы*

Получены фотографии, демонстрирующие изменение агаровой среды, содержащей куриный желток, в присутствии микроорганизмов, продуцирующих липолитические ферменты.

Данная методика позволяет дифференцированно выявлять лецитиназы и липазы. Перспективы её использования включают скрининг бактерий и микроскопических грибов, секретирующих эти ферменты; селекцию новых штаммов-продуцентов с высоким уровнем липолитической активности; получение липаз, которые технологически и экономически были бы пригодны для промышленной реализации.

Методика доступна для освоения в условиях с минимальными требованиями к оборудованию и реактивам. Её освоение позволяет научить исполнителей основным принципам постановки научного эксперимента, а дальнейшее применение может привести к результатам, имеющим прикладное значение. Таким образом, данную методику можно рекомендовать для использования в проектной и научной деятельности учащихся.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Взаимодействие высшей и средней школы в условиях модернизации образования //Сборник материалов научно-практической конференции. Научно-практическая конференция «Взаимодействие высшей и средней школы в условиях модернизации образования, 8 окт. 2010г.» - Орехово-Зуево: МГОГИ, 2011. – 64 с. – ISBN 978-5-87471-128-3
2. Майдина Л.К. Использование липаз из микроорганизмов для получения жирных кислот из масла сафлора: автореферат дис. ... канд. хим. наук: 02.00.15, 03.00.23. – М, 2008. – 22 с.
3. Емельянова М.В. Ферментативное обессмоливание целлюлозы и механической массы: автореферат дис. ... канд. техн. наук: 05.21.03. - М, 2007. – 18 с.
4. Поскрякова Н. В. Разработка основы биопрепарата для деструкции жиров: автореферат дис. ... канд. биол. наук : 03.00.23. - Уфа, 2007. - 23 с.
5. Методы общей бактериологии /под ред. Ф. Герхарда и др. – М.: Мир, 1984. – 264с.

#### Summary

### THE CHOICE OF THE MICROORGANISM'S LIPOLYTIC ENZYMES SCREENING METHOD SUITABLE FOR FORMING SCIENTIFIC EXPERIENCE IN SCHOOL

*E.O. Korotkova, A.V. Korotkova, A.A. Kolontsov*

Moscow Region State Institute of Humanities

*Abstract.* The microorganism's lipolytic enzymes screening method suitable for forming scientific experience in school was tested. The method based on the detection of modifications near microorganism's colonies cultivated on agar-agar medium with egg yolk. The method may be useful for the search of novel lipase's producers.

*Key words:* secondary school, research work, lipolytic enzymes.

## НАШИ АВТОРЫ

**Звягина Валентина Ивановна** – кандидат биологических наук, доцент кафедры биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань; e-mail: zvjagina@mail.ru.

**Зыков Игорь Евгеньевич** – кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии, экологии и биотехнологии Московского государственного областного гуманитарного института, г. Орехово-Зуево.

**Киселева Валентина Алексеевна** – кандидат медицинских наук, зав. кафедрой фармакологии, фармакогнозии и ботаники Московского государственного областного гуманитарного института, г. Орехово-Зуево; e-mail: kiselevam1v2@mail.ru.

**Колонцов Александр Алексеевич** – доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой биологии, экологии и биотехнологии Московского государственного областного гуманитарного института, г. Орехово-Зуево; e-mail: kaaoz@yandex.ru.

**Короткова Алла Владиленовна** – старший преподаватель кафедры химии Московского государственного областного гуманитарного института, г. Орехово-Зуево.

**Короткова Евгения Олеговна** – аспирант кафедры биологии, экологии и биотехнологии Московского государственного областного гуманитарного института, г. Орехово-Зуево.

**Коротков Олег Владимирович** – кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакологии, фармакогнозии и ботаники Московского государственного областного гуманитарного института, г. Орехово-Зуево.

**Мишина Ольга Степановна** – кандидат сельскохозяйственных наук, старший преподаватель кафедры фармакологии, фармакогнозии и ботаники Московского государственного областного гуманитарного института, г. Орехово-Зуево; e-mail: mishinaos@yandex.ru.

**Рябков Александр Николаевич** – доктор медицинских наук, доцент кафедры фармакологии с курсом фармации и фармакотерапии ФПДО Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань; e-mail: ran@rofoms.ryazan.ru.

**Фомина Мария Алексеевна** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань.

**Фомина Наталья Васильевна** – ассистент кафедры биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова.

**Фролова Наталья Александровна** – кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакологии, фармакогнозии и ботаники Московского государственного областного гуманитарного института, г. Орехово-Зуево.

**Фадеева Наталья Викторовна** – учитель биологии 1 квалификационной категории МОУ «Ликино-Дулевский лицей», г. Ликино-Дулево.

**Черятников Александр Сергеевич** – студент фармацевтического факультета Московского государственного областного гуманитарного института, г. Орехово-Зуево.

**Шаталов Олег Алексеевич** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии, физиологии и общей медицины Московского государственного областного гуманитарного института, г. Орехово-Зуево; e-mail: oa\_66@mail.ru.

# ВЕСТНИК

МОСКОВСКОГО  
ГОСУДАРСТВЕННОГО  
ОБЛАСТНОГО  
ГУМАНИТАРНОГО  
ИНСТИТУТА

## МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

*Научный журнал*

*№1 (2012)*

Подписано в печать 28.05.2012 г.  
Формат 60x84/8.  
Усл. печ. л. 5,1. Тираж 100 экз. Заказ № 219.

Редакционно-издательский отдел  
Московского государственного областного гуманитарного института.  
142611, Московская область, г. Орехово-Зуево, ул. Зеленая, д.22.