ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки

2023
Т. 165, кн. 2

рецензируемый научный журнал

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ КАЗАНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА ОСНОВАНЫ В 1834 ГОДУ

Редакционная коллегия

Главный редактор

Г.К. Будников – д-р хим. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

Члены редколлегии

Р.Р. Хасанов (зам. гл. ред.) – д-р геол.-минерал. наук, доц., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия
Г.К. Зиятдинова (секретарь) – д-р хим. наук, доц., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия
Н.И. Акберова – канд. биол. наук, ст. науч. сотр., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия
И.С. Антипин – д-р хим. наук, проф., чл.-корр. РАН, Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия
А.С. Борисов – д-р геол.-минерал. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия
О.П. Ермолаев – д-р геогр. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия
А.А. Варнек – канд. хим. наук, д-р теоретической химии, проф., Страсбургский университет, г. Страсбург, Франция
Р.И. Жданов – д-р хим. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия
И.Б. Ившина – д-р биол. наук, акад. РАН, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия
С.В. Костров – д-р биол. наук, проф., чл.-корр. РАН, Институт молекулярной генетики РАН, г. Москва, Россия
Я. Лабуда – д-р наук, проф., Словацкий технологический университет в Братиславе, г. Братислава, Словацкая Республика
М. Либонати – д-р мед. наук, почётный проф., Университет Вероны, г. Верона, Италия
В.Н. Майстренко – д-р хим. наук, проф., Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия
В.В. Малахов – д-р биол. наук, акад. РАН, Московский государственный университет, г. Москва, Россия
А.И. Мелентьев – д-р биол. наук, проф., Институт биологии УНЦ РАН, г. Уфа, Россия
Д.К. Нургалиев – д-р геол.-минер. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия
А.А. Паутов – д-р биол. наук, проф., Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия
Ю.П. Переведенцев – д-р геогр. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия
Р.М. Сабиров – канд. биол. наук, доц., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия
С.Ю. Селивановская – д-р биол. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия
В.В. Силантьев – д-р геол.-минер, доцент, Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия
О.Г. Синяшин – д-р хим. наук, акад. РАН, Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, Россия
Р.Н. Хазипов – д-р мед. наук, Средиземноморский институт нейробиологии, г. Марсель, Франция; Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия
Ф. Хеллер – д-р наук, почётный проф., Швейцарская высшая техническая школа Цюриха, г. Цюрих, Швейцария
К. Ясуи – д-р наук, проф., Университет Хиросимы, г. Хиросима, Япония

Редактор английского текста *А.О. Кармазина*

Учредитель и издатель: ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций
Свидетельство о регистрации ПИ № ФС77-41874 от 27 августа 2010 г.

Журнал реферируется/индексируется в Scopus, DOAJ, EBSCO, eLIBRARY.RU, Emerging Sources Citation Index, Google Scholar, CAB Abstracts and Global Health, CAS Source Index, GeoRef, Ulrich's Periodicals Directory, WorldCat, КиберЛенинка

Подписной индекс 19422. Цена свободная

Адрес издателя и редакции «Ученые записки Казанского университета»: 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18
Телефон: (843) 233-73-01; e-mail: *uz.ku@kpfu.ru*; сайт: http://kpfu.ru/uz-rus/ns

Дата выхода в свет 18.08.2023. Формат 70×108/16.
Бумага офсетная. Усл. печ. л. 13,93.
Уч.-изд. л. 11,32. Тираж 300 экз. Заказ 23/8

Отпечатано в типографии Издательства
Казанского университета
420008, Казань, ул. проф. Нужина, д. 1/37

© Казанский федеральный университет, 2023

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki

2023
Vol. 165
no. 2

(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

Peer-Reviewed Scientific Journal

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA FOUNDED IN 1834

Editorial Board

Editor-in-Chief

Herman C. Budnikov – Doctor of Chemistry, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Members of Editorial Board

Rinat R. Khasanov (Deputy Editor-in-Chief) – Doctor of Geology and Mineralogy, Associate Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia
Guzel K. Ziyatdinova (Secretary) – Doctor of Chemistry, Associate Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia
Natalya I. Akberova – PhD in Biology, Associate Professor, Senior Research Fellow, Kazan Federal University, Kazan, Russia
Igor S. Antipin – Doctor of Chemistry, Professor, Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, Kazan Federal University, Kazan, Russia
Anatolij S. Borisov – Doctor of Geology and Mineralogy, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia
Oleg P. Ermolaev – Doctor of Geography, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia
Renad I. Zhdanov – Doctor of Chemistry, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia
Friedrich Heller – Doctor of Science, Professor Emeritus, Swiss Federal Institute of Technology in Zürich, Zürich, Switzerland
Irina B. Ivshina – Doctor of Biology, Member of Russian Academy of Sciences, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Perm, Russia
Roustem N. Khazipov – Doctor of Medicine, Mediterranean Institute of Neurobiology, Marseille, France; Kazan Federal University, Kazan, Russia
Sergey V. Kostrov – Doctor of Biology, Professor, Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, Institute of Molecular Genetics of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
Jan Labuda – Doctor of Science, Professor, Slovak University of Technology in Bratislava, Bratislava, Slovak Republic
Massimo Libonati – Doctor of Medicine, Emeritus Professor, Verona University, Verona, Italy
Valerii N. Maistrenko – Doctor of Chemistry, Professor, Bashkir State University, Ufa, Russia
Vladimir V. Malakhov – Doctor of Biology, Member of Russian Academy of Sciences, Moscow State University, Moscow, Russia
Aleksandr I. Melentiev – Doctor of Biology, Professor, Institute of Biology, Ufa Research Center of Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia
Danis K. Nurgaliev – Doctor of Geology and Mineralogy, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia
Anatolii A. Pautov – Doctor of Biology, Professor, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia
Jurij P. Perevedentsev – Doctor of Geography, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia
Rushan M. Sabirov – PhD in Biology, Associate Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia
Svetlana Ju. Selivanovskaya – Doctor of Biology, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia
Vladimir V. Silantev – Doctor of Geology and Mineralogy, Associate Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia
Oleg G. Sinyashin – Doctor of Chemistry, Member of Russian Academy of Sciences, Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia
Alexandre Varnek – PhD in Chemistry, Professor, Habilitation in Theoretical Chemistry, University of Strasbourg, Strasbourg, France
Kinya Yasui – Doctor of Science, Professor, Hiroshima University, Hiroshima, Japan

English Editor: *A.O. Karmazina*

Founder and Publisher: Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Kazan (Volga Region) Federal University"
The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technologies and Mass Media
Registration certificate PI No. FS77-41874 dated August 27, 2010

The journal is abstracted and/or indexed in Scopus, DOAJ, EBSCO, eLIBRARY.RU, Emerging Sources Citation Index, Google Scholar, CAB Abstracts and Global Health, CAS Source Index, GeoRef, Cyberleninka, Ulrich's Periodicals Directory, WorldCat

Subscription index: 19422. Free price

Contacts: Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta, ul. Kremlevskaya 18, Kazan, 420008 Russia
Phone: (843) 233-73-01; e-mail: *uz.ku@kpfu.ru*; website: http://kpfu.ru/uz-eng/ns

Date of publication: August 18, 2023. Page size: 70×108/16. Offset printing. Conventional printing sheet: 13.93. Publisher's signature: 11.32. Circulation: 300 copies. Order: 23/8

Printed in KFU Publishing House
ul. Prof. Nuzhina 1/37, Kazan, 420008 Russia

© Kazan Federal University, 2023

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ КАЗАНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА.
СЕРИЯ ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

2023, Т. 165, кн. 2 ISSN 2542-064X (Print)
С. 175–339 ISSN 2500-218X (Online)

СОДЕРЖАНИЕ

Беляев Г.П., Выштакалюк А.Б., Парфенов А.А., Галяметдинова И.В., Семенов В.Э., Зобов В.В. Антифиброзный эффект производных пиримидина ксимедона и его конъюгата с *L*-аскорбиновой кислотой…….. 175

Лопухов Л.В., Лайков А.В., Салафутдинов И.И., Романова В.А., Лопухов В.Л., Григорьева Т.В., Гайсина Л.Р., Ослопова Ю.В., Сафина Д.Д., Валеева И.Х., Абдулхаков С.Р., Файзуллин Р.И., Киясов А.П. Исследование воздействия акролеина и кротонового альдегида в российской популяции при переходе с обычных сигарет на электронную систему нагревания табака…….…….. 190

Узлова Е.В., Зиматкин С.М., Бонь Е.И. Содержание нейроглобина в структурах головного мозга крысы при субтотальной ишемии…….. 204

Ратушный А.Ю. Иммунофенотип мезенхимальных стромальных клеток при репликативном старении.……. 216

Галиева Г.Ш., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю. Растительный микробиом: происхождение, состав и функции…..…… 231

Светашева Д.Р., Татарников В.О., Очеретный М.А., Бакун О.И. Полиароматические углеводороды в донных отложениях Каспийского моря.……. 263

Базарский О.В., Кочетова Ж.Ю., Кульнев В.В., Пантелеев Д.А. Энтропийная модель динамического хаоса геоэкологической системы……...….. 281

Зорина С.О., Никашин К.И., Афанасьева Н.И., Хамада Н. Микроструктуры на поверхности зерен кварца и происхождение палеогеновых песков Ульяновско-Сызранского Поволжья……..…… 295

Кутыгин Р.В., Макошин В.И. Брахиоподы имтачанской свиты верхней перми Южного Верхоянья, Северо-Восток России ……. 308

Фазлыйяхматов М.Г., Шаманов И.Н., Сахаров Б.В., Хасанова Н.М., Варфоломеев М.А., Самосоров Г.Г., Пастухов М.О. Определение содержания ароматических углеводородов в минеральных маслах методом ЯМР-релаксации …… 322

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA.
SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2023, vol. 165, no. 2 ISSN 2542-064X (Print)
pp. 175–339 ISSN 2500-218X (Online)

CONTENTS

Belyaev G.P., Vyshtakalyuk A.B., Parfenov A.A., Galyametdinova I.V., Semenov V.E., Zobov V.V. Antifibrotic effect of pyrimidine derivatives of Xymedon and its conjugate with *L*-ascorbic acid…….. 175

Lopukhov L.V., Laikov A.V., Salafutdinov I.I., Romanova V.A., Lopukhov V.L., Grigoryeva T.V., Gaysina L.R., Oslopova J.V., Safina D.D., Valeeva I.H., Abdulkhakov S.R., Faizullin R.I., Kiyasov A.P. Insights into the health effects of acrolein and crotonaldehyde in Russian smokers switching from regular cigarettes to heated tobacco products…….. 190

Uzlova E.V., Zimatkin S.M., Bon E.I. Neuroglobin content in rat brain structures after subtotal cerebral ischemia……...…… 204

Ratushnyy A.Yu. Immunophenotype of replicative senescent mesenchymal stromal cells……..……... 216

Galieva G.Sh., Galitskaya P.Yu., Selivanovskaya S.Yu. Plant microbiome: Origin, composition, and functions……. 231

Svetasheva D.R., Tatarnikov V.O., Ocheretny M.A., Bakun O.I. Polyaromatic hydrocarbons in the bottom sediments of the Caspian Sea…… 263

Bazarsky O.V., Kochetova Zh.Yu., Kul'nev V.V., Panteleev D.A. Entropy model of dynamic chaos of an abiotic system……... 281

Zorina S.O., Nikashin K.I., Afanasieva N.I., Hamada N. Surface microtextures of quartz grains and origin of the Paleogene sands in the Ulyanovsk-Syzran Volga region……..…….. 295

Kutygin R.V., Makoshin V.I. Brachiopods of the Imtachan Formation in the Upper Permian of the Southern Verkhoyanie, Northeast Russia …… 308

Fazlyyyakhmatov M.G., Shamanov I.N., Sakharov B.V., Khasanova N.M., Varfolomeev M.A., Samosorov G.G., Pastukhov M.O. Determination of the aromatics content in mineral oils by LF NMR…..……... 322

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ КАЗАНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА.
СЕРИЯ ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

2023, Т. 165, кн. 2
С. 175–189

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 591.8+615.275.4

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.175-189

АНТИФИБРОЗНЫЙ ЭФФЕКТ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНА КСИМЕДОНА И ЕГО КОНЪЮГАТА С *L*-АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТОЙ

Г.П. Беляев, А.Б. Выштакалюк, А.А. Парфенов, И.В. Галяметдинова, В.Э. Семенов, В.В. Зобов

Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанский научный центр РАН, 420088 Казань, Россия

Аннотация

Целью настоящего исследования стало изучение противофиброзных свойств производных пиримидина препарата Ксимедон, далее соединение (I), и конъюгата Ксимедона с *L*-аскорбиновой кислотой, далее соединение (II), на модели экспериментального фиброза крыс при профилактической схеме введения.

Экспериментальный фиброз вызывали у крыс линии Wistar четыреххлористым углеродом (5% масляный раствор в дозе 0.2 мл/кг перорально, 2 раза в неделю) в сочетании с этанолом (5% раствор в питьевой воде, при свободном доступе), на фоне введения которых осуществляли профилактическое введение исследуемых соединений (I) и (II). Оценку фибротических изменений в печени проводили гистологическими методами при окрашивании по Ван-Гизону. Эффективность влияния веществ на состояние печени и клиническое состояние животных также оценивали по биохимическим показателям сыворотки крови.

В результате исследования было показано, что под действием соединений (I) и (II) наблюдалось снижение выявляемых областей фиброзных образований втрое, а также уменьшение признаков стеатозных и некротических изменений в ткани печени экспериментальных животных по сравнению с контрольной группой; наблюдалась нормализация биохимических показателей крови. При этом соединение (II) проявило более выраженный эффект.

Таким образом, на модели экспериментального фиброза крыс выявлен антифиброзный эффект производных пиримидина Ксимедона и его конъюгата с *L*-аскорбиновой кислотой.

Ключевые слова: фиброз, антифиброзный эффект, коллаген, ксимедон, четыреххлористый углерод.

Введение

Фиброз печени – это хронический воспалительный процесс, характеризующийся избыточным отложением волокон внеклеточного матрикса (в том числе коллагена), что приводит к печеночной недостаточности [1]. В современном мире прогрессирующий фиброз печени (и цирроз – последняя стадия фиброза) является одной из основных проблем здравоохранения и приводит к смерти около 1 миллиона человек в год. Кроме того, некоторыми специалистами про-

гнозируется увеличение количества таких заболеваний печени [2]. Несмотря на прогресс в изучении механизмов и способов лечения фиброза печени, до сих пор не существует удовлетворительной антифиброзной терапии [3]. Именно поэтому поиск новых способов лечения хронических заболеваний печени остается важной задачей.

В данном исследовании агентом, вызывающим повреждение печени, является четыреххлористый углерод (CCl_4), механизм действия которого связан с образованием свободнорадикальных метаболитов, вызывающих перекисное окисление липидов клеточной мембраны и дальнейшее повреждение клеток [4]. Кроме того, для имитации алкогольного поражения печени человека использовался этанол, токсичные метаболиты которого также способствуют оксидативному стрессу [5].

Объектом данного исследования были производные пиримидина: лекарственный препарат Ксимедон (соединение (I)) (1,2-дигидро-2-оксо-4,6-диметил-1-(2-гидроксиэтил)пиримидин), а также конъюгат Ксимедона с *L*-аскорбиновой кислотой (соединение (II)), структурная формула которых представлена в формуле (рис. 1).

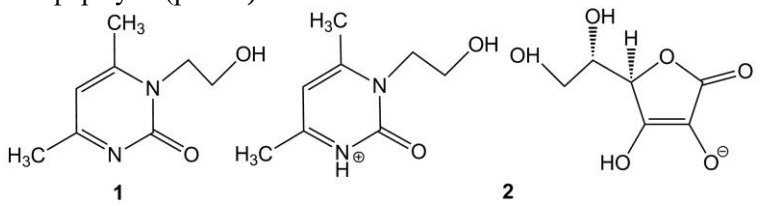

Рис. 1. Структурные формулы изучаемых соединений. 1 – Ксимедон (соединение (I)), 2 – конъюгат Ксимедона с *L*-аскорбиновой кислотой (соединение (II))

Таким образом, в настоящем исследовании проведена оценка влияния производных пиримидинов соединения (I) и соединения (II) на процесс фиброгенеза ткани печени крыс при хроническом токсическом повреждении CCl_4 и этанолом. Мы предполагаем, что противовоспалительный и регенерирующий эффекты соединений (I) и (II), показанные ранее на острых моделях повреждения ткани печени [6], будут способствовать ингибированию развития фиброза в ткани печени. Результаты, полученные в ходе исследования, подтвердили наше предположение.

1. Материалы и методы

1.1. Синтез соединений. Ксимедон (1,2-Дигидро-4,6-диметил-1-(2-оксиэтил)-пиримидин-2-он) и конъюгат Ксимедона с *L*-аскорбиновой кислотой были синтезированы по описанным ранее методикам [7, 8].

1.2. Схема эксперимента. Эксперимент проводился на 24 взрослых самках крыс линии Wistar массой 200–250 г., полученных из НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН (Пущино). Животных содержали в соответствии с положениями [9, 10] в стандартных условиях вивария с 12-часовым световым днем и неограниченным доступом к еде и воде. Животных кормили комплексным кормом, изготовленным в соответствии со спецификацией (белок 22%, клетчатка не более 4%, жир не более 5%, зола не более 9%, влажность не

более 13.5%, калорийность 295 ккал на 100 г. Все исследования и протоколы по работе с животными были одобрены локальным этическим комитетом Казанского федерального университета (протокол № 4 от 18 мая 2017 года).

Крысы случайным образом были поделены на 4 группы: группа интактного контроля (n = 6), группа контроля (n = 6), группа соединения (I) (n = 6) и группа соединения (II) (n = 6). Схема эксперимента представляла собой профилактическое введение соединений (I) и (II) каждый день на протяжении 1 недели. Соединение (I) и (II) вводили внутрибрюшинно в дозе 0.24 мг/кг и 0.5 мг/кг соответственно. Растворы соединений для инъекций готовились непосредственно перед введением. В контрольной группе вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме. Затем, начиная со 2 по 8 неделю эксперимента, вызывали хроническое повреждение печени введением четыреххлористого углерода и этанола (CCl_4+этанол) по нижеописанной схеме. 5% масляный раствор CCl_4 в дозе 0.2 мл/кг вводили животным перорально 2 раза в неделю. Для имитации алкогольного повреждения печени человека [5], а также потенцирования действия CCl_4, со 2 по 8 неделю крысам давали 5% водный раствор этилового спирта через поилки при свободном доступе. При этом продолжали ежедневно вводить соединения (I) и (II) и физиологический раствор в контрольной группе. Группа интактного контроля оставалась без воздействий на протяжении всего опыта. По окончании введения веществ, животных подвергали эвтаназии и проводили забор материала.

1.3. Анализ крови. Из образцов крови получали сыворотку путем центрифугирования (3 000 об/мин 10 мин), которую исследовали на автоматическом биохимическом анализаторе АРД 200 («АРД», Россия). Была проведена оценка таких показателей, как аланинаминотрансфераза (АлАТ), аспартатаминотрансфераза (АсАТ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ).

1.4. Гистологический анализ. Образцы печени для гистологического анализа подготавливали по стандартным гистологическим методикам. Срезы печени толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и по методу Ван-Гизона. Морфометрический анализ срезов печени проводили на прямом световом микроскопе Nikon H550S (Nikon, Япония) с программным обеспечением NIS-Elements Basic Research.

Качественную оценку фиброза проводили по методу METAVIR [11], где $F0$ – отсутствие фиброза, $F1$ – звездчатое увеличение портального тракта, но без образования перегородок, $F2$ – увеличение воротного тракта с редким образованием перегородок, $F3$ – многочисленные перегородки без цирроза, а $F4$ – цирроз. Степень фиброза выражали как среднее значение десяти полей, взятых с каждого предметного стекла.

Количественная оценка фиброза (% фиброза) осуществлялась как соотношение площади коллагена к площади видимой области ткани печени на микроскопических изображениях с использованием методов анализа цифровых изображений, как описано в [11]. К каждому образцу изображения применялась интерактивная пороговая обработка, чтобы выделить контрастно окрашенный коллаген. Для повышения контрастности изображения срезы окрашивались по методу Ван-Гизона без использования гематоксилина Вейгерта, таким образом, контрастно окрашенные красные волокна коллагена обнаруживались на жел-

том фоне ткани. Для измерения фиброза (%) использовали увеличение 40х, изучая по 10 областей печени от одной крысы.

1.5. Статистический анализ. Все цифровые значения в статье представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего ($\bar{X} \pm$ SE). Нормальность распределения определяли по критерию Колмогорова – Смирнова. В случае нормальности распределения для статистического анализа полученных данных использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с апостериорным критерием Тьюки, при этом уровень значимости при $p < 0.05$ считался значимым. Для анализа признаков, распределение которых отличается от нормального, использовали непараметрический критерий Краскела – Уоллиса и попарное сравнение по тесту Манна – Уитни с поправкой Бонферрони для множественного сравнения, при этом уровень значимости при $p < 0.0085$ считался значимым. Статистический анализ проводили в программе SPSS Statistics (IBM, США).

2. Результаты

2.1. Оценка массы тела и массового коэффициента печени. В процессе проведения эксперимента у всех четырех групп крыс наблюдался равномерный прирост массы тела. Прибавка массы тела животных за два месяца эксперимента составила в среднем 10.6 ± 0.5%.

В ходе исследования массового коэффициента печени крыс (рис. 2) было показано, что массовый коэффициент печени контрольной группы после воздействия CCl_4 + этанол увеличился ($p = 0.011$) (3.3 ± 0.1%) по сравнению с интактным контролем (2.6 ± 0.0%).

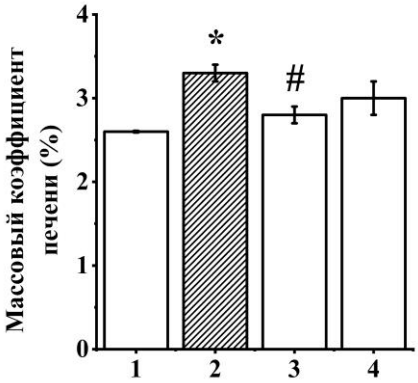

Рис. 2. Влияние соединений (I) и (II) на массовый коэффициент печени крыс. 1 – группа интактного контроля, 2 – группа контроля, 3 – группа соединения (I), 4 – группа соединения (II). * – различия с интактной группой достоверны, $p < 0.05$; # – различия с контрольной группой достоверны, $p < 0.05$

В группе крыс, получавших дополнительно к воздействию CCl_4 + этанол соединение (I), показано снижение ($p = 0.047$) массового коэффициента печени (2.8 ± 0.1%) по сравнению с контрольной группой. При этом в группе крыс, получавших совместно с CCl_4 + этанол соединение (II), мы также наблюдаем

тенденцию к снижению ($p = 0.174$) массового коэффициента печени (3.0 ± 0.2%) по сравнению с контролем.

2.2. Оценка биохимических показателей сыворотки крови. В данном исследовании в результате введения CCl_4 + этанол мы наблюдаем изменения биохимических маркеров повреждения печени (рис. 3). Показано увеличение ($p = 0.004$) показателей повреждения гепатоцитов АлАТ в 1.8 раз и увеличение ($p = 0.047$) АсАТ в 1.9 раза по сравнению с интактным контролем (105.8 ± 7.3 относительно 58.3 ± 2.8 Ед/л для АлАТ; 210.8 ± 32.8 относительно 98.7 ± 0.9 Ед/л для АсАТ). В случае профилактического введения соединений (I) и (II) наблюдается снижение ($p = 0.026$) для показателя АлАТ при введении соединения (II)) показателей АлАТ и АсАТ по сравнению с контролем (88.5 ± 8.4 и 75.0 ± 3.5 Ед/л соответственно для АлАТ; 153.3 ± 21.4 и 122.6 ± 9.7 Ед/л соответственно для АсАТ). Что касается маркера общего повреждения клеток ЛДГ, наблюдается резкое увеличение ($p = 0.026$) уровня ЛДГ в 4.9 раза в контрольной группе после воздействия CCl_4+этанол по сравнению с интактным контролем (2732.5 ± 667.0 против 559.3 ± 148.4 Ед/л). В случае воздействия соединений (I) и (II) уровень ЛДГ был ниже ($p = 0.036$ и $p = 0.018$ соответственно), чем в контроле (1044.8 ± 151.8 и 764.0 ± 181.0 Ед/л соответственно).

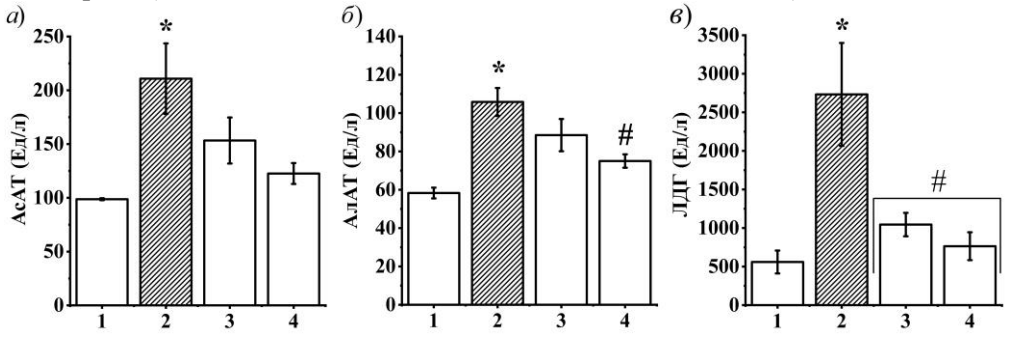

Рис. 3. Влияние соединений (I) и (II) на маркеры повреждения клеток: *а*) активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ), *б*) активность аланинаминотрансферазы (АлАТ), *в*) активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ). 1 – группа интактного контроля, 2 – группа контроля, 3 – группа соединения (I), 4 – группа соединения (II). * – различия с интактной группой достоверны, $p < 0.05$; # – различия с контрольной группой достоверны, $p < 0.05$

2.3. Оценка общего состояния ткани печени. Оценка общего состояния ткани печени (рис. 4) проводилась при помощи стандартной окраски гематоксилин-эозином. Были изучены степень развития стеатоза и наличие других паренхиматозных дистрофий. Для крыс интактной группы показано, что морфология ткани печени не изменена, гепатоциты нормальной формы. На фоне воздействия CCl_4 + этанол в контрольной группе архитектура ткани печени была нарушена, гепатоциты часто неправильной формы, отекшие, сильно модифицированы. Среди патологий клеток печени преобладает гидропическая дистрофия, а также некротические повреждения (такие, как баллонная дистрофия, апоптоз клеток и кариорексис), кроме того, встречается жировое перерождение (стеатоз). В ткани печени опытных групп, получавших соединения (I) и (II), в отличие от контрольной группы сохраняется структура дольки печени, больше областей с нормальными (полноценными) гепатоцитами. Среди дис-

трофий чаще встречается стеатоз, в отличие от контроля, где существенно больше некротических повреждений.

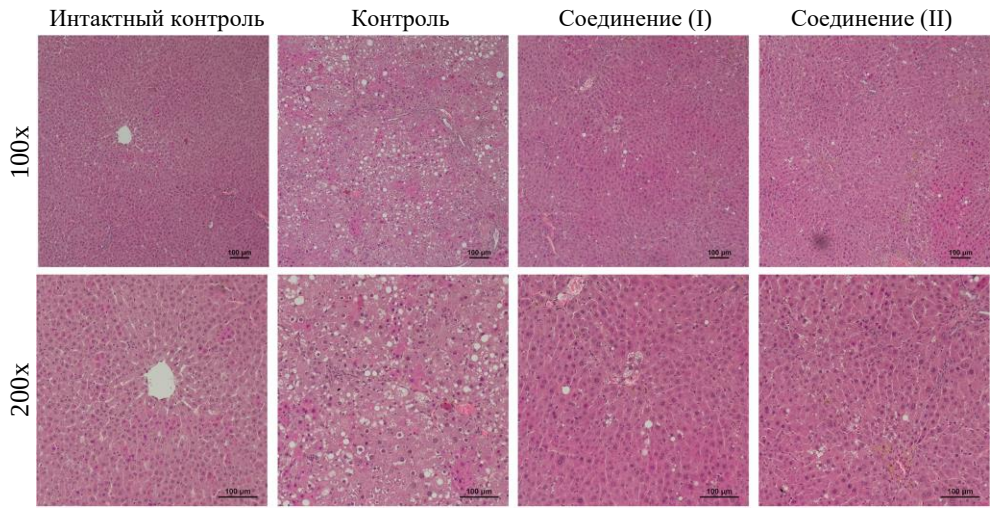

Рис. 4. Влияние соединений (I) и (II) на морфологию ткани печени, окраска гематоксилином-эозином, увеличение 100x и 200x

2.4. Оценка фиброза ткани печени. Качественную оценку фиброза ткани печени (рис. 5) проводили по системе METAVIR. Показано, что в группе интактного контроля портальные тракты не увеличены, что соответствует стадии *F*0. У крыс контрольной группы, получавших CCl_4 + этанол, в ткани печени крыс наблюдаются многочисленные перегородки без цирроза или (реже) цирроз, характеризующийся образованием ложных долек, что соответствует стадии *F*3–*F*4. В ткани печени опытных групп наблюдается коллаген без образования септ или (реже) с единичными септами, что соответствует стадии фиброза *F*1–*F*2.

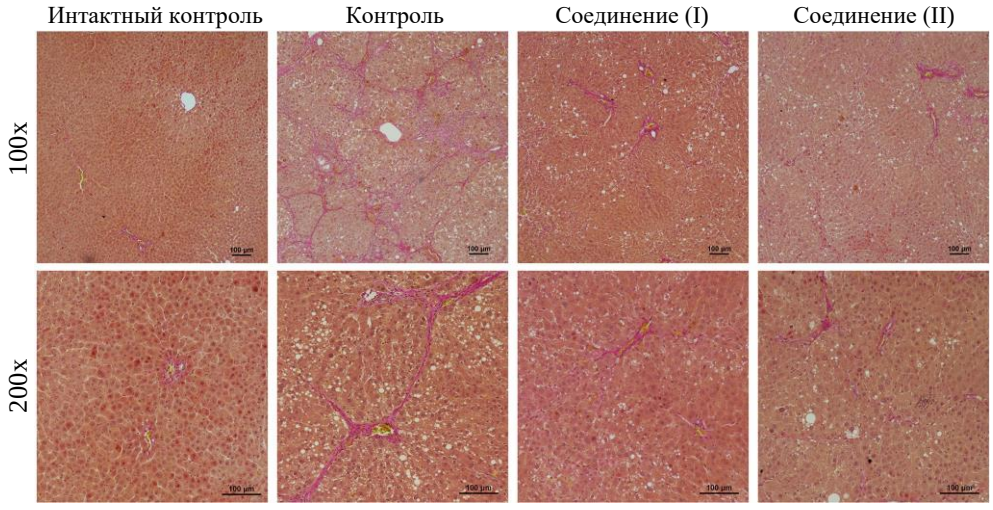

Рис. 5. Влияние соединений (I) и (II) на развитие коллагеновых волокон (красного цвета) в ткани печени, окраска по методу Ван-Гизона, увеличение 100x и 200x

В результате количественной оценки фиброза (рис. 6, 7) было показано, что при хроническом воздействии CCl_4 + этанол в контрольной группе процент площади коллагена увеличивается ($p < 0.0001$) в 5.7 раз по сравнению с интактным контролем (6.3 ± 0.9 и 1.1 ± 0.1% соответственно), что подтверждает развитие фибротических изменений. Однако в группе крыс, получавших дополнительно к воздействию CCl_4 + этанол соединения (I) и (II), показано снижение ($p < 0.0001$) площади коллагена в ткани печени в 3 раза по сравнению с контрольной группой (2.2 ± 0.1 и 2.1 ± 0.1% соответственно), что говорит о торможении развития фибротических изменений при профилактическом введении данных соединений.

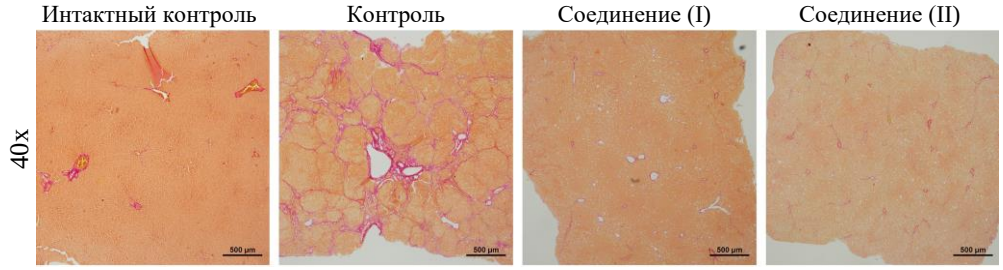

Рис. 6. Влияние соединений (I) и (II) на развитие коллагеновых волокон (красного цвета) в ткани печени, окраска по методу Ван-Гизона в отсутствие гематоксилина Вейгерта для контрастирования окраски коллагена, увеличение 40х.

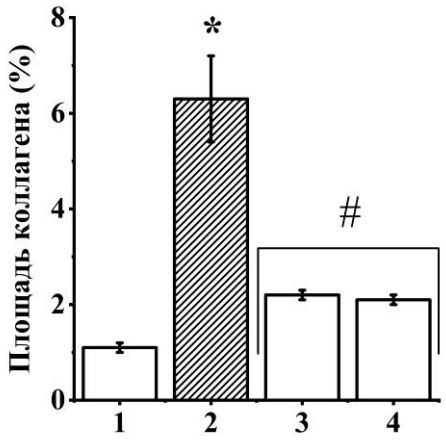

Рис. 7. Влияние соединений (I) и (II) на процент площади коллагена в ткани печени крыс. 1 – группа интактного контроля, 2 – группа контроля, 3 – группа соединения (I), 4 – группа соединения (II). *– различия с интактной группой достоверны, $p < 0.0085$; # – различия с контрольной группой достоверны, $p < 0.0085$

3. Обсуждение

В проведенном исследовании в результате воздействия гепатотоксинов по использованной нами схеме введения (CCl_4 + этанол) выявлены нарушения, сопоставимые с приведенными литературными данными, описывающими развитие повреждений печени у животных при моделировании острых и хрониче-

ских заболеваний, такие как увеличение массового коэффициента печени, существенное отклонение от нормы биохимических показателей сыворотки крови [12], различные гистопатологические изменения, а также увеличение экспрессии коллагена в ткани печени [13].

На фоне профилактического введения соединений (I) и (II) наблюдалось значительное уменьшение признаков развития фиброза, проявляющееся в снижении детекции коллагена в ткани печени крыс примерно втрое. Кроме того, под действием исследованных соединений наблюдалась нормализация биохимических показателей – снижение маркеров повреждения клеток АлАТ, АсАТ и ЛДГ, что свидетельствует об уменьшении некротических и деструктивных изменений и значительном улучшении функционального состояния клеток печени.

При этом соединение (II) продемонстрировало более выраженный эффект нормализации биохимических показателей в сравнении с соединением (I), что подтверждает полученные ранее данные о большей эффективности соединения (II) в протекции клеток печени при остром токсическом гепатите [8]. Более высокая эффективность соединения (II), вероятно, связана с тем, что *L*-аскорбиновая кислота усиливает биологический эффект соединения (I), так как существуют данные о влиянии *L*-аскорбиновой кислоты на усиление пролиферации гепатоцитов *in vitro* [14] и регенерацию ткани печени крыс [15]. Кроме того, известно, что конъюгация веществ с *L*-аскорбиновой кислотой повышает их биодоступность [16].

Итак, показанное в статье ингибирование развития фиброза ткани печени может объясняться тем, что изучаемое соединение (I), предположительно, воздействует на уровень аденилатциклазы и, соответственно, внутриклеточного циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), что было показано на иммунокомпетентных клетках [17]. Известно, что цАМФ является вторичным посредником и обеспечивает проявление разнообразных биологических эффектов у различных типов клеток [18]. Кроме того, показана некоторая связь уровня цАМФ и фибротических изменений. Так, цАМФ в фибробластах снижает их пролиферативную активность [19], что в свою очередь может изменять процессы фиброгенеза в тканях. Также от уровня цАМФ может зависеть дифференцировка и активация макрофагов [20], играющих важную роль в разрешении фиброза [21]. Таким образом, противофиброзный эффект соединений (I) и (II) предположительно может объясняться изменением уровня цАМФ и последующим влиянием на рекрутирование и активность макрофагов, а также подавлением пролиферации фибробластов.

Кроме того, известно, что в развитии фиброза важную роль играет воспалительный процесс, активирующий трансдифференцировку звездчатых клеток, превращение их в миофибробласты [1] и последующее развитие коллагена. Поэтому показанный в статье противофиброзный эффект соединений (I) и (II) может объясняться их противовоспалительным воздействием на клетки, показанным ранее в работе [6]. В дополнение к вышеперечисленному, в предыдущей работе авторов статьи [22] показано, что при воздействии соединения (II) на ткань печени при остром токсическом гепатите, вызванном CCl_4, происходит повышение уровня интерлейкина 10, стимулирующего апоптоз звездчатых

клеток [23], а также снижение уровня интерлейкина 13, который обладает профиброзным эффектом [24]. Такое влияние соединений (I) и (II) на воспалительный статус ткани печени также может объясняться влиянием соединения (I) на уровень цАМФ [17], так как показано, что изменение количества последнего регулирует уровень провоспалительных цитокинов [25], что непосредственным образом влияет на развитие фибротических изменений, из-за трансдифференцировки звездчатых клеток. Кроме того, авторами работы ранее было показано [26], что при воздействии соединения (II) уровень экспрессии α-актина гладких мышц (α-SMA) в ткани печени крыс ниже, чем в контрольной группе при моделировании острого токсического гепатита. Как известно, α-SMA является маркером образования миофибробластов, которые непосредственно участвуют в развитии фиброза и синтезе коллагена [27], что еще раз подтверждает способность соединений снижать активность звездчатых клеток и уменьшать экспрессию коллагена в ткани печени крыс.

Заключение

На экспериментальной модели фиброза печени крыс, вызванной сочетанным введением CCl_4 и этанола, при профилактической схеме введения соединений, показана антифиброзная активность производных пиримидина Ксимедона и его конъюгата с *L*-аскорбиновой кислотой. Установлено, что профилактическое введение изучаемых соединений на фоне воздействия CCl_4 и этанола приводит к снижению отложения коллагеновых волокон и сохранению структуры ткани печени, а также к поддержанию нормального функционирования гепатоцитов, что проявляется в нормализации биохимических показателей крови. Таким образом, проведенное фундаментальное исследование открывает новые возможности для использования Ксимедона и его производных в качестве эффективных соединений для лечения как острых, так и хронических заболеваний печени.

Благодарности. Работа выполнена в рамках финансирования Государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН.

Литература

1. *Faccioli L.A.P., Dias M.L., Paranhos B.A., dos Santos Goldenberg R.C.* Liver cirrhosis: An overview of experimental models in rodents // Life Sci. 2022. V. 301. art. 120615. doi: 10.1016/j.lfs.2022.120615.
2. *Mokdad A.A., Lopez A.D., Shahraz S., Lozano R., Mokdad A.H., Stanaway J., Murray C.J., Naghavi M.* Liver cirrhosis mortality in 187 countries between 1980 and 2010: A systematic analysis // BMC Med. 2014. V. 12, No 1. art. 145. doi: 10.1186/s12916-014-0145-y.
3. *Li M.-H., Feng X., Deng Ba D.J., Chen C., Ruan L.-Y., Xing Y.-X., Chen L.-Y., Zhong G.-J., Wang J.-S.* Hepatoprotection of *Herpetospermum caudigerum* Wall. against CCl_4-induced liver fibrosis on rats // J. Ethnopharmacol. 2019. V. 229. P. 1–14. doi: 10.1016/j.jep.2018.09.033.
4. *Ben Hsouna A., Hfaiedh M., Slima S.B., Romdhane W.B., Akacha B.B., Bouterra M.T., Dhifi W., Mnif W., Brini F., Ben Saad R., Ben Salah R.* Antioxidant and hepatoprotective effects of novel heteropolysaccharide isolated from *Lobularia maritima* on CCl_4-induced

liver injury in rats // Food Sci. Nutr. 2022. V. 10, No 7. P. 2271–2284. doi: 10.1002/fsn3.2836.

5. *Brol M.J., Rösch F., Schierwagen R., Magdaleno F., Uschner F.E., Manekeller S., Queck A., Schwarzkopf K., Odenthal M., Drebber U., Thiele M., Lingohr P., Plamper A., Kristiansen G., Lotersztajn S., Krag A., Klein S., Rheinwalt K.P., Trebicka J.* Combination of CCl_4 with alcoholic and metabolic injuries mimics human liver fibrosis // Am. J. Physiol.: Gastrointest. Liver Physiol. 2019. V. 317, No 2. P. G182–G194. doi: 10.1152/ajpgi.00361.2018.
6. *Vyshtakalyuk A.B., Nazarov N.G., Semenov V.E., Galyametdinova I.V., Diabankana R.G.K., Porfiriev A.G., Zobov V.V.* Recovery of liver damaged by CCl_4 under treatment by conjugate of drug Xymedon with L-ascorbic acid // Int. J. Pharm. Sci. Res. 2018. V. 9, No 10. P. 4117–4126. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.9(10).4117-26.
7. *Reznik V.S., Pashkurov N.G.* Reactions of pyrimidinols and pyrimidinethiols with 2-chloroethanol and with 2-chloro-1-propanol // Bull. Acad. Sci. USSR, Div. Chem. Sci. 1966. V. 15, No 9. P. 1554–1557. doi: 10.1007/BF00848915.
8. *Vyshtakalyuk A.B., Semenov V.E., Zobov V.V., Galyametdinova I.V., Gumarova L.F., Parfenov A.A., Nazarov N.G., Lenina O.A., Kondrashova S.A., Latypov Sh.K., Cherepnev G.V., Shashyn M.S., Reznic V.S.* Synthesis and primary evaluation of the hepatoprotective properties of novel pyrimidine derivatives // Russ. J. Bioorg. Chem. 2017. V. 43, No 5. P. 604–611. doi: 10.1134/S106816201704015X.
9. *Миронов А.Н.* (ред.) Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 2. М.: Гриф и К, 2012, 536 с.
10. Commission Recommendation of 18 June 2007 on guidelines for the accommodation and care of animals used for experimental and other scientific purposes (2007/526/EC) // OJEU. 2007. V. L197. P. 1–89.
11. *Arjmand A., Tsipouras M.G., Tzallas A.T., Forlano R., Manousou P., Giannakeas N.* Quantification of liver fibrosis – A comparative study // Appl. Sci. 2020. V. 10, No 2. art. 447. doi: 10.3390/app10020447.
12. *Abd-Elhakim Y.M., Ghoneim M.H., Khairy M.H., Eissa S.A.* Single or combined protective and therapeutic impact of taurine and hesperidin on carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in rat // Environ. Sci. Pollut. Res. 2020. V. 27, No 12. P. 13180–13193. doi: 10.1007/s11356-020-07895-1.
13. *Zheng W.V., Li Y., Cheng X., Xu Y., Zhou T., Li D., Xiong Y., Wang S., Chen Z.* Uridine alleviates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis by regulating the activity of liver-related cells // J. Cell. Mol. Med. 2021. V. 26, No 3. P. 840–854. doi: 10.1111/jcmm.17131.
14. *Moteki H., Kimura M., Sunaga K., Tsuda T., Ogihara M.* Signal transduction mechanism for potentiation by α_1- and β_2-adrenoceptor agonists of L-ascorbic acid-induced DNA synthesis and proliferation in primary cultures of adult rat hepatocytes // Eur. J. Pharmacol. 2013. V. 700, No 1-3. P. 2–12. doi: 10.1016/j.ejphar.2012.12.010.
15. *Kimura M., Moteki H., Uchida, M., Natsume H., Ogihara M.* L-ascorbic acid- and L-ascorbic acid 2-glucoside accelerate *in vivo* liver regeneration and lower serum alanine aminotransaminase activity in 70% partially hepatectomized rats // Biol. Pharm. Bull. 2014. V. 37, No 4. P. 597–603. doi: 10.1248/bpb.b13-00839.
16. *Luo Q., Jiang M., Kou L., Zhang L., Li G., Yao Q., Shang L., Chen Y.* Ascorbate-conjugated nanoparticles for promoted oral delivery of therapeutic drugs via sodium-dependent vitamin C transporter 1 (SVCT1) // Artif. Cells, Nanomed., Biotechnol. 2017. V. 46, No 1. P. 198–208. doi: 10.1080/21691401.2017.1417864.

17. *Slabnov Y.D., Cherepnev G.V., Karimova F.G., Garaev R.S.* Effect of pyrimidine derivatives on adenylate cyclase system of immunocompetent cell regulation *in vitro* // Bull. Exp. Biol. Med. 1998. V. 125, No 6. P. 588–590. doi: 10.1007/bf02445248.

18. *Ladilov Y., Appukuttan A.* Role of soluble adenylyl cyclase in cell death and growth // BBA, Biochim. Biophys. Acta., Mol. Basis Dis. 2014. V. 1842, No 12. P. 2646–2655. doi: 10.1016/j.bbadis.2014.06.034.

19. *Borland G., Smith B.O., Yarwood S.J.* EPAC proteins transduce diverse cellular actions of cAMP // Br. J. Pharmacol. 2009. V. 158, No 1. P. 70–86. doi: 10.1111/j.1476-5381.2008.00087.x.

20. *Tavares L.P., Negreiros-Lima G.L., Lima K.M., E Silva P.M.R., Pinho V., Teixeira M. M., Sousa L.P.* Blame the signaling: Role of cAMP for the resolution of inflammation // Pharmacol. Res. 2020. V. 159. art. 105030. doi: 10.1016/j.phrs.2020.105030.

21. *Strickland J.D., Copple B.L.* Chapter Six – Modulation of macrophage phenotype to treat liver fibrosis—Current approaches and future possibilities // Advances in Pharmacology. Vol. 91: Advances in immunopharmacology. Copple B.L., Rockwell C.E. (Eds.). Acad. Press, 2021. P. 213–228. doi: 10.1016/bs.apha.2021.03.001.

22. *Parfenov A., Belyaev G., Vyshtakalyuk A., Gumarova L., Khasanshina L., Semenov V., Zobov V.* The influence of Xymedon conjugate with L-ascorbic acid on initial development of fibrosis in the rat liver after toxic exposure of CCl_4 // Eur. J. Clin. Invest. 2021. V. 51, No S1. P. 78.

23. *Chen D., Chen J., Chen Y., Chen F., Wang X., Huang Y.* Interleukin-10 regulates starvation-induced autophagy through the STAT3-mTOR-p70s6k axis in hepatic stellate cells // Exp. Biol. Med. 2022. V. 247, No 10. P. 832–841. doi: 10.1177/15353702221080435.

24. *Xu Y., Liang P., Bian M., Chen W., Wang X., Lin J., Shang M., Qu H., Wu Z., Huang Y., Yu X.* Interleukin-13 is involved in the formation of liver fibrosis in *Clonorchis sinensis*-infected mice // Parasitol. Res. 2016. V. 115, No 7. P. 2653–2660. doi: 10.1007/s00436-016-5012-7.

25. *Elnagdy M., Barve S., McClain C., Gobejishvili L.* cAMP signaling in pathobiology of alcohol associated liver disease // Biomolecules. 2020. V. 10, No 10. art. 1433. doi: 10.3390/biom10101433.

26. *Семенов В.Э.* Средство гепатопротекторного действия. Патент РФ No. 2590952, 2016.

27. *Rockey D.C., Du Q., Shi Z.* Smooth muscle α-actin deficiency leads to decreased liver fibrosis via impaired cytoskeletal signaling in hepatic stellate cells // Am. J. Pathol. 2019. V. 189, No 11. P. 2209–2220. doi: 10.1016/j.ajpath.2019.07.019.

Поступила в редакцию 29.06.2022
Принята к публикации 07.10.2022

Беляев Григорий Павлович – аспирант, младший научный сотрудник лаборатории нейрофизиологии

Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанский научный центр РАН

ул. Академика Арбузова, дом 8, г. Казань, 420088, Россия

E-mail: *gregoir4@gmail.com*

Выштакалюк Александра Борисовна – доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории химико-биологических исследований

Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанский научный центр РАН

ул. Академика Арбузова, дом 8, г. Казань, 420088, Россия

E-mail: *alex.vysh@mail.ru*

Парфенов Андрей Анатольевич – аспирант, младший научный сотрудник лаборатории химико-биологических исследований

Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанский научный центр РАН
ул. Академика Арбузова, дом 8, г. Казань, 420088, Россия
E-mail: *aimt66@gmail.com*

Галяметдинова Ирина Владимировна – научный сотрудник лаборатории химии нуклеотидных оснований

Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанский научный центр РАН
ул. Академика Арбузова, дом 8, г. Казань, 420088, Россия
E-mail: *iragal2009@yahoo.com*

Семенов Вячеслав Энгельсович – доктор химических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией химии нуклеотидных оснований

Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанский научный центр РАН
ул. Академика Арбузова, дом 8, г. Казань, 420088, Россия
E-mail: *sve@iopc.ru*

Зобов Владимир Васильевич – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией химико-биологических исследований

Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанский научный центр РАН
ул. Академика Арбузова, дом 8, г. Казань, 420088, Россия
E-mail: *vz30608@mail.ru*

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2023, vol. 165, no. 2, pp. 175–189

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.175-189

Antifibrotic Effect of Pyrimidine Derivatives of Xymedon and Its Conjugate with *L*-Ascorbic Acid

G.P. Belyaev[*], *A.B. Vyshtakalyuk*[**], *A.A. Parfenov*[***], *I.V. Galyametdinova*[****], *V.E. Semenov*[*****], *V.V. Zobov*[******]

Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Kazan, 420088 Russia

E-mail: [*]*gregoir4@gmail.com*, [**]*alex.vysh@mail.ru*, [***]*aimt66@gmail.com*, [****]*iragal2009@yahoo.com*, [*****]*sve@iopc.ru*, [******]*vz30608@mail.ru*
Received June 29, 2022; Accepted October 7, 2022

Abstract

This article considers the antifibrotic properties of pyrimidine derivatives of the drug Xymedon (compound (I)) and its conjugate with *L*-ascorbic acid (compound (II)) in an experimental rat model of fibrosis with a preventive administration scheme.

Experimental fibrosis was induced in Wistar rats given carbon tetrachloride (5% oil solution, 0.2 mL/kg orally twice a week) in combination with ethanol (5% solution in drinking water, free access) against compounds (I) and (II), both administered preventively. Fibrotic changes in the liver were detected by Van Gieson's staining. The effects of the studied compounds on the liver and clinical condition of rats were evaluated through serum biochemical parameters.

The treatment of rats with compounds (I) and (II) reduced the number of fibrotic areas threefold, ameliorated hepatic steatosis and necrosis as compared to the control group, and improved blood biochemical parameters (ALT, AST, and LDH). Interestingly, compound (II) had a more pronounced effect.

Therefore, pyrimidine derivatives of Xymedon and its conjugate with *L*-ascorbic acid showed an antifibrotic effect in our experimental rat model of fibrosis.

Keywords: fibrosis, antifibrotic effect, collagen, Xymedon, carbon tetrachloride

Acknowledgements. This study was performed under the state assignment to the FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences.

Figure Captions

Fig. 1. Structural formulas of the studied compounds. 1 – Xymedon (compound (I)), 2 – conjugate of Xymedon with *L*-ascorbic acid (compound (II)).

Fig. 2. Effect of compounds (I) and (II) on the rat liver mass ratio. 1 – intact control group, 2 – control group, 3 – compound (I) group, 4 – compound (II) group. * – differences with the intact group are reliable, $p < 0.05$; # – differences with the control group are reliable, $p < 0.05$.

Fig. 3. Effect of compounds (I) and (II) on the cell damage markers. A – aspartate aminotransferase (AST) activity, B – alanine aminotransferase (ALT) activity, C – lactate dehydrogenase (LDH) activity. 1 – intact control group, 2 – control group, 3 – compound (I) group, 4 – compound (II) group. * – differences with the intact control group are reliable, $p < 0.05$; # – differences with the control group are reliable, $p < 0.05$.

Fig. 4. Effect of compounds (I) and (II) on the liver tissue morphology, hematoxylin and eosin staining, magnification 100x and 200x.

Fig. 5. Effect of compounds (I) and (II) on the development of collagen fibers (red) in the liver tissue, Van Gieson's staining, magnification 100x and 200x.

Fig. 6. Effect of compounds (I) and (II) on the development of collagen fibers (red) in the liver tissue, Van Gieson's staining without Weigert's hematoxylin to contrast collagen staining, magnification 40x.

Fig. 7. Effect of compounds (I) and (II) on the percentage of collagen area in the rat liver tissue. 1 – intact control group, 2 – control group, 3 – compound (I) group, 4 – compound (II) group. * – differences with the intact control group are reliable, $p < 0.0085$; # – differences with the control group are reliable, $p < 0.0085$.

References

1. Faccioli L.A.P., Dias M.L., Paranhos B.A., dos Santos Goldenberg R.C. Liver cirrhosis: An overview of experimental models in rodents. *Life Sci.*, 2022, vol. 301, art. 120615. doi: 10.1016/j.lfs.2022.120615.
2. Mokdad A.A., Lopez A.D., Shahraz S., Lozano R., Mokdad A.H., Stanaway J., Murray C.J., Naghavi M. Liver cirrhosis mortality in 187 countries between 1980 and 2010: A systematic analysis. *BMC Med.*, 2014, vol. 12, no. 1, art. 145. doi: 10.1186/s12916-014-0145-y.
3. Li M.-H., Feng X., Deng Ba D.J., Chen C., Ruan L.-Y., Xing Y.-X., Chen L.-Y., Zhong G.-J., Wang J.-S. Hepatoprotection of *Herpetospermum caudigerum* Wall. against CCl_4-induced liver fibrosis on rats. *J. Ethnopharmacol.*, 2019, vol. 229, pp. 1–14. doi: 10.1016/j.jep.2018.09.033.
4. Ben Hsouna A., Hfaiedh M., Slima S.B., Romdhane W.B., Akacha B.B., Bouterra M.T., Dhifi W., Mnif W., Brini F., Ben Saad R., Ben Salah R. Antioxidant and hepatoprotective effects of novel

heteropolysaccharide isolated from *Lobularia maritima* on CCl_4-induced liver injury in rats. *Food Sci. Nutr.*, 2022, vol. 10, no. 7. pp. 2271–2284. doi: 10.1002/fsn3.2836.

5. Brol M.J., Rösch F., Schierwagen R., Magdaleno F., Uschner F.E., Manekeller S., Queck A., Schwarzkopf K., Odenthal M., Drebber U., Thiele M., Lingohr P., Plamper A., Kristiansen G., Lotersztajn S., Krag A., Klein S., Rheinwalt K.P., Trebicka J. Combination of CCl_4 with alcoholic and metabolic injuries mimics human liver fibrosis. *Am. J. Physiol.: Gastrointest. Liver Physiol.*, 2019, vol. 317, no. 2, pp. G182–G194. doi: 10.1152/ajpgi.00361.2018.
6. Vyshtakalyuk A.B., Nazarov N.G., Semenov V.E., Galyametdinova I.V., Diabankana R.G.K., Porfiriev A.G., Zobov V.V. Recovery of liver damaged by CCl_4 under treatment by conjugate of drug Xymedon with L-ascorbic acid. *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 2018, vol. 9, no. 10, pp. 4117–4126. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.9(10).4117-26.
7. Reznik V.S., Pashkurov N.G. Reactions of pyrimidinols and pyrimidinethiols with 2-chloroethanol and with 2-chloro-1-propanol. *Bull. Acad. Sci. USSR, Div. Chem. Sci*., 1966, vol. 15, no. 9, pp. 1554–1557. doi: 10.1007/BF00848915.
8. Vyshtakalyuk A.B., Semenov V.E., Zobov V.V., Galyametdinova I.V., Gumarova L.F., Parfenov A.A., Nazarov N.G., Lenina O.A., Kondrashova S.A., Latypov Sh.K., Cherepnev G.V., Shashyn M.S., Reznic V.S. Synthesis and primary evaluation of the hepatoprotective properties of novel pyrimidine derivatives. *Russ. J. Bioorg. Chem*., 2017, vol. 43, no. 5, pp. 604–611. doi: 10.1134/S106816201704015X.
9. Mironov A.N. (Ed.) *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanii lekarstvennykh sredstv* [A Guide to Preclinical Drug Testing]. Pt. 2. Moscow, Grif i K, 2012. 536 p. (In Russian)
10. Commission Recommendation of 18 June 2007 on guidelines for the accommodation and care of animals used for experimental and other scientific purposes (2007/526/EC). *OJEU*, 2007, vol. L197, pp. 1–89.
11. Arjmand A., Tsipouras M.G., Tzallas A.T., Forlano R., Manousou P., Giannakeas N. Quantification of liver fibrosis–A comparative study. *Appl. Sci.*, 2020, vol. 10, no. 2, art. 447. doi: 10.3390/app10020447.
12. Abd-Elhakim Y.M., Ghoneim M.H., Khairy M.H., Eissa S.A. Single or combined protective and therapeutic impact of taurine and hesperidin on carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in rat. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2020, vol. 27, no. 12, pp. 13180–13193. doi: 10.1007/s11356-020-07895-1.
13. Zheng W.V., Li Y., Cheng X., Xu Y., Zhou T., Li D., Xiong Y., Wang S., Chen Z. Uridine alleviates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis by regulating the activity of liver-related cells. *J. Cell. Mol. Med.*, 2021, vol. 26, no. 3, pp. 840–854. doi: 10.1111/jcmm.17131.
14. Moteki H., Kimura M., Sunaga K., Tsuda T., Ogihara M. Signal transduction mechanism for potentiation by α_1- and β_2-adrenoceptor agonists of L-ascorbic acid-induced DNA synthesis and proliferation in primary cultures of adult rat hepatocytes. *Eur. J. Pharmacol.*, 2013; vol. 700, nos. 1–3, pp. 2–12. doi: 10.1016/j.ejphar.2012.12.010.
15. Kimura M., Moteki H., Uchida, M., Natsume H., Ogihara M. L-ascorbic acid- and L-ascorbic acid 2-glucoside accelerate *in vivo* liver regeneration and lower serum alanine aminotransaminase activity in 70% partially hepatectomized rats. *Biol. Pharm. Bull.*, 2014, vol. 37, no. 4, pp. 597–603. doi: 10.1248/bpb.b13-00839.
16. Luo Q., Jiang M., Kou L., Zhang L., Li G., Yao Q., Shang L., Chen Y. Ascorbate-conjugated nanoparticles for promoted oral delivery of therapeutic drugs via sodium-dependent vitamin C transporter 1 (SVCT1). *Artif. Cells, Nanomed., Biotechnol.*, 2017, vol. 46, no. 1, pp. 198–208. doi: 10.1080/21691401.2017.1417864.
17. Slabnov Y.D., Cherepnev G.V., Karimova F.G., Garaev R.S. Effect of pyrimidine derivatives on adenylate cyclase system of immunocompetent cell regulation *in vitro*. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 1998, vol. 125, no. 6, pp. 588–590. doi: 10.1007/bf02445248.
18. Ladilov Y., Appukuttan A. Role of soluble adenylyl cyclase in cell death and growth. *BBA, Biochim. Biophys. Acta., Mol. Basis Dis.*, 2014, vol. 1842, no. 12, pp. 2646–2655. doi: 10.1016/j.bbadis.2014.06.034.
19. Borland G., Smith B.O., Yarwood S.J. EPAC proteins transduce diverse cellular actions of cAMP. *Br. J. Pharmacol.*, 2009, vol. 158, no. 1, pp. 70–86. doi: 10.1111/j.1476-5381.2008.00087.x.

20. Tavares L.P., Negreiros-Lima G.L., Lima K.M., E Silva P.M.R., Pinho V., Teixeira M.M., Sousa L.P. Blame the signaling: Role of cAMP for the resolution of inflammation. *Pharmacol. Res.*, 2020, vol. 159, art. 105030. doi: 10.1016/j.phrs.2020.105030.

21. Strickland J.D., Copple B.L. Chapter Six – Modulation of macrophage phenotype to treat liver fibrosis – Current approaches and future possibilities. In: *Advances in Pharmacology*. Vol. 91: Advances in immunopharmacology. Copple B.L., Rockwell C.E. (Eds.). Acad. Press, 2021, pp. 213 -- 228. doi: 10.1016/bs.apha.2021.03.001.

22. Parfenov A., Belyaev G., Vyshtakalyuk A., Gumarova L., Khasanshina L., Semenov V., Zobov V. The influence of Xymedon conjugate with L-ascorbic acid on initial development of fibrosis in the rat liver after toxic exposure of CCl_4. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2021, vol. 51, no. S1, p. 78.

23. Chen D., Chen J., Chen Y., Chen F., Wang X., Huang Y. Interleukin-10 regulates starvation-induced autophagy through the STAT3-mTOR-p70s6k axis in hepatic stellate cells. *Exp. Biol. Med.*, 2022, vol. 247, no. 10, pp. 832–841. doi: 10.1177/15353702221080435.

24. Xu Y., Liang P., Bian M., Chen W., Wang X., Lin J., Shang M., Qu H., Wu Z., Huang Y., Yu X. Interleukin-13 is involved in the formation of liver fibrosis in *Clonorchis sinensis*-infected mice. *Parasitol. Res.*, 2016, vol. 115, no. 7, pp. 2653–2660. doi: 10.1007/s00436-016-5012-7.

25. Elnagdy M., Barve S., McClain C., Gobejishvili L. cAMP signaling in pathobiology of alcohol associated liver disease. *Biomolecules*, 2020, vol. 10, no. 10, art. 1433. doi: 10.3390/biom10101433.

26. Semenov V.E. Hepatoprotective agent. Patent RF no. 2590952, 2016. (In Russian)

27. Rockey D.C., Du Q., Shi Z. Smooth muscle α-actin deficiency leads to decreased liver fibrosis via impaired cytoskeletal signaling in hepatic stellate cells. *Am. J. Pathol.*, 2019, vol. 189, no. 11, pp. 2209–2220. doi: 10.1016/j.ajpath.2019.07.019.

***Для цитирования*:** *Беляев Г.П., Выштакалюк А.Б., Парфенов А.А., Галяметдинова И.В., Семенов В.Э., Зобов В.В.* Антифиброзный эффект производных пиримидина ксимедона и его конъюгата с *L*-аскорбиновой кислотой // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2023. Т. 165, кн. 2. С. 175–189. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.175-189.

***For citation*:** Belyaev G.P., Vyshtakalyuk A.B., Parfenov A.A., Galyametdinova I.V., Semenov V.E., Zobov V.V. Antifibrotic effect of pyrimidine derivatives of Xymedon and its conjugate with *L*-ascorbic acid. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2023, vol. 165, no. 2, pp. 175–189. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.175-189. (In Russian)

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ КАЗАНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА.
СЕРИЯ ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

2023, Т. 165, кн. 2
С. 190–203

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 57.044

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.190-203

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ АКРОЛЕИНА И КРОТОНОВОГО АЛЬДЕГИДА В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ ПРИ ПЕРЕХОДЕ С ОБЫЧНЫХ СИГАРЕТ НА ЭЛЕКТРОННУЮ СИСТЕМУ НАГРЕВАНИЯ ТАБАКА

Л.В. Лопухов[1], *А.В. Лайков*[1], *И.И. Салафутдинов*[1], *В.А. Романова*[1], *В.Л. Лопухов*[1], *Т.В. Григорьева*[1], *Л.Р. Гайсина*[1], *Ю.В. Ослопова*[1], *Д.Д. Сафина*[1], *И.Х. Валеева*[2], *С.Р. Абдулхаков*[1,2], *Р.И. Файзуллин*[1], *А.П. Киясов*[1]

[1]*Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия*
[2]*Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, 420012, Россия*

Аннотация

Проанализированы изменения воздействия на организм человека акролеина и кротонового альдегида при переходе от употребления обычных сигарет к использованию электронной системы нагревания табака в пятидневном рандомизированном клиническом исследовании. Показано, что при переходе на электронную систему нагревания уже через сутки воздействие на организм человека акролеина и кротонового альдегида существенно уменьшается и становится сопоставимым с таковым при полном отказе от курения. Динамика поступления и метаболизма никотина при переходе на электронную систему нагревания табака в отличие от отказа от курения оставалась стабильной на протяжении всего исследования и приближалась к группе курящих обычные сигареты.

Данное исследование, впервые проведенное для популяции Российской Федерации, показывает, что система электронного нагревания табака способна обеспечить снижение воздействия акролеина и кротонового альдегида на организм потребителя табака.

Ключевые слова: электронная система нагревания табака, акролеин, кротоновый альдегид, меркаптуровые кислоты

Введение

Воздействие курения на организм определяется широким спектром факторов. Одним из таких факторов является поступление в организм летучих органических соединений (ЛОС) табачного дыма, многие из которых являются токсичными, канцерогенными и раздражающими веществами. Важными ЛОС табачного дыма являются акролеин и кротоновый альдегид. Оба этих вещества являются непредельными альдегидами и, соответственно, обладают высокой реакционной способностью, которая и определяет их биологическое действие. Акролеин и кротоновый альдегид являются токсичными и обладают сильным раздражающим действием [1–3].

Также имеются свидетельства о том, что акролеин и кротоновый альдегид табачного дыма играют определенную роль в его канцерогенном действии [3]. Акролеин токсичен для ресничек легких и, таким образом, способствует уменьшению защиты легких от других опасных веществ табачного дыма [4].

Показано, что образование акролеина и кротонового альдегида в процессе курения табака связано с процессами горения [5, 6]. Очевидно, наиболее эффективным способом снижения их воздействия является полный отказ от курения. Но такой способ возможен не всегда и не для всех потребителей табака.

В связи с этим представляют интерес альтернативные способы доставки никотина, которые бы снижали токсичную нагрузку на организм курильщика. Учитывая важность для потребителя сохранения органолептических и тактильных ощущений, связанных с курением [7], были разработаны электронные системы нагревания табака (ЭСНТ), исключающие горение или тление табака, но обеспечивающие испарение никотина. Этот подход назван производителем «нагревание вместо горения», при котором уровень содержания никотина в аэрозоле и получаемые ощущения сопоставимы с обычной сигаретой, но содержание вредных и потенциально вредных веществ, образование которых связано с процессами горения, существенно ниже, чем в дыме обычной сигареты [8, 9]. Было показано, что количество акролеина и кротонового альдегида в аэрозоле, образуемом системой ЭСНТ, ниже, чем в дыме обычных сигарет [10].

Учитывая, что акролеин и кротоновый альдегид поступают в организм человека не только с сигаретным дымом, но и из других источников (например, из пищи или загрязненного воздуха), а также образуются в организме за счет перекисного окисления липидов [11, 12], содержание и, соответственно, воздействие этих веществ может отличаться в различных популяциях людей, в том числе в зависимости от этнической принадлежности [3].

Целью нашего исследования была оценка изменений воздействия акролеина и кротонового альдегида на организм человека при переходе от употребления обычных сигарет к употреблению ЭСНТ для представителей популяции Российской Федерации и определение динамики этих изменений.

1. Экспериментальная часть

1.1. Метод определения концентрации биомаркеров воздействия акролеина, кротонового альдегида и никотина. Для оценки воздействия акролеина, кротонового альдегида и никотина на организм испытуемых проводилось определение в их моче соответствующих биомаркеров. В качестве биомаркера воздействия акролеина использовалась гидроксипропил-меркаптуровая кислота (ГПМК) [10], в качестве биомаркера воздействия кротонового альдегида – гидроксиметилпропил-меркаптуровая кислота (ГМПМК) [10] и в качестве биомаркера воздействия никотина использовался *транс*-гидроксикотинин (ТГК) [13]. Определение концентрации этих биомаркеров в моче испытуемых проводилось в соответствии с ранее описанной методикой [14] на системе для жидкостной хроматографии – масс-спектрометрии, состоящей из жидкостного хроматографа Agilent 1290 Infinity (Agilent, США) и масс-спектрометра Sciex QTrap 6500 (Sciex, США). Данная система работала под управлением программного обеспечения Analyst 1.6.2 (Sciex, США). Обработка хроматограмм для получения

количественных концентраций определяемых веществ проводилась с помощью программного обеспечения MultiQuant 3.0.2 (Sciex, США).

Использовалась хроматографическая колонка SUPELCO Discovery C18 HPLC Column (размер частиц – 5 мкм, длина × внутренний диаметр – 5 см × 2.1 мм) (Sigma-Aldrich, США). В качестве стандартов и изотопно-меченых внутренних стандартов использовались ГПМК, ГПМК-d3, ГМПМК, ГМПМК-d3, ТГК производства Toronto Research Chemicals (Канада) и раствор ТГК-d3 (100 мкг/мл в метаноле) производства Sigma-Aldrich (США).

Для жидкостной хроматографии – масс-спектрометрии использовались ацетонитрил категории «для масс-спектрометрии» производства Sigma-Aldrich (США) и высокоочищенная вода, полученная на системе Milli Q Advantage A10 (Millipore, США). Концентрации ГПМК, ГМПМК и ТГК нормировались на концентрацию креатинина в образце. Концентрации креатинина в образцах мочи испытуемых были определены на анализаторе Cobas Integra 400 (Roche Diagnostics, Швейцария) с помощью набора Creatinine Jaffe Gen.2 kit (Roche Diagnostics, Швейцария).

1.2. Протокол исследования. Протокол научного исследования «Исследование электрической системы нагревания табака с целью определения уровня изменения риска заболеваний, вызываемых курением» (версия протокола 1.0 от 25.08.2016) был разработан сотрудниками Института фундаментальной медицины и биологии КФУ, утвержден Локальным этическим комитетом КФУ (протокол заседания ЛЭК КФУ № 4 от 09.09.2016). Все добровольцы получили полную информацию о проводимом исследовании и подписали Форму информированного согласия (ФИС), версия 1.0 от 05.09.2016.

В данном сравнительном рандомизированном исследовании участвовали добровольцы в трех параллельных группах – потребители ЭСНТ, потребители обычных сигарет (ОС) и группа отказавшихся от курения (ОК). Основным объектом исследования были первичные и вторичные биомаркеры воздействия, определяемые в моче и крови добровольцев трех исследуемых групп. Персонал, проводивший исследование, следил за правильностью использования продукта и контролировал, чтобы участвующие в исследовании совершеннолетние курильщики придерживались правил использования продукта в условиях стационара. В процессе исследования допускалось использование ЭСНТ и ОС без ограничений, но одновременное использование двух продуктов – ОС и ЭСНТ – не разрешалось. Воздействие никотина, биомаркеры воздействия, а также проявление субъективных эффектов (тяга, синдромы отмены и мотивация к курению) оценивались в течение 5 дней во время пребывания испытуемых в стационаре.

1.3. Общая характеристика добровольцев. В исследование было включено 60 добровольцев (48 мужчин и 12 женщин) в возрасте от 21 до 69 лет (средний возраст – 32.4 года). Добровольцы являлись жителями города Казани Российской Федерации.

Добровольцы были рандомизированы на три исследуемые группы (ЭСНТ: обычные сигареты, ОС: отказ от курения, ОК) в соотношении 2:1:1 с учетом одинаковой представленности в каждой группе добровольцев мужского и женского пола, выкуривающих 10–19 и более 19 обычных сигарет в день (данные о количестве выкуриваемых обычных сигарет были получены в процессе скрининга по результатам опроса за предыдущие четыре недели курения).

Табл. 1

Общая характеристика добровольцев, принявших участие в основной части исследования

Параметр	ЭСНТ	ОС	ОК	*p*
Число добровольцев	30	15	15	
Мужчины (абс./%) Женщины (абс./%)	(26/85.9%) (5/16.1%)	(12/80%) (3/20%)	(12/80%) (3/20%)	0.988
Средний возраст	30.23 ± 9.37	33.67 ± 12.09	31.93 ± 8.94	0.542[1]
Средняя масса тела	74.03 ± 16.39	75.23 ± 16.66	71.02 ± 8.63	0.724[1]

Обозначения: ЭСНТ – электрическая система нагревания табака, ОС – обычные сигареты, ОК – отказ от курения.

[1]Однофакторный дисперсионный анализ был применен для сравнения трех групп и показал: а) $p = 0.542$ показывает отсутствие достоверного различия при сравнении трех групп по признаку «Возраст»; б) $p = 0.724$ показывает отсутствие достоверного различия при сравнении трех групп по признаку «Средняя масса тела»

Характеристика исследуемых групп добровольцев представлена в табл. 1.

1.4. Исследуемый продукт и номера партий. Продукт ЭСНТ был предоставлен компанией «Филип Моррис Интернэшнл» и включал следующие компоненты: нагреваемая табачная палочка (НТП или стик) Parliament Blue (без ментола), держатель iQOS модели A1402, зарядное устройство iQOS модели A1502, инструмент для чистки, блок электропитания и USB-кабель.

1.5. Продолжительность периода воздействия. Период воздействия продолжался в течение пяти дней после рандомизации, когда участник использовал предписанный продукт (ЭСНТ или ОС) или воздерживался от курения (день 1, 07:00 – день 5, 23:00).

1.6. Продукт сравнения. Продуктом сравнения для ЭСНТ в ходе рандомизированного исследования являлись собственные коммерчески доступные ОС участника (одного бренда, без ментола). В качестве контрольной группы было принято воздержание от курения.

1.7. Методология исследования. Рандомизированное контролируемое открытое одноцентровое исследование с тремя параллельными группами, целью которого было изучение уровня биомаркеров воздействия у курильщиков, использующих ЭСНТ, по сравнению с курильщиками, продолжающими курить ОС, или группой ОК. Исследование допускало курение/использование неограниченного количества сигарет/стиков. В течение периода пребывания в стационаре курение было разрешено с 7:00 до 23:00.

Скрининговый визит (день –30 – день –2). В течение четырех недель до поступления в стационар исследовательского центра проводился скрининговый визит. Во время скринингового визита с добровольцем проводилась беседа, в ходе которой с ним были обсуждены основные аспекты протокола исследования, вопросы безопасности, права и обязанности участника исследования, обработка и доступ к медицинской информации, содержащей персональные данные добровольца, даты предполагаемых визитов в клинический центр, продолжительность и процедуры исследования. Добровольцы были ознакомлены с Информационным листком добровольца, с Формой информированного согласия.

После подписания Формы информированного согласия (версия 1.0 от 05.09.2016) в двух экземплярах, один из которых выдавался добровольцу на руки, а второй оставался в клиническом центре, добровольцу присваивался скрининговый номер.

После подписания Формы информированного согласия и присвоения скринингового номера проводили следующие процедуры скрининга (курение или использование ЭСНТ не разрешалось до проведения спирометрии):

1) оценка жалоб и анамнеза добровольца, оценка сопутствующих заболеваний и сопутствующей терапии;
2) объективный осмотр, оценка антропометрических данных, оценка жизненно важных показателей;
3) добровольцу была предоставлена консультация о рисках курения в соответствии с рекомендациями ВОЗ, была пояснена необходимость прекращения курения. Доброволец был проинформирован о рисках курения, в том числе о том, что «модифицированные табачные продукты» не продемонстрировали меньшего вреда. В ходе беседы о рисках курения добровольцы имели достаточное время и возможность задать интересующие их вопросы и получить на них удовлетворяющие их ответы;
4) идентификация марки ОС, выкуриваемых добровольцем, с указанием названия бренда, содержания смолы (мг/сигарета), никотина (мг/сигарета) и CO (мг/сигарета). Делали фото пачки ОС, предоставленных добровольцем, спереди и сбоку пачки ОС (с фиксацией на фотографии информации о смолах, никотине и CO). Копии фотографий распечатывали и вкладывали в первичную документацию;
5) оценка анамнеза курения добровольца, в том числе стаж курения, количество выкуриваемых обычных сигарет в течение суток на протяжении последних четырех недель, готовность воздержаться от курения в течение пяти дней;
6) доброволец самостоятельно заполнял тест Фагерстрема для оценки никотиновой зависимости;
7) ЭКГ-исследование в двенадцати отведениях (после 10 мин отдыха лежа на спине);
8) спирометрия (до и не менее, чем через 15 мин после применения бронхолитика) – как минимум через 1 ч после курения, в соответствии с рекомендациями Американской совместной целевой группой торакального общества и Европейского респираторного общества по стандартизации спирометрии 2005 г.;
9) рентгенография органов грудной клетки в прямой проекции;
10) забор образцов крови (натощак, не менее чем через 8 ч после последнего приема пищи) на общий анализ крови, биохимический анализ крови, ВИЧ, гепатиты B и C, образцов мочи для общего анализа мочи, теста мочи на наркотические средства, котинин, беременность (для добровольцев женского пола);
11) добровольцу была проведена демонстрация продукта ЭСНТ, получено согласие на использование продукта в течение пяти дней. Участницы женского пола проходили тестирование продуктом ЭСНТ только в случае отрицательного результата анализа мочи на беременность.

Вводный период (со дня –1 (поступление в стационар) до 06:29 дня 0). Все участники исследования продолжали курить ОС согласно своим предпочтениям.

Базовый период (день 0, 06:30 – день 1, 06:29). Все участники исследования продолжали курить ОС согласно своим предпочтениям, осуществляли учет количества выкуренных ОС, проводили забор биообразцов мочи и крови, на основе чего были зарегистрированы исходные данные.

В день 0 была произведена рандомизация субъектов с делением всех участников на три группы в соотношении 2:1:1:

1) группа ЭСНТ (30 участников, неограниченное использование продукта ЭСНТ);
2) группа ОС (15 участников, неограниченное использование обычных сигарет (ОС) согласно личным предпочтениям);
3) группа ОК (15 участников, которые воздерживались от курения, «отказ от курения»).

Была выполнена стратификация участников по половому признаку и среднесуточному потреблению ОС (на основе данных по среднесуточному потреблению за четыре предыдущих недели, полученных во время скринингового визита): участники, которые выкуривают от 10 до 19 ОС, и участники, которые выкуривают > 19 ОС в сутки. К каждой исследуемой группе применялась квота, предусматривающая определенное количество участников по половому признаку и количеству выкуриваемых ОС. Участники были проинформированы персоналом о своей принадлежности к той или иной исследуемой группе в день 1 до 07:00.

Период воздействия (день 1, 06:30 – день 5, 23:00). Пять дней неограниченного использования соответствующего продукта в группах ЭСНТ и ОС. Курение ОС или использование ЭСНТ осуществлялось в изолированных курительных кабинах. Запрещалось использовать любые табачные и никотинсодержащие продукты, кроме предписанных.

С целью учета количества выкуренных ОС и использованных стиков ЭСНТ сигареты/стики выдавались персоналом учреждения, проводившим исследование; учитывалось количество ОС/стиков, выданных в течение суток каждому добровольцу. Осуществляли подсчет как выданных ОС/стиков, так и выкуренных сигарет/использованных стиков ЭСНТ.

Участников группы ОК просили воздержаться от потребления каких-либо никотинсодержащих и табачных продуктов. Кроме того, субъектам данной группы не предоставлялось каких-либо лекарственных препаратов для облегчения ОК. В период ОК участникам оказывалась психологическая поддержка.

1.8. Сбор мочи. Для определения концентрации меркаптуровых кислот и ТГК использовалась суточная моча испытуемых. Образцы суточной мочи собирались, аликвотировались и хранились при –80°С до их использования.

1.9. Методы статистического анализа. До проведения статистической обработки полученных результатов с целью выбора оптимального метода каждая из сравниваемых совокупностей (группа ОС, группа ЭСНТ, группа ОК) оценивалась на предмет соответствия распределения каждого изучаемого признака закону нормального распределения, для чего был применен тест Колмогорова – Смирнова. Значения показателей всех совокупностей на всех исследу-

емых сроках для ГПМК, ГМПМК, и ТГК соответствовали закону нормального распределения.

Для оценки статистической значимости различий показателей внутри каждой группы в разные дни исследования по сравнению с днем 0 использовался *t*-критерий Стьюдента с поправкой на множественное сравнение методом Бонферрони. Уровень $p < 0.001$ считали как статистически достоверное отличие.

2. Результаты и их обсуждение

Ввиду высокой реакционной способности акролеина и кротонового альдегида оценить их поступление в организм, определяя концентрацию самих этих веществ в каких-либо биологических жидкостях, практически невозможно. Для оценки поступления в организм данных веществ можно определять концентрацию в биологических жидкостях специфичных продуктов их метаболизма. В частности, биомаркерами воздействия акролеина и кротонового альдегида являются ГПМК и ГМПМК соответственно. В организме ГПМК и ГМПМК образуются за счет первичной конъюгации акролеина и кротонового альдегида с клеточным глутатионом, за которой следует метаболизм конъюгатов глутатиона. Образующиеся ГПМК и ГМПМК выводятся с мочой [3]. Таким образом, определение в моче концентрации меркаптуровых кислот – метаболитов акролеина и кротонового альдегида – может позволить отследить поступление этих ЛОС с табачным дымом.

Одновременно с определением меркаптуровых кислот в моче испытуемых определялся ТГК – метаболит никотина, концентрация которого является показателем поступления в организм никотина. Поскольку концентрация ТГК в моче курильщиков выше, чем концентрация никотина и других его метаболитов, он является удобным маркером поступления никотина в организм [13].

Чтобы оценить динамику изменений, мы проанализировали изменение концентраций ГПМК, ГМПМК и ТГК, нормированных на концентрацию креатинина, для всех дней эксперимента. На рис. 1 представлены графики этих изменений.

Из рис. 1 видно, что концентрации ГПМК и ГМПМК существенно снижаются уже в первый день отказа от курения или перехода на ЭСНТ и далее их изменения менее значительны. Это можно объяснить тем, что реакция акролеина и кротонового альдегида с глутатионом происходит практически мгновенно и последующий вывод из организма образующихся ГПМК и ГМПМК происходит относительно быстро.

У группы ОС в точках «день 0» и «день 5» нет статистически значимых отличий между концентрациями ГПМК ($p = 0.635$), ГМПМК ($p = 0.072$) и ТГК ($p = 0.882$).

У группы ЭСНТ в точках «день 0» и «день 5» наблюдается статистически значимое различие концентраций ГПМК ($p < 0.001$) и ГМПМК ($p < 0.001$), но не ТГК, концентрация которого в точке «день 5» осталась практически на том же уровне, как и в точке «день 0» ($p = 0.238$).

У группы ОК мы наблюдаем в точке «день 5» по сравнению с точкой «день 0» статистически значимое снижение концентрации ГПМК ($p < 0.001$), ГМПМК ($p < 0.001$), а также ТГК ($p < 0.001$).

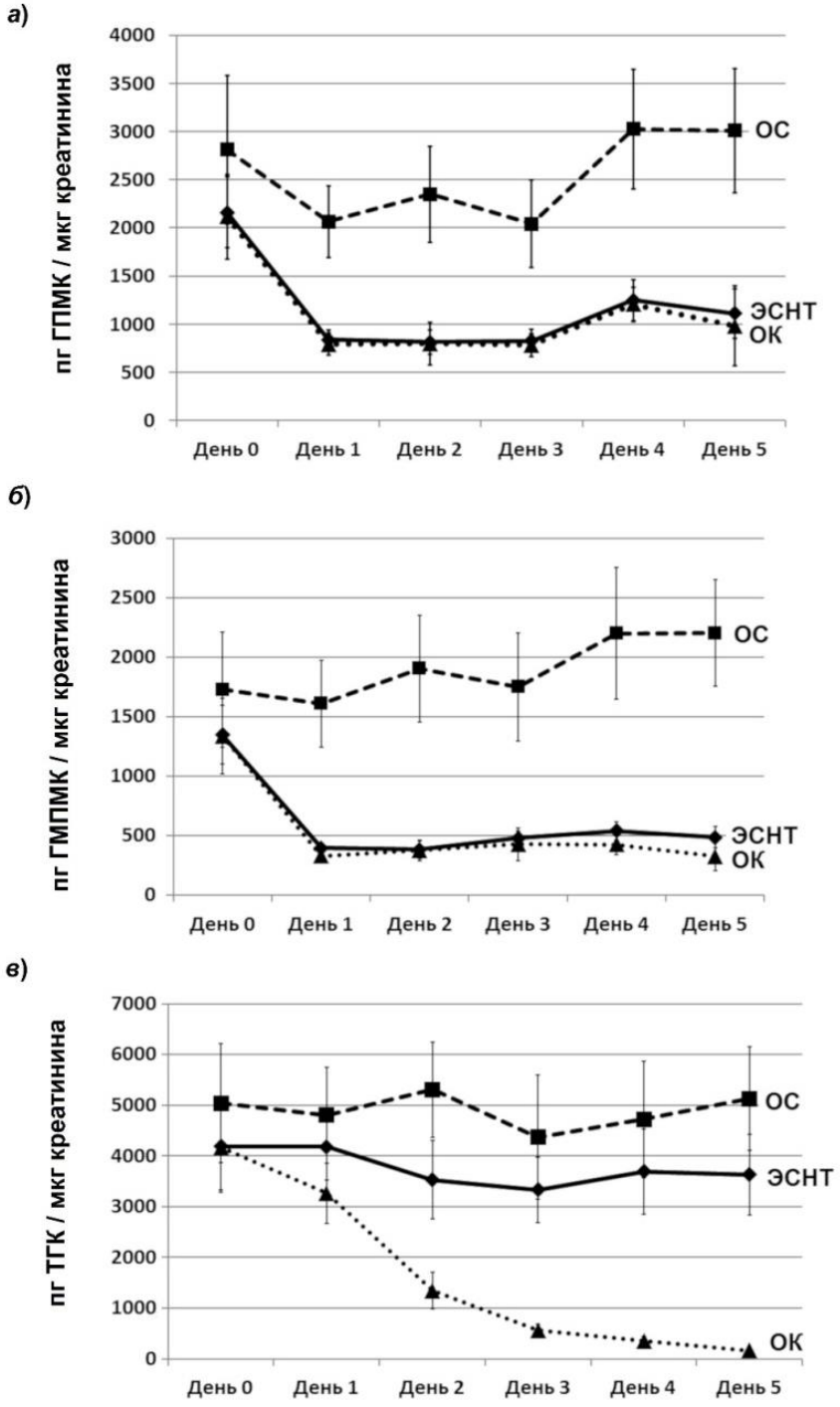

Рис. 1. Динамика изменений концентраций меркаптуровых кислот (ГПМК (*а*) и ГМПМК (*б*)) и *транс*-гидроксикотинина (*в*) в ходе эксперимента. Представлены средние значения концентраций меркаптуровых кислот и *транс*-гидроксикотинина, нормализованные на креатинин (пикограмм вещества на микрограмм креатинина), и доверительные интервалы при $P = 0.95$

По изменению концентрации обеих меркаптуровых кислот видно, что при использовании ЭСНТ поступление акролеина и кротонового альдегида в организм курильщика значительно ниже, чем при использовании обычных сигарет. При этом снижение поступления в организм курильщика акролеина и кротонового альдегида при переходе на ЭСНТ сравнимо со снижением их поступления при отказе от курения. В то же время поступление в организм курильщика никотина при переходе на ЭСНТ существенно не меняется.

Данное исследование по оценке ЭСНТ является первым на территории Российской Федерации. Исследование продемонстрировало снижение уровня биомаркеров воздействия выбранных ЛОС при переходе с ОС на использование ЭСНТ, сопоставимое с данными, полученными ранее на территории Польши [10]. Проведение исследования в условиях стационара позволяло оценить снижение воздействия вредных ЛОС, достижимое при идеальных ограниченных условиях. Несмотря на это, можно видеть остаточное содержание метаболитов исследуемых ЛОС даже в группе ОК при полной элиминации никотина и его метаболитов. ГПМК и ГМПМК присутствуют практически во всех образцах мочи человека на пятый день эксперимента. Учитывая, что ГПМК и ГМПМК могут образоваться в организме эндогенно, их количество в моче у курящих существенно выше, чем у некурящих, и оно существенно уменьшается при отказе от курения или переходе на ЭСНТ, что свидетельствует о снижении общей токсикологической нагрузки.

Заключение

Результаты исследования свидетельствуют о том, что переход от курения ОС к использованию ЭСНТ привел к значительному снижению воздействия двух выбранных ЛОС на организм человека. Кинетика и степень снижения уровней биомаркеров воздействия, наблюдаемые в группе ЭСНТ, были близки к уровням, наблюдаемым в группе ОК. Потребление никотина в группах ЭСНТ и ОС в конце пятидневного периода воздействия было одинаковым, поскольку пользователи начали привыкать к новому продукту и характер их затяжек изменялся, что позволило им достичь желаемого уровня никотина. Сочетание результатов анализа воздействия никотина и субъективных эффектов свидетельствовало о том, что использование ЭСНТ обеспечивает сопоставимую с курильщиками ОС удовлетворенность в отношении вкуса и ощущений.

Таким образом, для тех курильщиков, которые не намерены отказываться от курения, использование ЭСНТ вместо обычных сигарет может снизить негативные воздействия курения на здоровье, которые связаны с поступлением в организм курильщика акролеина и кротонового альдегида, в частности раздражение дыхательных путей и провоцирование онкологических заболеваний.

Благодарности. Работа выполнена с использованием оборудования Междисциплинарного центра коллективного пользования Казанского федерального университета.

Литература

1. *IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. Acrolein // IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. V. 63: Dry

cleaning, some chlorinated solvents and other industrial chemicals. Lyon: Int. Agency Res. Cancer, 1995. P. 337–372.

2. *IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. Crotonaldehyde // IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. V. 63: Dry cleaning, some chlorinated solvents and other industrial chemicals. Lyon: Int. Agency Res. Cancer, 1995. P. 373–391.
3. *Park S.L., Carmella S.G., Chen M., Patel Y., Stram D.O., Haiman C.A., Le Marchand L., Hecht S.S.* Mercapturic acids derived from the toxicants acrolein and crotonaldehyde in the urine of cigarette smokers from five ethnic groups with differing risks for lung cancer // PLoS ONE. 2015. V. 10, No 6. Art. e0124841. doi: 10.1371/journal.pone.0124841.
4. *Kensler C.J., Battista S.P.* Components of cigarette smoke with ciliary-depressant activity. Their selective removal by filters containing activated charcoal granule // N. Engl. J. Med. 1963. V. 269. P. 1161–1166. doi: 10.1056/NEJM196311282692202.
5. *Alwis K.U., de Castro B.R., Morrow J.C., Blount B.C.* Acrolein exposure in U.S. tobacco smokers and non-tobacco users: NHANES 2005–2006 // Environ. Health Perspect. 2015. V. 123, No 12. P. 1302–1308. doi: 10.1289/ehp.1409251.
6. *Bagchi P., Geldner N., de Castro B.R., De Jesús V.R., Park S.K., Blount B.C.* Crotonaldehyde exposure in U.S. tobacco smokers and nonsmokers: NHANES 2005–2006 and 2011–2012 // Environ. Res. 2018. V. 163. P. 1–9. doi: 10.1016/j.envres.2018.01.033.
7. *Levin E.D., Rose J.E., Behm F., Caskey N.H.* The effects of smoking-related sensory cues on psychological stress // Pharmacol. Biochem. Behav. 1991. V. 39, No 2. P. 265–268. doi: 10.1016/0091-3057(91)90177-4.
8. *Schaller J.-P., Keller D., Poget L., Pratte P., Kaelin E., McHugh D., Cudazzo G., Smart D., Tricker A.R., Gautier L., Yerly M., Reis Pires R., Le Bouhellec S., Ghosh D., Hofer I., Garcia E., Vanscheeuwijck P., Maeder S.* Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 2: Chemical composition, genotoxicity, cytotoxicity, and physical properties of the aerosol // Regul. Toxicol. Pharmacol. 2016. V. 81, Suppl. 2. P. S27–S47. doi: 10.1016/j.yrtph.2016.10.001.
9. *Wong E.T., Kogel U., Veljkovic E., Martin F., Xiang Y., Boue S., Vuillaume G., Leroy P., Guedj E., Rodrigo G., Ivanov N.V., Hoeng J., Peitsch M.C., Vanscheeuwijck P.* Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 4: 90-day OECD 413 rat inhalation study with systems toxicology endpoints demonstrates reduced exposure effects compared with cigarette smoke // Regul. Toxicol. Pharmacol. 2016. V. 81, Suppl. 2. P. S59–S81. doi: 10.1016/j.yrtph.2016.10.015.
10. *Haziza C., de La Bourdonnaye G., Skiada D., Ancerewicz J., Baker G., Picavet P., Lüdicke F.* Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 8: 5-Day randomized reduced exposure clinical study in Poland // Regul. Toxicol. Pharmacol. 2016. V. 81, Suppl. 2. P. S139–S150. doi: 10.1016/j.yrtph.2016.11.003.
11. *Stevens J.F., Maier C.S.* Acrolein: Sources, metabolism, and biomolecular interactions relevant to human health and disease // Mol. Nutr. Food Res. 2008. V. 52, No 1. P. 7–25. doi: 10.1002/mnfr.200700412.
12. *Pan J., Chung F.-L.* Formation of cyclic deoxyguanosine adducts from ω-3 and ω-6 polyunsaturated fatty acids under oxidative conditions // Chem. Res. Toxicol. 2002. V. 15, No 3. P. 367–372. doi: 10.1021/tx010136q.
13. *Neurath G.B., Dünger M., Orth D., Pein F.G.* Trans-3'-hydroxycotinine as a main metabolite in urine of smokers // Int. Arch. Occup. Environ. Health. 1987. V. 59, No 2. P. 199–201. doi: 10.1007/BF00378497.
14. *Lopukhov L.V., Laikov A.V., Romanova V.A., Gatina D.Z., Lopukhov V.L., Abdulkhakov S.R., Zaitseva T.A., Medvedeva S.N., Gnuchikh E.V., Salafutdinov I.I., Grigoryeva T.V.* LC-MS method development for simultaneous determination of trans-3′-hydroxycotinine

and three mercapturic acids in urine // BioNanoScience. 2018. V. 8, No 3. P. 924–929. doi: 10.1007/s12668-018-0528-1.

Поступила в редакцию 10.11.2022
Принята к публикации 12.02.2023

Лопухов Леонид Валентинович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник НИЛ «Мультиомиксные технологии живых систем»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *leonidlopuhov@rambler.ru*

Лайков Александр Владимирович – научный сотрудник НИЛ «Мультиомиксные технологии живых систем»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *alexander-laikov@yandex.ru*

Салафутдинов Ильнур Ильдусович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник НИЛ «Мультиомиксные технологии живых систем»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *sal.ilnur@gmail.com*

Романова Валерия Александровна – младший научный сотрудник НИЛ «Мультиомиксные технологии живых систем»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *avonamora-94@mail.ru*

Лопухов Виктор Леонидович – лаборант-исследователь НИЛ «Мультиомиксные технологии живых систем»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *pinguinowr@gmail.com*

Григорьева Татьяна Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник НИЛ «Мультиомиксные технологии живых систем»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *tatabio@inbox.ru*

Гайсина Лейла Рафаэлевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренних болезней Института фундаментальной медицины и биологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *leilag@inbox.ru*

Ослопова Юлия Владимировна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренних болезней Института фундаментальной медицины и биологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *oslopovajul@mail.ru*

Сафина Диляра Дамировна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры внутренних болезней Института фундаментальной медицины и биологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *diliarik@yandex.ru*

Валеева Илдария Хайрулловна – старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории

Казанский государственный медицинский университет
ул. Бутлерова, д. 49. г. Казань, 420012, Россия
E-mail: *valeeva.ildaria@yandex.ru*

Абдулхаков Сайяр Рустамович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник НИЛ «Мультиомиксные технологии живых систем»; доцент кафедры поликлинической терапии и общей врачебной практики

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия

Казанский государственный медицинский университет
ул. Бутлерова, д. 49. г. Казань, 420012, Россия
E-mail: *sayarabdul@yandex.ru*

Файзуллин Рашат Искандарович – кандидат медицинских наук, заместитель директора Института фундаментальной медицины и биологии по научной деятельности

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *r460@mail.ru*

Киясов Андрей Павлович – доктор медицинских наук, директор Института фундаментальной медицины и биологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *medbiol@kpfu.ru*

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI

(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2023, vol. 165, no. 2, pp. 190–203

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.190-203

Insights into the Health Effects of Acrolein and Crotonaldehyde in Russian Smokers Switching from Regular Cigarettes to Heated Tobacco Products

L.V. Lopukhov [a*], *A.V. Laikov* [a**], *I.I. Salafutdinov* [a***], *V.A. Romanova* [a****], *V.L. Lopukhov* [a*****], *T.V. Grigoryeva* [a******], *L.R. Gaysina* [a*******], *J.V. Oslopova* [a********], *D.D. Safina* [a*********], *I.H. Valeeva* [b**********], *S.R. Abdulkhakov* [a, b**********], *R.I. Faizullin* [a***********], *A.P. Kiyasov* [a************]

[a]*Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia*

[b]*Kazan State Medical University, Kazan, 420012 Russia*

E-mail: [*]*leonidlopuhov@rambler.ru*, [**]*alexander-laikov@yandex.ru*, [***]*sal.ilnur@gmail.com*, [****]*avonamora-94@mail.ru*, [*****]*pinguinowr@gmail.com*, [******]*tatabio@inbox.ru*, [*******]*leilag@inbox.ru*, [********]*oslopovajul@mail.ru*, [*********]*diliarik@yandex.ru*, [**********]*valeeva.ildaria@yandex.ru*, [***********]*sayarabdul@yandex.ru*, [************]*r460@mail.ru*, [*************]*medbiol@kpfu.ru*

Received November 10, 2022; Accepted February 12, 2023

Abstract

The effects of acrolein and crotonaldehyde on the health of Russian smokers upon switching to heated tobacco product use were analyzed in a five-day randomized clinical trial. The findings suggest that heated tobacco products significantly reduce exposure to these toxicants, with the adverse effects becoming

less pronounced in just one day and comparable to complete cessation of smoking. The dynamics of nicotine intake and metabolism in the smokers who switched to heated tobacco products remained stable throughout the study and was similar to that in the group of regular cigarette smokers.

Therefore, our study, which has been performed for the first time among the Russian population, shows that smokers switching to heated tobacco products are less exposed to harmful chemicals like acrolein and crotonaldehyde and thus may be protected against some of the negative health effects often associated with regular cigarettes.

Keywords: heated tobacco products, acrolein, crotonaldehyde, mercapturic acids

Acknowledgements. This study was performed using the equipment of the Interdisciplinary Center of Shared Facilities of Kazan Federal University.

Figure Captions

Fig. 1. Dynamics of the changes in the concentrations of mercapturic acids (HPMA (*a*) and HMPMA (*b*)) and *trans*-hydroxycotinine (*c*) during the experiment. Mean values of the mercapturic acids and *trans*-hydroxycotinine concentrations normalized to creatinine (picograms of the substance per microgram of creatinine) and the confidence intervals at $P = 0.95$ are given.

References

1. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Acrolein. In: *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. Vol. 63: Dry cleaning, some chlorinated solvents and other industrial chemicals. Lyon, Int. Agency Res. Cancer, 1995, pp. 337–372.
2. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Crotonaldehyde. In: *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. Vol. 63: Dry cleaning, some chlorinated solvents and other industrial chemicals. Lyon, Int. Agency Res. Cancer, 1995, pp. 373–391.
3. Park S.L., Carmella S.G., Chen M., Patel Y., Stram D.O., Haiman C.A., Le Marchand L., Hecht S.S. Mercapturic acids derived from the toxicants acrolein and crotonaldehyde in the urine of cigarette smokers from five ethnic groups with differing risks for lung cancer. *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 6, art. e0124841. doi: 10.1371/journal.pone.0124841.
4. Kensler C.J., Battista S.P. Components of cigarette smoke with ciliary-depressant activity. Their selective removal by filters containing activated charcoal granule. *N. Engl. J. Med.*, 1963, vol. 269, pp. 1161–1166. doi: 10.1056/NEJM196311282692202.
5. Alwis K.U., de Castro B.R., Morrow J.C., Blount B.C. Acrolein exposure in U.S. tobacco smokers and non-tobacco users: NHANES 2005–2006. *Environ. Health Perspect.*, 2015, vol. 123, no. 12, pp. 1302–1308. doi: 10.1289/ehp.1409251.
6. Bagchi P., Geldner N., de Castro B.R., De Jesús V.R., Park S.K., Blount B.C. Crotonaldehyde exposure in U.S. tobacco smokers and nonsmokers: NHANES 2005–2006 and 2011–2012. *Environ. Res.*, 2018, vol. 163, pp. 1–9. doi: 10.1016/j.envres.2018.01.033.
7. Levin E.D., Rose J.E., Behm F., Caskey N.H. The effects of smoking-related sensory cues on psychological stress. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1991, vol. 39, no. 2, pp. 265–268. doi: 10.1016/0091-3057(91)90177-4.
8. Schaller J.-P., Keller D., Poget L., Pratte P., Kaelin E., McHugh D., Cudazzo G., Smart D., Tricker A.R., Gautier L., Yerly M., Reis Pires R., Le Bouhellec S., Ghosh D., Hofer I., Garcia E., Vanscheeuwijck P., Maeder S. Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 2: Chemical composition, genotoxicity, cytotoxicity, and physical properties of the aerosol. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 2016, vol. 81, suppl. 2, pp. S27–S47. doi: 10.1016/j.yrtph.2016.10.001.
9. Wong E.T., Kogel U., Veljkovic E., Martin F., Xiang Y., Boue S., Vuillaume G., Leroy P., Guedj E., Rodrigo G., Ivanov N.V., Hoeng J., Peitsch M.C., Vanscheeuwijck P. Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 4: 90-day OECD 413 rat inhalation study with systems toxicology endpoints demonstrates reduced exposure effects compared with cigarette smoke. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 2016, vol. 81, suppl. 2, pp. S59–S81. doi: 10.1016/j.yrtph.2016.10.015.

10. Haziza C., de La Bourdonnaye G., Skiada D., Ancerewicz J., Baker G., Picavet P., Lüdicke F. Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 8: 5-Day randomized reduced exposure clinical study in Poland. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 2016, vol. 81, suppl. 2, pp. S139–S150. doi: 10.1016/j.yrtph.2016.11.003.
11. Stevens J.F., Maier C.S. Acrolein: Sources, metabolism, and biomolecular interactions relevant to human health and disease. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2008, vol. 52, no. 1, pp. 7–25. doi: 10.1002/mnfr.200700412.
12. Pan J., Chung F.-L. Formation of cyclic deoxyguanosine adducts from ω-3 and ω-6 polyunsaturated fatty acids under oxidative conditions. *Chem. Res. Toxicol.*, 2002, vol. 15, no. 3, pp. 367–372. doi: 10.1021/tx010136q.
13. Neurath G.B., Dünger M., Orth D., Pein F.G. Trans-3'-hydroxycotinine as a main metabolite in urine of smokers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 1987, vol. 59, no. 2, pp. 199–201. doi: 10.1007/BF00378497.
14. Lopukhov L.V., Laikov A.V., Romanova V.A., Gatina D.Z., Lopukhov V.L., Abdulkhakov S.R., Zaitseva T.A., Medvedeva S.N., Gnuchikh E.V., Salafutdinov I.I., Grigoryeva T.V. LC-MS method development for simultaneous determination of trans-3'-hydroxycotinine and three mercapturic acids in urine. *BioNanoScience*, 2018, vol. 8, no. 3, pp. 924–929. doi: 10.1007/s12668-018-0528-1.

***Для цитирования*:** *Лопухов Л.В., Лайков А.В., Салафутдинов И.И., Романова В.А., Лопухов В.Л., Григорьева Т.В., Гайсина Л.Р., Ослопова Ю.В., Сафина Д.Д., Валеева И.Х., Абдулхаков С.Р., Файзуллин Р.И., Киясов А.П.* Исследование воздействия акролеина и кротонового альдегида в российской популяции при переходе с обычных сигарет на электронную систему нагревания табака // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2023. Т. 165, кн. 2. С. 190–203. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.190-203.

For citation: Lopukhov L.V., Laikov A.V., Salafutdinov I.I., Romanova V.A., Lopukhov V.L., Grigoryeva T.V., Gaysina L.R., Oslopova J.V., Safina D.D., Valeeva I.H., Abdulkhakov S.R., Faizullin R.I., Kiyasov A.P. Insights into the health effects of acrolein and crotonaldehyde in Russian smokers switching from regular cigarettes to heated tobacco products. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2023, vol. 165, no. 2, pp. 190–203. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.190-203. (In Russian)

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ КАЗАНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА.
СЕРИЯ ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

2023, Т. 165, кн. 2
С. 204–215

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 577.1+616.831-005.4:616-092.9 doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.204-215

СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРОГЛОБИНА В СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ ПРИ СУБТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Е.В. Узлова, С.М. Зиматкин, Е.И. Бонь

Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, 230009, Республика Беларусь

Аннотация

Нейроглобин (Ngb) является представителем семейства глобинов и обеспечивает кислородный гомеостаз клеток мозга. Известны особенности распределения Ngb в норме, но не при церебральной ишемии, исследования которой проводятся преимущественно на трансгенных организмах, а данные о содержании Ngb представлены для малого числа структур мозга. Это обуславливает необходимость систематического сравнительного анализа изменения содержания Ngb в структурах мозга крысы при субтотальной церебральной ишемии различной длительности. На основании результатов иммуногистохимического исследования содержания Ngb в 25 структурах мозга взрослых белых крыс-самцов линии Вистар после 30-минутной и 3-часовой субтотальной церебральной ишемии выявлено его снижение в большинстве структур, особенно через 3 ч после воздействия, в частности в филогенетически более старых структурах.

Ключевые слова: нейроглобин, ишемия, нейроны, головной мозг, крыса

Введение

Нейроглобин (Ngb) – это металлопротеин семейства глобинов, экспрессирующийся в нервной системе, сетчатке глаза, а также некоторых эндокринных органах. Предполагается, что Ngb участвует в обеспечении кислородного гомеостаза клеток («депо кислорода»), подавляет окислительный стресс, блокирует митохондриальные факторы апоптоза, связывает свободные радикалы, защищает митохондрии от воздействия монооксида азота (NO), регулирует клеточную NO-сигнализацию, а также способствует регенерации аксонов во время реперфузии через активацию сигнального пути p38-МАРК [1].

Ранее нами была проведена количественная иммуногистохимическая оценка содержания Ngb в нейронах различных структур мозга крысы, что позволило установить закономерности и особенности его регионального и клеточного распределения в норме [2]. Поскольку нейроглобин предположительно выполняет нейропротекторную роль, представляет интерес изучение изменения содержания Ngb при патологических состояниях, в частности при ишемии головного мозга, являющейся одной из наиболее частых причин инвалидизации и смерти в мире (ишемический инсульт). Несмотря на достаточно большое количество научных данных об изменении содержания и/или экспрессии Ngb при ишемии, почти все подобные исследования выполнены с использованием материала от сверхэкспрес-

сирующих Ngb культур клеток или организмов [3], что не позволяет экстраполировать данные на нормальные, нетрансгенные организмы и корректно оценить роль Ngb при церебральной ишемии.

Таким образом, актуальность настоящего исследования обусловлена отсутствием данных о динамике Ngb в нейронах различных структур мозга крысы при церебральной ишемии. Эта информация позволит в дальнейшем провести корреляцию степени ишемического повреждения нейронов структур мозга с динамикой Ngb и тем самым предоставить новую информацию к вопросу о нейропротекторном действии Ngb при ишемии.

Цель исследования – выявить закономерности изменения иммунореактивности нейроглобина в нейронах различных отделов мозга крысы при субтотальной ишемии различной длительности.

1. Материалы и методы

Исследование выполнено на 12 беспородных белых крысах-самцах (контрольная группа – $n = 4$, 30 мин субтотальной ишемии – $n = 4$, 3 ч субтотальной ишемии – $n = 4$) линии Вистар, массой 220–250 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария на полноценном рационе. Соблюдались все требования Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, использующихся для научных целей [4]. На данное исследование получено разрешение Комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета (протокол № 2 от 15.01.2020).

Моделирование субтотальной ишемии головного мозга (СИГМ) проводилось путем перевязки обеих общих сонных артерий в условиях внутривенного тиопенталового наркоза (40–50 мг/кг). Забор головного мозга крыс опытных групп осуществлялся через 30 мин и 3 ч после операции. Контрольным животным делали ложную операцию, без перевязки общих сонных артерий.

Проводили быструю декапитацию крыс, извлекали головной мозг и делили на три части фронтальными разрезами. Фиксация проводилась в цинк-этанол-формальдегиде [5] при +4ºС в течение 20 ч, затем образцы обезвоживались в спиртах, просветляли в ксилолах и заключали в парафин. Серийные срезы толщиной 5 мкм готовили через каждые 500 мкм с использованием микротома Leica 2125 RTS (Leica Biosystems, Германия) и монтировали на заранее подготовленные стекла.

Один срез из серии окрашивали по методу Ниссля для идентификации структур мозга по атласу [6], другой окрашивали иммуногистохимически для выявления содержания Ngb. Применяли первичные моноклональные мышиные антитела Anti-Neuroglobin antibody фирмы Abcam (Великобритания, ab. 37258) в оптимальном разведении 1:600, экспозиция 20 ч, при +4ºС во влажной камере. Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB IHC Detection Kit – Micro-polymer (Abcam, Великобритания, ab. 236466).

В качестве положительного контроля выступали ткани с известным высоким содержанием Ngb, а в качестве отрицательного – срезы, обработанные нормальной кроличьей сывороткой вместо первичных антител.

Дополнительным внутренним отрицательным контролем служили ядра нейронов и мозговые оболочки.

Изучение препаратов, микрофотографирование и цитофотометрию в структурах мозга проводили при разных увеличениях микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems GmbH, Германия) и программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США). Изучено 25 структур мозга (отделы, области, слои коры и ядра (скопления нейронов)). Иммунореактивность Ngb выражали в единицах оптической плотности $\times 10^3$.

Полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США; серийный номер 31415926535897). Результаты цитофотометрии представляли в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана, LQ – нижний квартиль, UQ – верхний квартиль. Для сравнения контрольной и опытных групп использовали непараметрический H-критерий Краскела – Уоллиса (Kruskal – Wallis H-test) ($p < 0.05$).

2. Результаты и их обсуждение

Ngb-иммунореактивность (Ngb-ИР) выявлена в цитоплазме тел нейронов и их отростков, ядра остаются неокрашенными. Ngb-ИР в контрольной группе соответствует ранее выявленным закономерностям [2].

Изменения Ngb-ИР после СИГМ обнаружены во всех исследованных отделах мозга крысы. Преимущественно отмечается снижение ИР, однако степень и скорость его отличаются (рис. 1–3, табл. 1).

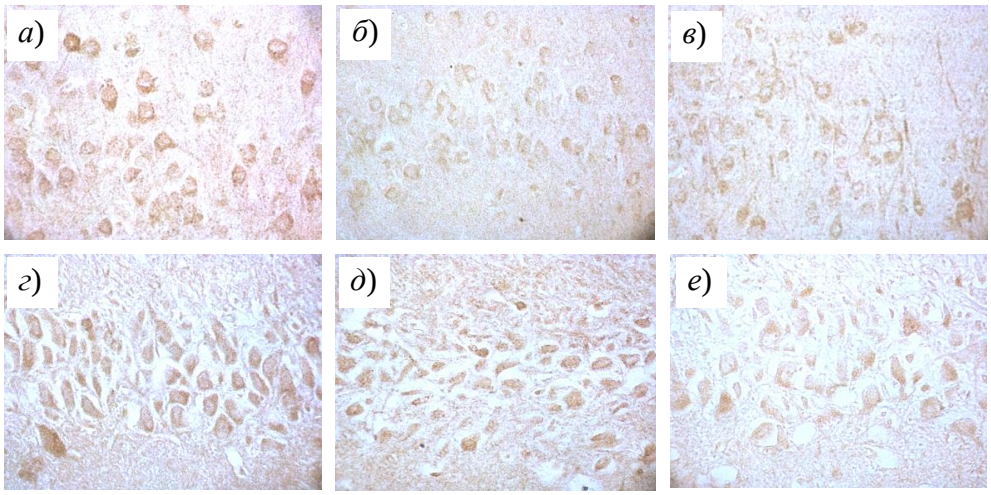

Рис. 1. Иммуногистохимическое окрашивание нейронов конечного мозга: *а–в* – II слой пириформной коры, *г–е* – пирамидный слой поля CA2 гиппокампа; *а* и *г* – контрольная группа, *б* и *д* – 30-минутная СИГМ, *в* и *е* – 3-часовая СИГМ. Увеличение 400х

В конечном мозге выделяется несколько групп структур по характеру изменения ИР Ngb при СИГМ. Для древней пириформной коры (рис. 1, *а–в*) характерно снижение ИР после 30-минутной СИГМ на 18% и повышение ИР до контрольного уровня после 3-часовой СИГМ, т. е. «волнообразное» изменение. Как исключение, в митральных клетках обонятельной луковицы, наоборот,

Ngb-ИР повышается на 16% после 30-минутной СИГМ и частично нормализуется после 3-часового воздействия (рис. 1, *а–в*, табл. 1).

В гиппокампе (в полях CA1–CA3) и зубчатой извилине снижение ИР Ngb после 30-минутной ишемии происходит на 12–21%, а после 3-часовой – на 24–35% от контрольного уровня (рис. 1, *г–е*, табл. 1), т. е. сохранения или повышения ИР не отмечается ни в одной из частей гиппокампа, что отличается от типа и скорости изменений ИР в других изученных структурах аллокортекса.

В слоях периаллокортекса и неокортекса не наблюдается снижения ИР после 30-минутной СИГМ. После 3-часового воздействия ИР снижается на 19–24% в периаллокортексе и на 11–33% в неокортексе. Примечательно, что в III слое ретросплениальной агранулярной коры Ngb-ИР повышается после 30-минутной СИГМ (на 26%), но уже после 3-часовой происходит резкое снижение ИР, по характеру совпадающее с изменениями в других слоях. Таким образом, структуры периаллокортекса и неокортекса характеризуются более медленным снижением содержания Ngb по сравнению с филогенетически более старыми структурами конечного мозга.

В нейронах структур промежуточного мозга (рис. 2, *а–в*, табл. 1) Ngb-ИР снижается на 23–33% после 30-минутной СИГМ и продолжает снижаться после, достигая снижения на 25–42% от контрольного уровня. Менее выраженные изменения происходят в медиальном маммилярном ядре, так как ИР не снижается после 30-минутного воздействия, а после 3-часового снижается меньше, чем в других исследованных структурах (на 25%).

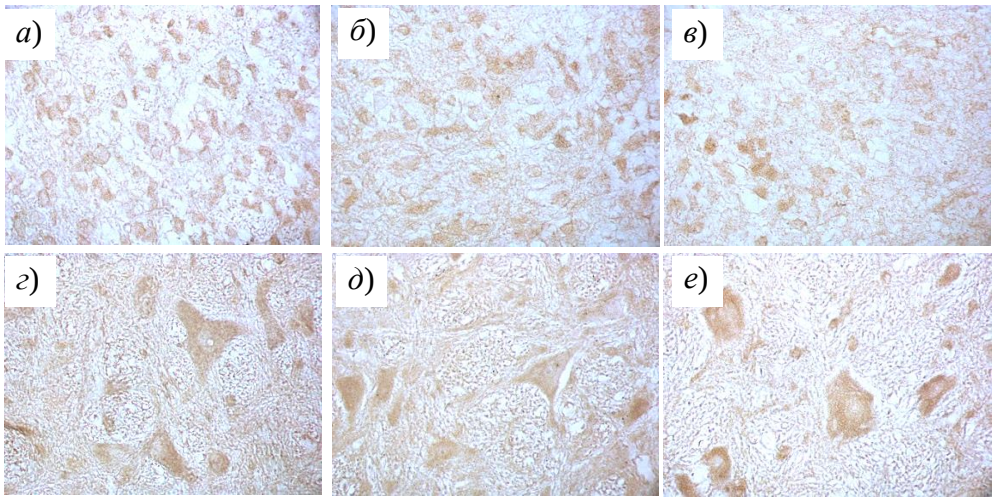

Рис. 2. Иммуногистохимическое окрашивание нейронов промежуточного и продолговатого мозга: *а–в* – медиальное габенулярное ядро, *г–е* – гигантоцеллюлярное ядро; *а* и *г* – контрольная группа, *б* и *д* – 30-минутная СИГМ, *в* и *е* – 3-часовая СИГМ. Увеличение 400х.

В среднем и продолговатом мозге в одной из исследованных структур – спинальном ядре тройничного нерва – не отмечается достоверного снижения Ngb-ИР. В вентральной области покрышки происходит даже увеличение ИР после 30-минутной СИГМ, но после 3-часового воздействия уровень ИР возвращается к контрольным значениям. В остальных же исследованных структурах среднего и продолговатого мозга (рис. 2, *г–е*, табл. 1) снижение ИР отмеча-

ется уже после 30-минутного воздействия. После 3-часовой СИГМ возможно как сохранение уровня ИР в сравнении с предыдущим сроком, так и дальнейшее снижение.

Структуры мозжечка характеризуются различной динамикой изменения иммунореактивности Ngb. Наименее значительные изменения Ngb-ИР обнаружены в клетках Пуркинье коры мозжечка. При этом в клетках Пуркинье простой дольки изменений не отмечено ни после 30-минутной, ни после 3-часовой СИГМ (рис. 3, *а–в*, табл. 1). В околоклочке же происходит относительно небольшое снижение (на 7%) Ngb-ИР после 30-минутного воздействия и остается на прежнем уровне даже после 3 ч СИГМ. Разные ядра мозжечка отличаются неодинаковым снижением Ngb-ИР: во вставочном ядре происходит снижение уже после 30-минутного воздействия, без дальнейшего снижения, в то время как в латеральном ядре (рис. 3, *г–е*) достоверное снижение отмечается после более длительного воздействия. В обоих случаях снижение ИР к 3 ч СИГМ составляет 22–23% от контрольного уровня (табл. 1).

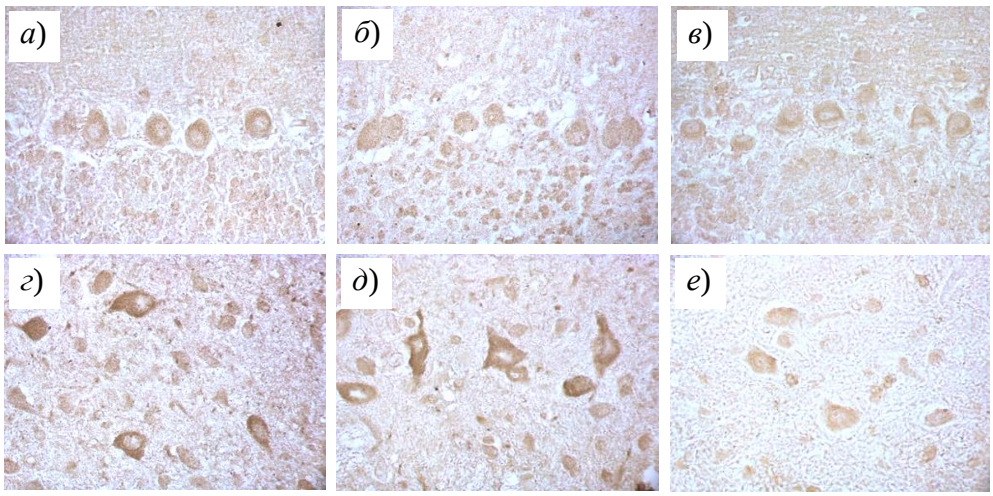

Рис. 3. Иммуногистохимическое окрашивание нейронов мозжечка: *а–в* – клетки Пуркинье простой дольки коры, *г–е* – нейроны латерального ядра; *а* и *г* – контрольная группа, *б* и *д* – 30-минутная СИГМ, *в* и *е* – 3-часовая СИГМ. Увеличение 400х.

Таким образом, при субтотальной церебральной ишемии содержание Ngb в нейронах большинства отделов мозга значительно снижается, что свидетельствует об общей неустойчивости кислородного депо большинства нейронов мозга к ишемическому воздействию. Структуры без изменения Ngb (спинальное ядро тройничного нерва, клетки Пуркинье простой дольки мозжечка) составляют малую долю в мозге. В отдельных типах нейронов (митральные клетки, вентральная область покрышки) через 30 мин после начала ишемии происходит даже временное увеличение содержания нейроглобина, с последующей нормализацией через 3 ч.

Обнаруженные изменения позволяют говорить и о разной устойчивости кислородного депо в структурах мозга в зависимости от филогенетического возраста: более молодые периаллокортекс, неокортекс и кору мозжечка можно выделить как структуры с более устойчивым кислородным депо, так как 30-

минутная СИГМ не приводит к снижению в них Ngb-ИР, в то время как в аллокортексе, стволе мозга и ядрах мозжечка кислородное депо уже уменьшается.

Табл. 1

Изменения иммунореактивности Ngb в нейронах мозга крысы ($\times 10^3$ ед. опт. плотности)

Структура	Содержание Ngb (Me (LQ; UQ))		
	Контрольная группа	30-минутная СИГМ	3-часоваяСИГМ
1	2	3	4
Конечный мозг			
Митральные клетки	156.7 (138.9; 174.3)	181.0 (170.1; 196.3) **p* = 0.002	173.4 (147.9; 187.8) **p* = 0.467 ***p* = 0.141
Пириформная кора	185.2 (172.0; 197.0)	151.2 (140.3; 166.9) **p* = 0.000	184.7 (159.2; 206.2) **p* = 0.583 ***p* = 0.003
Гиппокамп CA1, пирамидный слой	209.2 (190.4; 226.9)	164.8 (154.8; 196.1) **p* = 0.000	130.9 (111.5; 154.9) **p* = 0.000 ***p* = 0.001
Гиппокамп CA2, пирамидный слой	231.3 (217.9; 247.3)	204.8 (174.7; 221.1) **p* = 0.001	174.8 (156.7; 183.2) **p* = 0.000 ***p* = 0.006
Гиппокамп CA3, пирамидный слой	219.7 (193.2; 243.0)	177.5 (166.1; 198.2) **p* = 0.004	120.9 (109.3; 148.8) **p* = 0.000 ***p* = 0.000
Зубчатая извилина, зернистый слой	186.6 (167.1; 213.8)	163.9 (149.8; 176.0) **p* = 0.003	130.8 (120.3; 138.3) **p* = 0.000 ***p* = 0.000
Ретросплениальная агранулярная кора III	226.3 (210.9; 244.2)	285.8 (251.8; 323.2) **p* = 0.000	183.2 (173.9; 211.9) **p* = 0.003 ***p* = 0.000
Ретросплениальная агранулярная кора V	240.4 (198.8; 259.2)	222.3 (197.9; 243.0) **p* = 0.520	195.8 (175.4; 214.4) **p* = 0.000 ***p* = 0.031
Ретросплениальная агранулярная кора VI	244.6 (232.2; 260.7)	240.2 (219.2; 255.1) **p* = 0.344	185.8 (175.0; 208.0) **p* = 0.000 ***p* = 0.000
Височная кора III	164.7 (153.1; 180.5)	165.5 (134.3; 206.8) **p* = 0.998	146.3 (118.5; 158.6) **p* = 0.003 ***p* = 0.009
Височная кора V	179.4 (156.1; 191.3)	182.0 (150.4; 207.9) **p* = 0.983	144.7 (118.5; 152.8) **p* = 0.000 ***p* = 0.000
Височная кора VI	167.6 (151.3; 185.2)	174.7 (156.2; 200.2) **p* = 0.999	111.6 (99.0; 124.2) **p* = 0.000 ***p* = 0.000
Промежуточный мозг			
Ядра задней группы таламуса	229.9 (204.7; 243.3)	174.1 (160.7; 201.6) **p* = 0.000	135.1 (128.3; 153.3) **p* = 0.000 ***p* = 0.000

Продолжение табл. 1

1	2	3	4
Медиальное маммилярное ядро	217.6 (196.2; 232.3)	204.8 (190.9; 224.8) *p = 0.825	163.0 (147.5; 178.1) *p = 0.000 **p = 0.000
Медиальное габенулярное ядро	250.2 (226.7; 266.8)	168.6 (152.6; 180.3) *p = 0.000	144.1 (130.0; 157.5) *p = 0.000 **p = 0.011
Гистаминергическое ядро E2	305.0 (277.7; 317.0)	235.7 (218.2; 247.6) *p = 0.000	199.5 (176.3; 217.0) *p = 0.000 **p = 0.002
Средний и продолговатый мозг			
Вентральная область покрышки	211.7 (188.5; 235.4)	237.6 (188.0; 269.4) *p = 0.089	211.1 (194.9; 235.9) *p = 0.985 **p = 0.196
Компактное вещество черной субстанции	230.4 (210.0; 246.3)	170.9 (151.2; 184.3) *p = 0.000	141.4 (133.9; 151.3) *p = 0.000 **p = 0.002
Латеральная ретикулярная область	291.0 (278.8; 310.4)	198.6 (168.1; 217.7) *p = 0.000	201.8 (179.3; 218.4) *p = 0.000 **p = 1.000
Спинальное ядро тройничного нерва	202.3 (177.2; 216.7)	190.7 (164.4; 227.8) *p = 1.000	189.9 (170.2; 208.7) *p = 0.885 **p = 1.000
Гигантоцеллюлярное ядро	237.0 (215.5; 264.7)	183.9 (170.3; 194.1) *p = 0.000	191.6 (180.8; 208.7) *p = 0.000 **p = 0.684
Мозжечок			
Клетки Пуркинье простой дольки	159.7 (147.6; 168.2)	155.3 (122.4; 169.4) *p = 0.807	157.3 (146.7; 189.6) *p = 1.000 **p = 0.415
Клетки Пуркинье околоклочка	171.0 (144.8; 183.7)	163.5 (135.6; 156.5) *p = 0.027	160.2 (134.3; 165.8) *p = 0.057 **p = 1.000
Латеральное ядро	247.4 (190.3; 272.5)	214.0 (201.9; 224.1) *p = 0.683	189.0 (174.5; 202.2) *p = 0.000 **p = 0.003
Вставочное ядро	292.0 (268.3; 300.6)	224.3 (186.0; 241.4) *p = 0.000	226.0 (205.2; 237.8) *p = 0.000 **p = 1.000

Примечание: * – p относительно контроля, ** – p относительно 30-минутной СИГМ

Меньшая чувствительность кислородного депо филогенетически молодых структур при ишемии ранее отмечалась в научной литературе [7], однако факторы, определяющие данное различие, до сих пор не обозначены. Причиной таких различий, вероятнее всего, является более ранняя активация нейропротекторной функции нейроглобина в нейронах гиппокампа вследствие существенно более высокого уровня нейрональной синтазы оксида азота (nNOS)

при кислород-глюкозной депривации в сравнении с нейронами коры [8]. Несмотря на то, что более высокий уровень nNOS описывался для развивающихся нейронов [8], нельзя исключать возможность существования аналогичных различий в уровнях nNOS и среди нейронов взрослых организмов.

Известно, что после 1-часовой СИГМ происходит 29%-ное снижение Ngb в гиппокампе (поле CA1) [9], что соответствует нашим данным о 21%-ном и 37%-ном снижении Ngb после 30-минутного и 3-часового воздействия соответственно.

Также известно о 32%-ном снижении ИР Ngb в пирамидных нейронах V слоя париетальной коры после 1-часовой СИГМ [9], в то время как в височной коре после 30-минутной СИГМ значимые изменения отсутствовали, а после 3-часовой они составили только 19%. Подобные результаты указывают на разнообразную по скорости и степени реакцию кислородного депо разных участков неокортекса на ишемическое воздействие.

Неустойчивость кислородного депо зависит от длительности ишемического воздействия. После 3-часовой ишемии содержание Ngb в нейронах большинства структур снижается более значительно, чем после 30-минутной, т. е. нейроны не могут поддерживать кислородное депо на прежнем уровне.

Важно отметить отсутствие случаев увеличения Ngb относительно контрольного уровня после 3-часовой СИГМ, что согласуется с данными других исследований об экспрессии Ngb в нервных клетках с нормальной экспрессией данного белка [10]. Как известно из научных данных, увеличение экспрессии Ngb при ишемии или гипоксии наблюдалось у Ngb-сверхэкспрессирующих животных или в отдельных культурах клеток [11–17], но не в нетрансгенных организмах.

Мы полагаем, что гетерогенность результатов при сравнении структур передней (конечный и частично промежуточный мозг) и задней части мозга (средний мозг, мост и продолговатый мозг) при ишемии, вызванной перевязкой общих сонных артерий, в значительной степени обусловлена различной сохранностью кровоснабжения, а внутри отделов мозга – преимущественно свойствами изученных популяций нейронов, в частности связанными с их различным филогенетическим возрастом.

Заключение

Скорость и степень изменения содержания Ngb в нейронах различных структур мозга крысы при церебральной ишемии отличаются. В большинстве исследованных структур происходит его уменьшение, особенно при длительной ишемии. Также выявлено небольшое количество структур, чье кислородное депо не изменяется.

Минимальная скорость уменьшения содержания Ngb отмечается в филогенетически более молодых структурах коры конечного мозга и коре мозжечка по сравнению с нейронами более старых структур ствола мозга.

В отдельных структурах 30-минутное ишемическое воздействие может приводить к повышению количества Ngb в нейронах, но в ответ на длительное, 3-часовое ишемическое воздействие оно всегда снижается.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (договор № М21М-054 от 01.07.2021 «Оценка энергетического потенциала и депо кислорода нейронов мозга для прогнозирования их чувствительности к ишемии»).

Литература

1. *Узлова Е.В., Зиматкин С.М.* Нейроглобин: строение, функции, локализация в мозге в норме и при патологии // Новости мед.-биол. наук. 2019. Т. 19, № 1. С. 91–96.
2. *Узлова Е.В., Зиматкин С.М.* Нейроглобин в нейронах мозга крысы // Сиб. науч. мед. ж. 2021. Т. 41, № 4. С. 30–39. doi: 10.18699/SSMJ20210404.
3. *Узлова Е.В., Зиматкин С.М.* Нейропротекторное действие нейроглобина при гипоксии/ишемии // Сиб. науч. мед. ж. 2021. Т. 41, № 2. С. 33–39. doi: 10.18699/SSMJ20210205.
4. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and Council of the European Union of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. URL: https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2010/63/2019-06-26, свободный.
5. *Коржевский Д.Э.* Иммуногистохимическое исследование головного мозга. СПб.: СпецЛит, 2017. 143 с.
6. *Paxinos G., Watson C.* The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 6th ed. London: Acad. Press, 2007. 456 p.
7. *Shang A., Zhou D., Wang L., Gao Y., Fan M., Wang X., Zhou R., Zhang C.* Increased neuroglobin levels in the cerebral cortex and serum after ischemia-reperfusion insults // Brain Res. 2006. V. 1078, No 1. P. 219–226. doi: 10.1016/j.brainres.2006.01.064.
8. *Jiang X., Mu D., Manabat C., Koshy A.A., Christen S., Täuber M.G., Vexler Z.S., Ferriero D.M.* Differential vulnerability of immature murine neurons to oxygen-glucose deprivation // Exp. Neurol. 2004. V. 190, No 1. P. 224–232. doi: 10.1016/j.expneurol.2004.07.010.
9. *Bon L.I., Maksymovich N.Ye., Karnyushko O.A., Zimatkin S.M., Burak I.N., Lazarev V.F.* Changes in the content of neuroglobin in the neurons of the cerebral cortex of rats with ischemia // J. Cytol. Histol. Res. 2022. V. 1, No 1. P. 1–5. doi: 10.47363/JCHR/2022(1)101.
10. *Schmidt-Kastner R., Haberkamp M., Schmitz C., Hankeln T., Burmester T.* Neuroglobin mRNA expression after transient global brain ischemia and prolonged hypoxia in cell culture // Brain Res. 2006. V. 1103, No 1. P. 173–180. doi: 10.1016/j.brainres.2006.05.047.
11. *Sun Y., Jin K., Mao X.O., Zhu Y., Greenberg D.A.* Neuroglobin is up-regulated by and protects neurons from hypoxic-ischemic injury // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2001. V. 98, No 26. P. 15306–15311. doi: 10.1073/pnas.251466698.
12. *Sun Y., Jin K., Peel A., Mao X.O., Xie L., Greenberg D.A.* Neuroglobin protects the brain from experimental stroke *in vivo* // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2003. V. 100, No 6. P. 3497–3500. doi: 10.1073/pnas.0637726100.
13. *Khan A.A., Wang Y., Sun Y., Mao X.O., Xie L., Miles E., Graboski J., Chen S., Ellerby L.M., Jin K., Greenberg D.A.* Neuroglobin-overexpressing transgenic mice are resistant to cerebral and myocardial ischemia // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2006. V. 103, No 47. P. 17944–17948. doi: 10.1073/pnas.0607497103.
14. *Wang X., Liu J., Zhu H., Tejima E., Tsuji K., Murata Y., Atochin D.N., Huang P.L., Zhang C., Lo E.H.* Effects of neuroglobin overexpression on acute brain injury and long-

term outcomes after focal cerebral ischemia // Stroke. 2008. V. 39, No 6. P. 1869–1874. doi: 10.1161/STROKEAHA.107.506022.

15. *Li R.C., Guo S.Z., Lee S.K., Gozal D.* Neuroglobin protects neurons against oxidative stress in global ischemia // J. Cereb. Blood Flow Metab. 2010. V. 30, No 11. P. 1874 -- 1882. doi: 10.1038/jcbfm.2010.90.
16. *Raida Z., Hundahl C.A., Nyengaard J.R., Hay-Schmidt A.* Neuroglobin over expressing mice: Expression pattern and effect on brain ischemic infarct size // PLoS ONE. 2013. V. 8, No 10. art. e76565. doi: 10.1371/journal.pone.0076565.
17. *Taylor J.M., Kelley B., Gregory E.J., Berman N.E.J.* Neuroglobin overexpression improves sensorimotor outcomes in a mouse model of traumatic brain injury // Neurosci. Lett. 2014. V. 577. P. 125–129. doi: 10.1016/j.neulet.2014.03.012.

Поступила в редакцию 15.06.2022
Принята к публикации 18.07.2022

Узлова Елизавета Валентиновна – аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии

Гродненский государственный медицинский университет
г. Гродно, 230009, ул. Горького, 80
E-mail: *uzlovaliza@gmail.com*

Зиматкин Сергей Михайлович – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии

Гродненский государственный медицинский университет
г. Гродно, 230009, ул. Горького, 80
E-mail: *smzimatkin@mail.ru*

Бонь Елизавета Игоревна – кандидат биологических наук, доцент кафедры патологической физиологии имени Д.А. Маслакова

Гродненский государственный медицинский университет
г. Гродно, 230009, ул. Горького, 80
E-mail: *asphodela@list.ru*

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2023, vol. 165, no. 2, pp. 204–215

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.204-215

Neuroglobin Content in Rat Brain Structures after Subtotal Cerebral Ischemia

E.V. Uzlova [*], *S.M. Zimatkin* [**], *E.I. Bon* [***]

Grodno State Medical University, Grodno, 230009 Republic of Belarus

E-mail: [*]*uzlovaliza@gmail.com*, [**]*smzimatkin@mail.ru*, [***]*asphodela@list.ru*
Received June, 2022; Accepted July 18, 2022

Abstract

Neuroglobin (Ngb) is a member of the globin family. Like other globin proteins, it is involved in the maintenance of oxygen homeostasis. Ngb distribution in the normal brain is well known, but its response to pathological injury, such as cerebral ischemia, has not yet been adequately elucidated. One primary reason for this is that ischemic lesions in cerebral tissues have mostly been studied in transgenic organisms. In

addition, the available data on Ngb content are limited to a small number of brain structures. This article examines the patterns of changes in Ngb immunoreactivity in neurons from different parts of the rat brain after subtotal cerebral ischemia of varying duration. An immunohistochemical study of Ngb content in 25 brain structures of white male Wistar rats exposed to 30-min and 3-h subtotal cerebral ischemia was performed. A decrease in Ngb content in all structures (especially 3 h after the ischemia onset and in the phylogenetically older parts), temporal mediation, and dependence on the phylogenetic age were revealed. The obtained results further decipher the correlation between the changes in Ngb content and the degree of cerebral ischemic damage, which is necessary to clarify the functions of the studied protein.

Keywords: neuroglobin, ischemia, neurons, brain, rat

Acknowledgements. This study was funded by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (agreement no. M21M-054 of July 1, 2021 “Evaluation of the energy potential and oxygen depot of brain neurons to predict their sensitivity to ischemia”).

Figure Captions

Fig. 1. Immunohistochemical staining of neurons in the telencephalon: *a–c* – piriform cortex, layer II, *d–f* – hippocampus, field CA2, pyramidal layer; *a* and *d* – control group, *b* and *e* – 30-min subtotal cerebral ischemia, *c* and *f* – 3-h subtotal cerebral ischemia. Magnification 400x.

Fig. 2. Immunohistochemical staining of neurons in the diencephalon and medulla oblongata: *a – c* – medial habenular nucleus, *d–f* – gigantocellular nucleus; *a* and *d* – control group, *b* and *e* – 30-min subtotal cerebral ischemia, *c* and *f* – 3-h subtotal cerebral ischemia. Magnification 400x.

Fig. 3. Immunohistochemical staining of neurons in the cerebellum: *a–c* – Purkinje cells of the cerebellar cortex, *d–f* – neurons of the lateral nucleus: *a* and *d* – control group, *b* and *e* – 30-min subtotal cerebral ischemia, *c* and *f* – 3-h subtotal cerebral ischemia. Magnification 400x.

References

1. Uzlova E.V., Zimatkin S.M. Neuroglobin: Structure, functions, and localization in the brain in normal and pathological conditions. *Nov. Med.-Biol. Nauk*, 2019, vol. 19, no. 1, pp. 91–96. (In Russian)
2. Uzlova E.V., Zimatkin S.M. Neuroglobin in rat brain neurons. *Sib. Nauchn. Med. Zh.*, 2021, vol. 41, no. 4, pp. 30–39. doi: 10.18699/SSMJ20210404. (In Russian)
3. Uzlova E.V., Zimatkin S.M. Neuroprotective effect of neuroglobin in hypoxia/ischemia. *Sib. Nauchn. Med. Zh.*, 2021, vol. 41, no. 2, pp. 33–39. doi: 10.18699/SSMJ20210205. (In Russian)
4. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and Council of the European Union of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Available at: https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2010/63/2019-06-26.
5. Korzhevskii D.E. *Immunogistokhimicheskoe issledovanie golovnogo mozga* [An Immunohistochemical Study of the Brain]. St. Petersburg, SpetsLit, 2017. 143 p. (In Russian)
6. Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 6th ed. London, Acad. Press, 2007. 456 p.
7. Shang A., Zhou D., Wang L., Gao Y., Fan M., Wang X., Zhou R., Zhang C. Increased neuroglobin levels in the cerebral cortex and serum after ischemia-reperfusion insults. *Brain Res.*, 2006, vol. 1078, no. 1. pp. 219–226. doi: 10.1016/j.brainres.2006.01.064.
8. Jiang X., Mu D., Manabat C., Koshy A.A., Christen S., Täuber M.G., Vexler Z.S., Ferriero D.M. Differential vulnerability of immature murine neurons to oxygen-glucose deprivation. *Exp. Neurol.*, 2004, vol. 190, no. 1, pp. 224–232. doi: 10.1016/j.expneurol.2004.07.010.
9. Bon L.I., Maksymovich N.Ye., Karnyushko O.A., Zimatkin S.M., Burak I.N., Lazarev V.F. Changes in the content of neuroglobin in the neurons of the cerebral cortex of rats with ischemia. *J. Cytol. Histol. Res.*, 2022, vol. 1, no. 1, pp. 1–5. doi: 10.47363/JCHR/2022(1)101.
10. Schmidt-Kastner R., Haberkamp M., Schmitz C., Hankeln T., Burmester T. Neuroglobin mRNA expression after transient global brain ischemia and prolonged hypoxia in cell culture. *Brain Res.*, 2006, vol. 1103, no. 1, pp. 173–180. doi: 10.1016/j.brainres.2006.05.047.

11. Sun Y., Jin K., Mao X.O., Zhu Y., Greenberg D.A. Neuroglobin is up-regulated by and protects neurons from hypoxic-ischemic injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2001, vol. 98, no. 26, pp. 15306–15311. doi: 10.1073/pnas.251466698.

12. Sun Y., Jin K., Peel A., Mao X.O., Xie L., Greenberg D.A. Neuroglobin protects the brain from experimental stroke *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2003, vol. 100, no. 6, pp. 3497–3500. doi: 10.1073/pnas.0637726100.

13. Khan A.A., Wang Y., Sun Y., Mao X.O., Xie L., Miles E., Graboski J., Chen S., Ellerby L.M., Jin K., Greenberg D.A. Neuroglobin-overexpressing transgenic mice are resistant to cerebral and myocardial ischemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2006, vol. 103, no. 47, pp. 17944–17948. doi: 10.1073/pnas.0607497103.

14. Wang X., Liu J., Zhu H., Tejima E., Tsuji K., Murata Y., Atochin D.N., Huang P.L., Zhang C., Lo E.H. Effects of neuroglobin overexpression on acute brain injury and long-term outcomes after focal cerebral ischemia. *Stroke*, 2008, vol. 39, no. 6, pp. 1869–1874. doi: 10.1161/STROKEAHA.107.506022.

15. Li R.C., Guo S.Z., Lee S.K., Gozal D. Neuroglobin protects neurons against oxidative stress in global ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2010, vol. 30, no. 11, pp. 1874–1882. doi: 10.1038/jcbfm.2010.90.

16. Raida Z., Hundahl C.A., Nyengaard J.R., Hay-Schmidt A. Neuroglobin over expressing mice: Expression pattern and effect on brain ischemic infarct size. *PLoS ONE*, 2013, vol. 8, no. 10, art. e76565. doi: 10.1371/journal.pone.0076565.

17. Taylor J.M., Kelley B., Gregory E.J., Berman N.E.J. Neuroglobin overexpression improves sensorimotor outcomes in a mouse model of traumatic brain injury. *Neurosci. Lett.*, 2014, vol. 577, pp. 125–129. doi: 10.1016/j.neulet.2014.03.012.

***Для цитирования*:** *Узлова Е.В., Зиматкин С.М., Бонь Е.И.* Содержание нейроглобина в структурах головного мозга крысы при субтотальной ишемии // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2023. Т. 165, кн. 2. С. 204–215. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.204-215.

***For citation*:** Uzlova E.V., Zimatkin S.M., Bon E.I. Neuroglobin content in rat brain structures after subtotal cerebral ischemia. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2023, vol. 165, no. 2, pp. 204–215. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.204-215. (In Russian)

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ КАЗАНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА.
СЕРИЯ ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

2023, Т. 165, кн. 2
С. 216–230

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 576.32/.36

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.216-230

ИММУНОФЕНОТИП МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ РЕПЛИКАТИВНОМ СТАРЕНИИ

А.Ю. Ратушный

ФГБУН ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, г. Москва, 123007, Россия

Аннотация

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) являются одной из популяций прогениторных клеток взрослого организма, участвуют в процессах физиологического обновления тканей и регенерации повреждений. В настоящее время они продолжают привлекать внимание исследователей в качестве инструмента регенеративной медицины. В то же время необходимо учитывать тканеспецифичные особенности субпопуляций МСК. МСК обладают множеством потенциально полезных свойств, которые могут значительно изменяться с возрастом. Известно, что способность клетки реагировать на внешние сигналы и регулировать свое функциональное состояние определяется репертуаром рецепторов на клеточной мембране. Таким образом, цель работы заключалась в изучении уровня экспрессии ряда поверхностных маркеров сенесцентных МСК, выделенных из жировой ткани (жтМСК). Длительная экспансия позволила получить культуру клеток, подвергнутых репликативному старению. Показано, что при клеточном старении на поверхности жтМСК повышается экспрессия CD29, CD44, CD54, CD73, CD90, HLA-ABC. Достоверных изменений по антигенам CD105 и CD51/61 в экспериментальных условиях не отмечено. При этом выявленные изменения связаны с увеличением количества маркеров на единицу площади поверхности клетки, а не только с увеличением клеточного размера или аутофлуоресценции. Обнаруженные изменения могут лежать в основе ряда модификаций свойств сенесцентных МСК, включая миграцию, адгезию, иммуномодуляторную и ангиогенную активности.

Ключевые слова: мезенхимальные стромальные клетки (МСК), клеточное старение, иммунофенотип, проточная цитофлуориметрия

Введение

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) обладают широким спектром биологических функций, участвуют в поддержании тканевого гомеостаза и регенерации. Они проявляют иммуномодулирующие, ангиогенные, противовоспалительные и антиапоптотические свойства. При возникновении повреждений в тканях МСК секретируют паракринные факторы, стимулирующие пролиферацию, миграцию, дифференцировку и др. На настоящий момент данная клеточная популяция рассматривается как потенциальный инструмент для регенеративной медицины [1, 2]. МСК были получены из целого ряда тканевых источников, включая костный мозг, жировую ткань, амниотическую жидкость, амниотическую мембрану, пульпу зуба, эндометрий, зачатки конечностей, менструальную кровь, периферическую кровь, слюнные железы, кожу, край-

нюю плоть, синовиальную жидкость, Вартонов студень и др. [3]. Тем не менее, несмотря на соответствие выделяемых клеток минимальным критериям [4], что позволяет относить их к МСК, получаемые культуры в значительной степени различаются. Тканеспецифичные варианты дифференцировочной активности, состава поверхностных маркеров, протеома, транскриптома и секретома продолжают изучаться [5, 6]. Новые данные позволят разработать стандарты для медицинских клеточных продуктов с учетом субпопуляционных особенностей клеток [6]. Одним из наиболее перспективных источников МСК является жировая ткань, позволяющая получить аутологичные клетки в большом количестве при минимальном хирургическом вмешательстве.

Возраст доноров является одним из основных факторов, определяющих качество трансплантируемых МСК [7]. С другой стороны, независимо от возраста донора клетки неизбежно приобретают сенесцентный фенотип после продолжительной экспансии *in vitro* [8, 9]. Так же, как и другие клетки, МСК изменяют свои морфофункциональные характеристики при активации сенесцентного состояния. Происходит необратимый арест клеточного цикла, изменяется морфология, активность органелл, экспрессия генов, обнаруживается ряд других маркеров клеточного старения. Подобные изменения создают необходимость контроля клеточного старения при создании клеточных продуктов для медицинского применения.

Существует необходимость изучения клеточных механизмов, лежащих в основе возрастных изменений, и вне контекста клеточной терапии. С возрастом доля сенесцентных клеток в организме увеличивается, что повышает их влияние на здоровье и может быть одним из драйверов развития различных заболеваний, ассоциированных со старением. Сенесцентные МСК продолжают взаимодействовать со своим окружением, оказывая локальное и системное влияние на многие процессы, включая канцерогенез [10–12].

Взаимодействие клеток между собой и с внеклеточным матриксом (ВКМ) осуществляется через различные поверхностные рецепторы, в том числе через CD29, CD44, CD54, CD51/61, CD73, CD90, CD105, HLA-ABC. Изменение уровня экспрессии отдельных рецепторов влияет на способность клетки реагировать на определенные сигналы и регулировать свое морфофункциональное состояние, а также влиять на свое микроокружение. В свою очередь, это может приводить к смещению тканевого гомеостаза. Известно, что клеточное старение МСК ассоциировано с модификацией их иммуномодуляторных, ангиогенных и других свойств [9, 10, 13]. В основе данного феномена, среди прочего, могут быть изменения в экспрессии мембранных рецепторов. Таким образом, цель нашей работы заключалась в изучении уровня экспрессии ряда поверхностных маркеров сенесцентных МСК, выделенных из жировой ткани.

1. Материалы и методы

МСК выделяли из стромально-васкулярной фракции жировой ткани человека (жтМСК) с использованием стандартной методики. Эксперименты проведены с соблюдением этических норм и одобрены биоэтической комиссией ГНЦ РФ – ИМБП РАН (разрешение № 550/МСК/22/07/20). ВКМ жировой ткани разрушали при помощи раствора 0.075% коллагеназы. Суспензию клеток высевали на культуральный пластик на 15–18 ч (overnight), после чего тщательно промывали фосфатным буферным раствором. Более подробно данная методика

описана в работе Zuk et al., 2001 [14]. Полученные клетки культивировали в среде α-MEM (Gibco, США), содержащей 10% фетальной телячьей сыворотки (HyClone, США), 50 ед/мл пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина (ПанЭко, Россия), в условиях 5% CO_2, 37 °C, 100% влажности. Донорами были пять женщин 35–45 лет. На втором пассаже (P2) проводили иммунофенотипирование клеток и оценку потенциала к дифференцировке в остеогенном и адипогенном направлениях для подтверждения соответствия минимальным критериям МСК [4]. Анализируемые клетки имели характерный для МСК иммунофенотип (CD90+, CD73+, CD105+, CD44+, CD29+, HLA-ABC+, CD31-, CD34-, CD45-) и были способны к дифференцировке в канонических направлениях. Длительное культивирование продолжали до достижения лимита Хейфлика и активации репликативного старения (до 21–23 пассажей). Активацию сенесцентного состояния подтверждали по ряду признаков, что описано в предыдущих публикациях [15, 16]. В частности, экспрессию β-галактозидазы, ассоциированной со старением (SA-β-gal), оценивали с помощью набора Senescence Cells Histochemical Staining Kit (Sigma, США) согласно инструкции производителя. Анализировали клетки с использованием светового фазово-контрастного микроскопа Nikon Eclipse TiU (Nikon, Япония).

Клетки поздних (P21–23) и ранних (P2–6) пассажей в рамках каждого отдельного эксперимента изучали одновременно, чтобы минимизировать влияние сторонних факторов. Для анализа МСК снимали с пластика при помощи раствора аккутазы (Sigma, США, кат. A6964), в каждом образце оценивали не менее 10 000 живых клеток. Экспрессию поверхностных рецепторов оценивали с помощью специфических антител с флуоресцентными метками методом проточной цитофлуориметрии на приборе Accuri C6 (BD, США). Анализировали CD29 (кат. 559883, BD, США), CD44 (кат. 555479, BD, США), CD54 (кат. IM1239U, Beckman Coulter, США), CD51/61 (кат. 555505, BD, США), CD73 (кат. 550257, BD, США), CD90 (кат. IM1839U, Beckman Coulter, США), CD105 (кат. A07414, Beckman Coulter, США), HLA-ABC (кат. IM1838U, Beckman Coulter, США). Выбор этих антигенов обусловлен их наиболее выраженной экспрессией на МСК и частотой использования для характеристики данной клеточной популяции. Аутофлуоресценцию анализировали в образцах без добавления специфических антител (при длине волны 530 нм). Среднюю интенсивность флуоресценции определяли как среднее значение флуоресценции в каждой анализируемой клеточной популяции с помощью программного обеспечения BD Accuri C6 Software (BD, США).

Для оценки относительного размера и гранулярности МСК использовали метод проточной цитофлуориметрии. Датчики регистрируют поглощение и рассеяние света клеткой (прямое (Forward Scatter – FSC-A) и угловое (Side Scatter – SSC-A)). FSC-A позволяет судить о размерах клетки, а SSC-A – о гранулярности цитоплазмы.

Полученные данные подвергались статистической обработке с использованием STATISTICA 10 (StatSoft, США). В качестве характеристик полученных выборок использовали среднее значение и стандартное отклонение ($\overline{X} \pm \mathrm{SD}$). Для определения достоверности различий между выборками применяли непараметрический критерий Манна–Уитни при выбранном уровне значимости $p \leq 0.05$.

2. Результаты и обсуждение

Одним из первых этапов работы являлось получение сенесцентных жтМСК и подтверждение их сенесцентного состояния. В данной работе клетки длительно культивировали до достижения лимита Хейфлика. Время пассирования составляло до 160 дней (до 23 пассажей). Сходное время поддержания культуры жтМСК до активации сенесцентного состояния было показано и другими исследователями [11, 17]. Сенесцентное состояние характеризуется целым рядом изменений, включая снижение пролиферации, экспрессию SA-β-gal, модификацию работы генов и др. Ранее мы подробно изучили данные изменения, проявляющиеся в среднем к двадцать первому пассажу [16]. При достижении культуры пресенесцентного состояния размораживали идентичную «молодую» культуру. Дальнейший анализ проводили одновременно для снижения влияния сторонних эффектов.

Одной из наиболее очевидных характеристик сенесцентных клеток является изменение морфологии и активация SA-β-gal, что относительно легко поддается наблюдению при помощи микроскопии и проточной цитофлуориметрии (рис. 1 *а*, *б*).

Сенесцентные клетки, полностью остановившие клеточный цикл, способны сохранять жизнеспособность и функциональную активность довольно долго, не запуская апоптотические каскады и продолжая увеличиваться в размерах и накапливать широкий спектр различных цитоплазматических включений [10, 18]. Проточная цитофлуориметрия использована для количественного сравнения морфологических показателей МСК в суспензии. Данная методика позволяет оценить показатели рассеянного света, которые обусловлены размером, формой, плотностью клеток и гранулярностью внутриклеточной структуры. Было показано, что на 21–23 пассажах увеличивался средний размер МСК и вакуолизация цитоплазмы, оценка которых осуществлялась по прямому (FSC) и боковому (SSC) светорассеянию соответственно. Таким образом, основываясь на наших более ранних работах и новых данных, мы заключили, что исследуемые культуры на 21–23 пассажах проявляют признаки сенесцентности.

Далее изучали непосредственно иммунофенотип жтМСК при репликативном старении. Известно, что доля клеток, позитивных по анализируемым маркерам, является относительно стабильной. Несмотря на некоторую гетерогенность МСК при выделении в культуру по степени коммитированности, доля клеток, позитивных по наиболее характерным антигенам, остается близкой к 100% даже при длительном культивировании. Этот феномен был неоднократно описан в научной литературе и подтвержден, в том числе, в наших работах [9, 15, 19, 20]. С другой стороны, данных об изменениях экспрессии антигенов (количества белка на мембране отдельной клетки) на МСК при активации сенесцентного состояния немного. Так, в недавнем обзоре [21] автор приводит лишь две работы, в которых изучался данный параметр по CD90, CD105, CD44. Они показали, что на МСК, выделенных из костного мозга и амниотической жидкости, снижается экспрессия этих маркеров через 8 и 14 пассажей соответственно [22, 23]. Тем не менее представленные в оригинальной работе Jung et al. репрезентативные гистограммы, полученные с помощью проточной цитофлуориметрии, не могут быть интерпретированы однозначно, а полноценные количественные данные не приведены. В 2019 г. была опубликована статья, в которой авторы, в том числе, анализировали иммунофенотип МСК костного

мозга, полученных от пожилых (≥ 70 лет) и молодых (18–35 лет) доноров [24]. К сожалению, в работе не ставилась задача по анализу экспрессии маркеров и отсутствует сравнение количественных данных. Тем не менее приведенные репрезентативные диаграммы позволяют предположить повышение экспрессии CD90 у пожилых доноров и отсутствие изменений по CD73 и CD105.

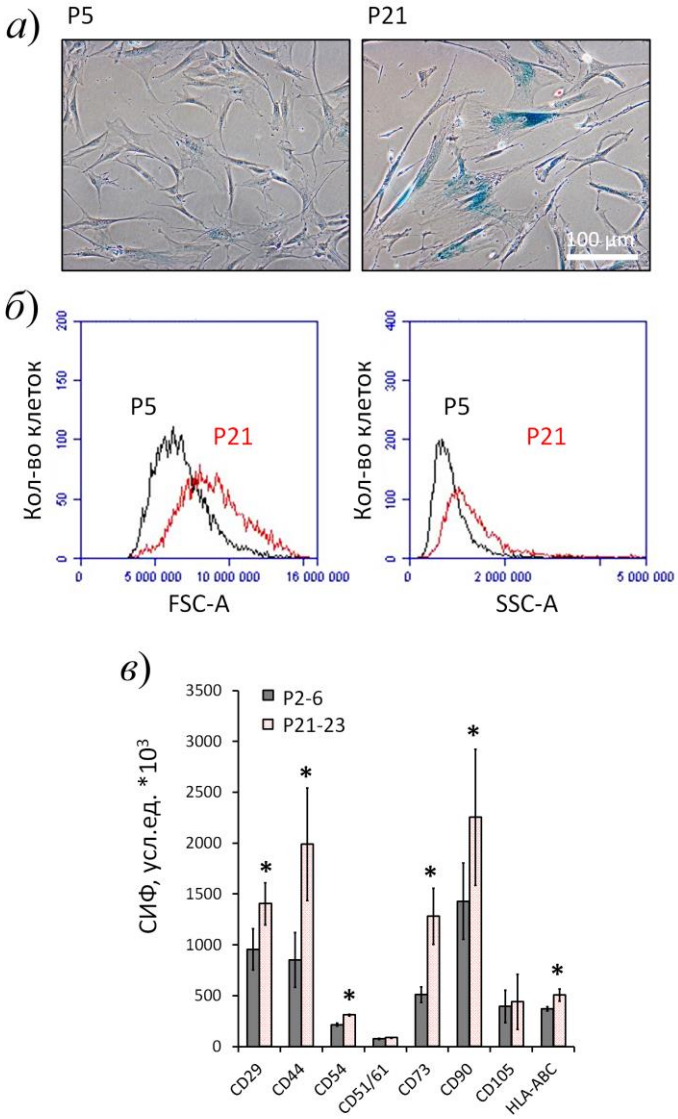

Рис. 1. Признаки клеточного старения МСК и экспрессия поверхностных маркеров при длительном культивировании: а) – выявление активной β-галактозидазы (SA-β-gal), ассоциированной со старением, в МСК на ранних (P5) и поздних (P21) пассажах методом световой микроскопии; б) – распределение МСК по размеру (FSC-A) и гранулярности (SSC-A) по данным проточной цитофлуориметрии. Представлены результаты репрезентативного эксперимента; в) – средняя интенсивность флуоресценции (СИФ), отражающая экспрессию антигенов на поверхности МСК, на ранних (P2–6) и поздних (P21–23) пассажах. Данные представлены как среднее значение ± стандартное отклонение, $n \geq 5$, * – $p \leq 0.05$

В настоящей работе также использована проточная цитофлуориметрия с применением специфических антител с флуоресцентной меткой. Показано, что при клеточном старении на поверхности жтМСК повышается экспрессия CD29, CD44, CD54, CD73, CD90, HLA-ABC (рис. 1, *в*). При этом по маркерам CD44, CD73 отмечено увеличение экспрессии более чем в 2 раза. Достоверных изменений по антигенам CD105 и CD51/61 в экспериментальных условиях не выявлено. В исследовании на эндотелиальных клетках CD44 был определен как один из «генов клеточной адгезии, индуцированных старением». Повышенная экспрессия способствовала адгезии моноцитов, что может быть связано с развитием атеросклероза [25]. В исследованиях на МСК показано, что CD44 вместе с CD29 участвует в VEGF-индуцированной миграции [26]. CD73 способствует повышению уровня внеклеточного аденозина, который оказывает мощный иммуносупрессивный эффект. Острое CD73-зависимое повышение уровня аденозина в нормальных тканях в основном оказывает тканезащитное действие, тогда как хроническое увеличение концентрации при терапии рака способствует патологическим процессам ремоделирования и фиброзу [27]. CD90 играет роль во взаимодействиях клетка – клетка и клетка – матрикс, участвует в регенерации нервов, активации Т-клеток, адгезии и миграции лейкоцитов и клеток меланомы, пролиферации и миграции фибробластов при заживлении ран [28]. Таким образом, обнаруженные изменения могут лежать в основе целого ряда изменений в функциональной активности МСК при клеточном старении.

Одной из причин обнаруженных изменений в экспрессии поверхностных молекул могло быть изменение субпопуляционного состава культуры при длительном культивировании. Как уже было отмечено выше, МСК представляют собой гетерогенную популяцию клеток со сходными свойствами. При выделении их в культуру *in vitro* баланс сигналов от клеточной ниши нарушается, в том числе исчезает фактор контактного ингибирования. В таких условиях клетки начинают активно делиться и с увеличением числа пассажей неизбежно происходит выщепление наиболее активно пролиферирующей субпопуляции. Другие субпопуляции будут вытесняться. Для проверки гипотезы о влиянии на исследуемые параметры иммунофенотипа мы анализировали клетки не только на ранних (P2–6) и поздних (P21–23), но и на средних (P10–15) пассажах (рис. 2). Показано, что экспрессия CD29, CD44, CD54, CD73, CD90, HLA-ABC, CD105 и CD51/61 на средних и ранних пассажах не отличалась.

Другая причина обнаруженных изменений могла быть связана с клеточной морфологией. Так как активация сенесцентного состояния сопряжена с увеличением размера клетки, то логично предположить увеличение количества клеточных рецепторов из-за увеличения площади поверхности клеточной мембраны. Количество мембранных антигенов на единицу площади при этом может не изменяться. Поэтому следующим шагом нашего исследования стало исключение влияния на исследуемые параметры такого фактора, как размер жтМСК. Для этого клетки ранних и поздних пассажей при оценке морфологии с помощью проточной цитометрии были выделены в отдельные узкие гейты R1 (клетки малого размера), R3 (клетки среднего размера), R4 (клетки большого размера) (рис. 3).

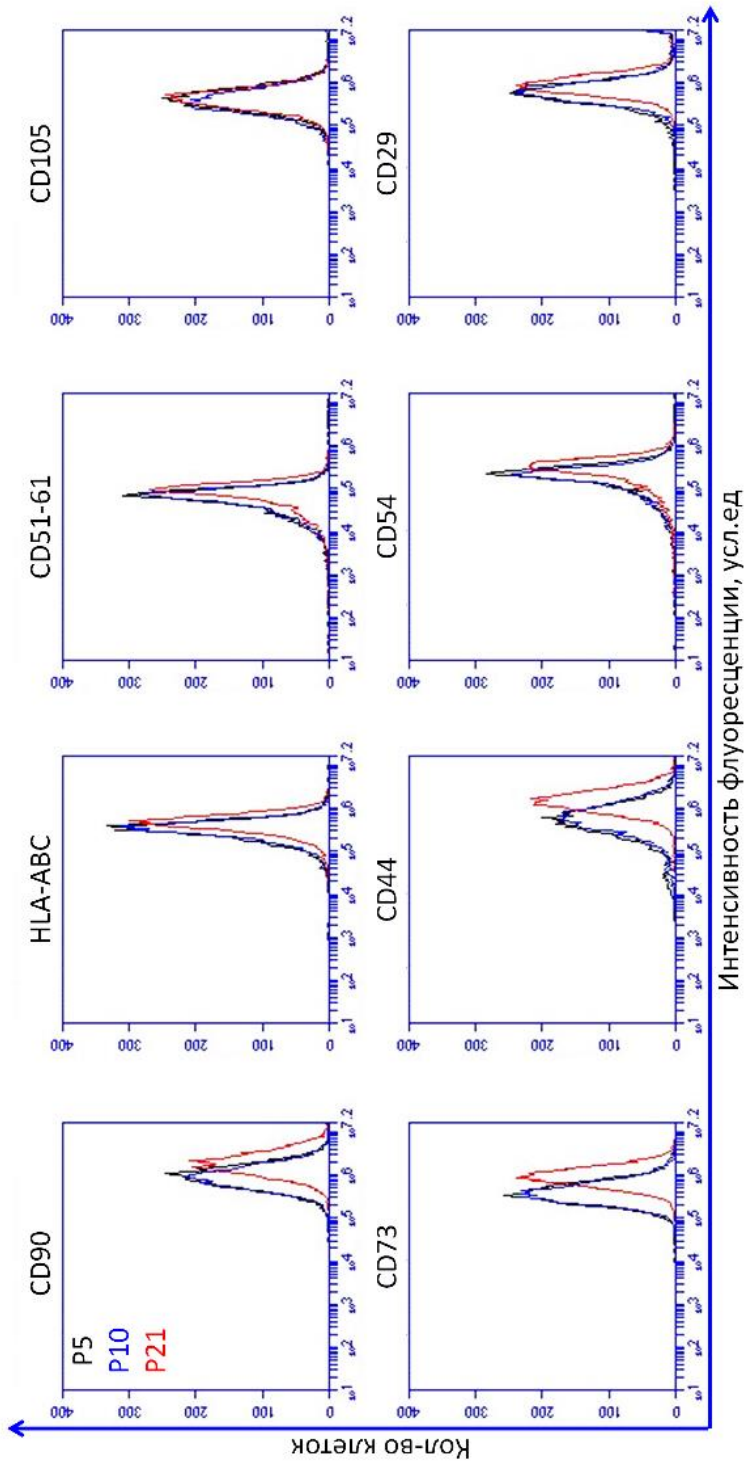

Рис. 2. Экспрессия поверхностных маркеров на МСК при длительном культивировании на различных пассажах: P5 и P10, а также P21 (при подтвержденном сенесцентном состоянии). Представлены данные репрезентативного эксперимента

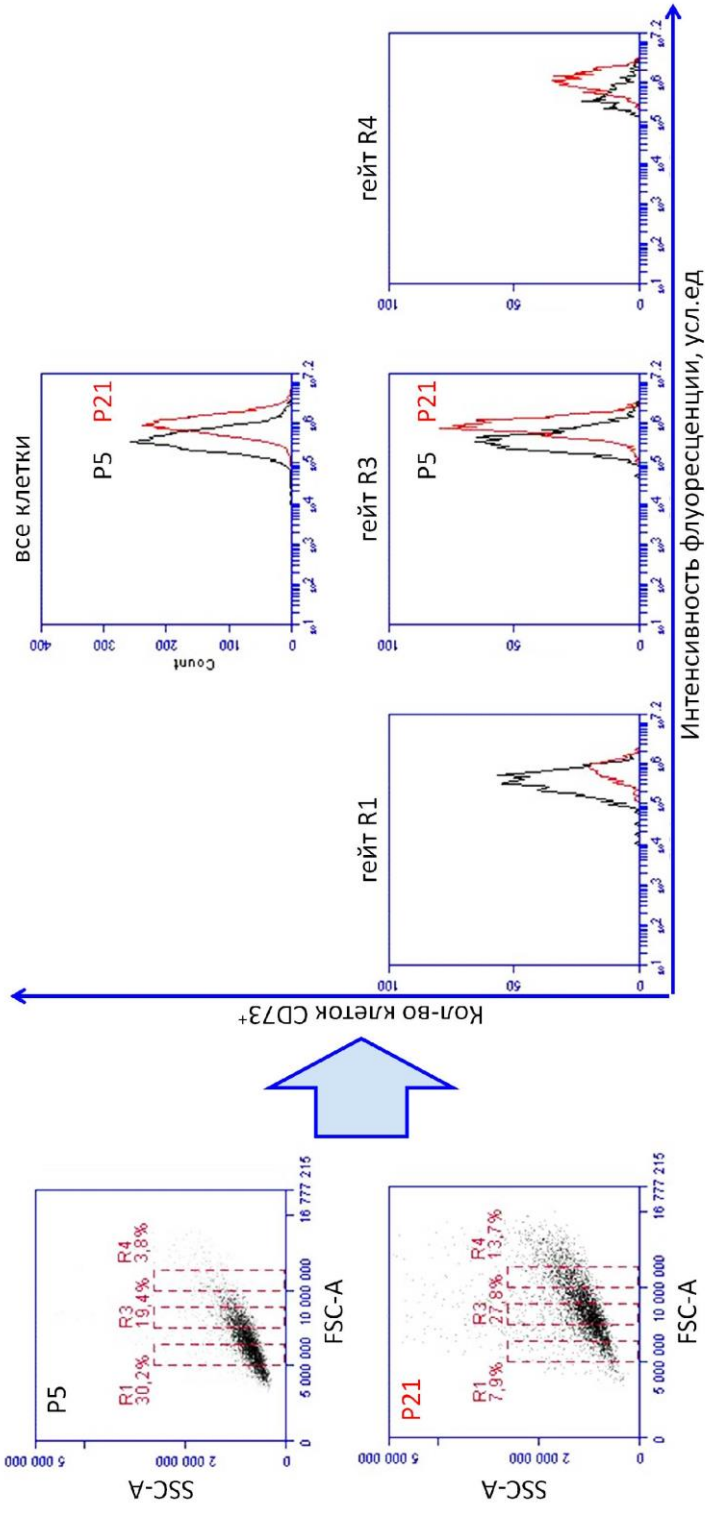

Рис. 3. Гейтирование МСК разных пассажей по размеру (гейт R3). Данный подход позволяет исключить из дальнейшего анализа все клетки, которые больше или меньше заданного диапазона. Проточная цитофлуориметрия, данные репрезентативного эксперимента

Данный подход позволил взять для дальнейшего анализа МСК одного размера и проводить сравнение между изучаемыми группами, минимизируя влияние морфологии до пренебрежимо малых величин. Сравнение МСК разных пассажей показывало сходные результаты несмотря на гейт, поэтому далее представлены данные только по среднему гейту – R3. На примере CD73 показано, что разница между сенесцентными и «молодыми» клетками по интенсивности флуоресценции сохраняется.

Проведено сравнение по всем исследуемым антигенам (табл. 1).

Табл. 1

Размер, аутофлуоресценция и экспрессия мембранных антигенов МСК при длительном культивировании. Коэффициент изменений отражает соотношение параметра на поздних и ранних пассажах. * – $p \leq 0.05$

Показатель	Гейт	Данные репрезентативного эксперимента			Коэффициент изменений по пяти экспериментам, среднее значение ± SD
		P2–6, усл. ед.× 10^3	P21–23, усл. ед. ×10^3	Коэффициент изменений (P21–23/P2–6)	
Средний FSC-A	Все клетки	7296	9454	1.30	**1.31 ± 0.02***
	Гейт R3	7629	7732	1.01	**1.01 ± 0.01**
Аутофлуоресценция	Все клетки	11	19	1.67	**1.62 ± 0.06***
	Гейт R3	12	14	1.18	**1.16 ± 0.03**
CD29	Все клетки	941	1362	1.45	**1.45 ± 0.01***
	Гейт R3	920	1122	1.22	**1.25 ± 0.04***
CD44	Все клетки	688	1805	2.62	**2.93 ± 0.44***
	Гейт R3	682	1397	2.05	**2.24 ± 0.27***
CD54	Все клетки	220	325	1.48	**1.74 ± 0.37***
	Гейт R3	229	265	1.16	**1.30 ± 0.20***
CD51/61	Все клетки	72	87	1.21	**1.29 ± 0.21**
	Гейт R3	77	74	0.97	**1.00 ± 0.04**
CD73	Все клетки	481	1089	2.26	**2.88 ± 0.87***
	Гейт R3	468	888	1.90	**2.28 ± 0.53***
CD90	Все клетки	1124	2415	2.15	**2.12 ± 0.04***
	Гейт R3	1117	1764	1.58	**1.50 ± 0.12***
CD105	Все клетки	489	503	1.03	**1.49 ± 0.65**
	Гейт R3	498	408	0.82	**1.10 ± 0.39**
HLA-ABC	Все клетки	355	497	1.40	**1.59 ± 0.27***
	Гейт R3	365	415	1.14	**1.32 ± 0.26***

По представленным данным репрезентативного эксперимента хорошо видно, что показатель FSC-A, отражающий размер клетки, увеличивается при репликативном старении на 30%. Гейтирование по R3 позволяет почти полностью нивелировать данный фактор. Также представлены данные по аутофлуоресценции. Средний уровень аутофлуоресценции МСК увеличивается при репликативном старении более чем на 60%. В теории этот фактор тоже мог бы

оказать влияние на результаты, дополнительно повышая уровень флуоресценции в группе P21–23. Тем не менее абсолютные значения аутофлуоресценции относительно малы, что позволяет пренебречь этим фактором. Гейтирование еще больше снижает разницу между клетками ранних и поздних пассажей. Клеточное старение ассоциировано с накоплением липофусцина, который и вносит основной вклад в повышение уровня флуоресценции.

К сожалению, пока сложно говорить о конкретных механизмах, лежащих в основе наблюдаемых изменений экспрессии поверхностных молекул. Вероятно, одним из индукторов может выступать так называемый секреторный фенотип, ассоциированный со старением (Senescence-Associated Secretory Phenotype, SASP). Известно, что он может отличаться в зависимости от типа клеток и при различных способах индукции клеточного старения, но для него характерно увеличение провоспалительной составляющей. Изменение содержания цитокинов в среде может модулировать внутриклеточные сигнальные пути, приводя к альтерациям в фенотипе. Тем не менее эту гипотезу еще предстоит проверить.

Таким образом, сравнение данных по гейтированным и негейтированным клеткам указывает на то, что размер МСК действительно оказывает значимое влияние на исследуемые параметры. В то же время обнаруженные закономерности сохраняются и при гейтировании по R3. Таким образом, клеточное старение приводит к значимому увеличению экспрессии CD29, CD44, CD54, CD73, CD90, HLA-ABC на поверхности жтМСК. При этом данный эффект обусловлен не только увеличением размера клетки, но и увеличением количества исследуемых антигенов на единицу площади клеточной мембраны. Наибольшее увеличение показано для антигенов CD44 и CD73. Обнаруженные изменения могут лежать в основе ряда модификаций свойств сенесцентных МСК, включая миграцию, адгезию, иммуномодуляторную и ангиогенную активности.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 21-75-10117).

Литература

1. *Pittenger M.F., Discher D.E., Péault B.M., Phinney D.G., Hare J.M., Caplan A.I.* Mesenchymal stem cell perspective: Cell biology to clinical progress // npj Regener. Med. 2019. V. 4, No 1. art. 22. doi: 10.1038/s41536-019-0083-6.
2. *Jovic D., Yu Y., Wang D., Wang K., Li H., Xu F., Liu C., Liu J., Luo Y.* A brief overview of global trends in MSC-based cell therapy // Stem Cell Rev. Rep. 2022. V. 18, No 5. P. 1525–1545. doi: 10.1007/s12015-022-10369-1.
3. *Ullah I., Subbarao R.B., Rho G.J.* Human mesenchymal stem cells – current trends and future prospective // Biosci. Rep. 2015. V. 35, No 2. art. e00191. doi: 10.1042/BSR20150025.
4. *Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop Dj., Horwitz E.* Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement // Cytotherapy. 2006. V. 8, No 4. P. 315–317. doi: 10.1080/14653240600855905.

5. *Elahi K.C., Klein G., Avci-Adali M., Sievert K.D., MacNeil S., Aicher W.K.* Human mesenchymal stromal cells from different sources diverge in their expression of cell surface proteins and display distinct differentiation patterns // Stem Cells Int. 2016. V. 2016. art. 5646384. doi: 10.1155/2016/5646384.
6. *Wright A., Arthaud-Day M.L., Weiss M.L.* Therapeutic use of mesenchymal stromal cells: The need for inclusive characterization guidelines to accommodate all tissue sources and species // Front. Cell Dev. Biol. 2021. V. 9. art. 632717. doi: 10.3389/fcell.2021.632717.
7. *Baker N., Boyette L.B., Tuan R.S.* Characterization of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in aging // Bone. 2015. V. 70. P. 37–47. doi: 10.1016/j.bone.2014.10.014.
8. *Dimmeler S., Leri A.* Aging and disease as modifiers of efficacy of cell therapy // Circ. Res. 2008. V. 102, No 11. P. 1319–1330. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.175943.
9. *Li Y., Wu Q., Wang Y., Li L., Bu H., Bao J.* Senescence of mesenchymal stem cells (Review) // Int. J. Mol. Med. 2017. V. 39, No 4. P. 775–782. doi: 10.3892/ijmm.2017.2912.
10. *Turinetto V., Vitale E., Giachino C.* Senescence in human mesenchymal stem cells: Functional changes and implications in stem cell-based therapy // Int. J. Mol. Sci. 2016. V. 17, No 7. art. 1164. doi: 10.3390/ijms17071164.
11. *Legzdina D., Romanauska A., Nikulshin S., Kozlovska T., Berzins U.* Characterization of senescence of culture-expanded human adipose-derived mesenchymal stem cells // Int. J. Stem Cells. 2016. V. 9, No 1. P. 124–136. doi: 10.15283/ijsc.2016.9.1.124.
12. *Ratushnyy A.Yu., Buravkova L.B.* Cell senescence and mesenchymal stromal cells // Hum. Physiol. 2020. V. 46, No 1. P. 85–93. doi: 10.1134/S0362119720010132.
13. *Ratushny A., Ezdakova M., Buravkova L.* Secretome of senescent adipose-derived mesenchymal stem cells negatively regulates angiogenesis // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21, No 5. art. 1802. doi: 10.3390/ijms21051802.
14. *Zuk P.A., Zhu M., Mizuno H., Huang J., Futrell J.W., Katz A.J., Benhaim P., Lorenz H.P., Hedrick M.H.* Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies // Tissue Eng. 2001. V. 7, No 2. P. 211–228. doi: 10.1089/107632701300062859.
15. *Ratushnyy A., Lobanova M., Buravkova L.* Expansion of adipose tissue-derived stromal cells at “physiologic” hypoxia attenuates replicative senescence // Cell Biochem. Funct. 2017. V. 35, No 4. P. 232–243. doi: 10.1002/cbf.3267.
16. *Ratushnyy A.Yu., Rudimova Y.V., Buravkova L.B.* Replicative senescence and expression of autophagy genes in mesenchymal stromal cells // Biochemistry (Moscow). 2020. V. 85, No 10. P. 1169–1177. doi: 10.1134/S0006297920100053.
17. *Chen J.-Y., Mou X.-Z., Du X.-C., Xiang C.* Comparative analysis of biological characteristics of adult mesenchymal stem cells with different tissue origins // Asian Pac. J. Trop. Med. 2015. V. 8, No 9. P. 739–746. doi: 10.1016/j.apjtm.2015.07.022.
18. *Campisi J., d’Adda di Fagagna F.* Cellular senescence: When bad things happen to good cells // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2007. V. 8, No 9. P. 729–740. doi: 10.1038/nrm2233.
19. *Wagner W., Horn P., Castoldi M., Diehlmann A., Bork S., Saffrich R., Benes V., Blake J., Pfister S., Eckstein V., Ho A.D.* Replicative senescence of mesenchymal stem cells: A continuous and organized process // PLoS ONE. 2008. V. 3, No 5. art. e2213. doi: 10.1371/journal.pone.0002213.
20. *Safwani W.K.Z.W., Makpol S., Sathapan S., Chua K.H.* The impact of long-term in vitro expansion on the senescence-associated markers of human adipose-derived stem cells // Appl. Biochem. Biotechnol. 2012. V. 166, No 8. P. 2101–2113. doi: 10.1007/s12010-012-9637-4.

21. *Liu J., Ding Y., Liu Z., Liang X.* Senescence in mesenchymal stem cells: Functional alterations, molecular mechanisms, and rejuvenation strategies // Front. Cell Dev. Biol. 2020. V. 8. art. 258. doi: 10.3389/fcell.2020.00258.

22. *Savickienė J., Baronaitė S., Zentelytė A., Treigyte G., Navakauskienė R.* Senescence-associated molecular and epigenetic alterations in mesenchymal stem cell cultures from amniotic fluid of normal and fetus-affected pregnancy // Stem Cells Int. 2016. V. 2016. art. 2019498. doi: 10.1155/2016/2019498.

23. *Jung E.M., Kwon O., Kwon K.S., Cho Y.S., Rhee S.K., Min J.K., Oh D.B.* Evidences for correlation between the reduced VCAM-1 expression and hyaluronan synthesis during cellular senescence of human mesenchymal stem cells // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2011. V. 404, No 1. P. 463–469. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.12.003.

24. *Gnani D., Crippa S., della Volpe L., Rossella V., Conti A., Lettera E., Rivis S., Ometti M., Fraschini G., Bernardo M.E., Di Micco R.* An early-senescence state in aged mesenchymal stromal cells contributes to hematopoietic stem and progenitor cell clonogenic impairment through the activation of a pro-inflammatory program // Aging Cell. 2019. V. 18, No 3. art. e12933. doi: 10.1111/acel.12933.

25. *Mun G.I., Boo Y.C.* Identification of CD44 as a senescence-induced cell adhesion gene responsible for the enhanced monocyte recruitment to senescent endothelial cells // Am. J. Physiol.: Heart Circ. Physiol. 2010. V. 298, No 6. P. H2102–2111. doi: 10.1152/ajpheart.00835.2009.

26. *Ke C., Chen J., Guo Y., Chen Z.W., Cai J.* Migration mechanism of mesenchymal stem cells studied by QD/NSOM // BBA, Biochim. Biophys. Acta, Biomembr. 2015. V. 1848, No 3. P. 859–868. doi: 10.1016/j.bbamem.2014.12.013.

27. *de Leve S., Wirsdörfer F., Jendrossek V.* Targeting the immunomodulatory CD73/adenosine system to improve the therapeutic gain of radiotherapy // Front. Immunol. 2019. V. 10. art. 698. doi: 10.3389/fimmu.2019.00698.

28. *Sauzay C., Voutetakis K., Chatziioannou A., Chevet E., Avril T.* CD90/Thy-1, a cancer-associated cell surface signaling molecule // Front. Cell Dev. Biol. 2019. V. 7. art. 66. doi: 10.3389/fcell.2019.00066.

Поступила в редакцию 05.10.2022
Принята к публикации 21.11.2022

Ратушный Андрей Юрьевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клеточной физиологии

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт медико-биологических проблем Российской академии наук

Хорошевское шоссе 76 А, Москва, 123007, Россия

E-mail: *ratushkin@mail.ru*

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2023, vol. 165, no. 2, pp. 216–230

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.216-230

Immunophenotype of Replicative Senescent Mesenchymal Stromal Cells

A.Yu. Ratushnyy
SSC RF – Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, 123007 Russia

E-mail: *ratushkin@mail.ru*
Received October 5, 2022; Accepted November 21, 2022

Abstract

Mesenchymal stromal cells (MSCs), a population of progenitor cells in adult tissues, are involved in the processes of physiological tissue renewal and damage-induced regeneration. MSCs have been widely studied as regenerative medicine agents. In this regard, the tissue-specific features of MSC subpopulations should be taken into account. MSCs have many potentially beneficial properties that can alter significantly with age. The ability of a cell to respond to external signals and regulate its functional state is commonly attributed to the repertoire of receptors on the cell membrane. This article considers the surface marker expression of senescent adipose-derived MSCs (AD-MSCs). Replicative senescence was caused by long-term cultivation. An increase in the expression of CD29, CD44, CD54, CD73, CD90, and HLA-ABC on the AD-MSCs was shown. The expression of CD105 and CD51/61 did not change reliably under the experimental conditions. The revealed effects are related not only to the larger cell size or higher autofluorescence, but also to the increased number of markers per unit area of the cell surface. The detected changes may underlie a number of modifications in the properties of senescent MSCs, including migration, adhesion, and immunomodulatory and angiogenic activities.

Keywords: mesenchymal stromal cells (MSCs), cell senescence, immunophenotype, flow cytometry

Acknowledgements. This study was supported by the Russian Science Foundation (project no. 21-75-10117).

Figure Captions

Fig. 1. Signs of MSC senescence and surface marker expression in long-term cultivation: a) – senescence-associated active β-galactosidase (SA-β-gal) in MSCs at early (P5) and late (P21) passages detected by light microscopy; b) – distribution of MSCs by size (FSC-A) and granularity (SSC-A) based on flow cytometry data. The results of a representative experiment are shown; c) – mean fluorescence intensity (MFI), which is associated with antigen expression on the MSC surface, at early (P2–6) and late (P21–23) passages. All data are reported as the mean value ± standard deviation, $n \geq 5$, * – $p \leq 0.05$.

Fig. 2. Expression of surface markers on MSCs in long-term cultivation at different passages: P5 and P10, as well as P21 (with confirmed senescence). The results of a representative experiment are shown.

Fig. 3. Size gating of MSCs at different passages (gate R3). In this approach, cells outside the specified size range, i.e., either larger or smaller, are excluded from further analysis. Flow cytometry, the results of a representative experiment.

References

1. Pittenger M.F., Discher D.E., Péault B.M., Phinney D.G., Hare J.M., Caplan A.I. Mesenchymal stem cell perspective: Cell biology to clinical progress. *npj Regener. Med.*, 2019, vol. 4, no. 1, art. 22. doi: 10.1038/s41536-019-0083-6.
2. Jovic D., Yu Y., Wang D., Wang K., Li H., Xu F., Liu C., Liu J., Luo Y. A brief overview of global trends in MSC-based cell therapy. *Stem Cell Rev. Rep.*, 2022, vol. 18, no. 5, pp. 1525–1545. doi: 10.1007/s12015-022-10369-1.
3. Ullah I., Subbarao R.B., Rho G.J. Human mesenchymal stem cells – current trends and future prospective. *Biosci. Rep.*, 2015, vol. 35, no. 2, art. e00191. doi: 10.1042/BSR20150025.
4. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop Dj., Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 2006, vol. 8, no. 4, pp. 315–317. doi: 10.1080/14653240600855905.
5. Elahi K.C., Klein G., Avci-Adali M., Sievert K.D., MacNeil S., Aicher W.K. Human mesenchymal stromal cells from different sources diverge in their expression of cell surface proteins and display distinct differentiation patterns. *Stem Cells Int.*, 2016, vol. 2016, art. 5646384. doi: 10.1155/2016/5646384.
6. Wright A., Arthaud-Day M.L., Weiss M.L. Therapeutic use of mesenchymal stromal cells: The need for inclusive characterization guidelines to accommodate all tissue sources and species. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2021. vol. 9. art. 632717. doi: 10.3389/fcell.2021.632717.
7. Baker N., Boyette L.B., Tuan R.S. Characterization of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in aging. *Bone*, 2015, vol. 70, pp. 37–47. doi: 10.1016/j.bone.2014.10.014.
8. Dimmeler S., Leri A. Aging and disease as modifiers of efficacy of cell therapy. *Circ. Res.*, 2008, vol. 102, no. 11, pp. 1319–1330. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.175943.
9. Li Y., Wu Q., Wang Y., Li L., Bu H., Bao J. Senescence of mesenchymal stem cells (Review). *Int. J. Mol. Med.*, 2017, vol. 39, no. 4, pp. 775–782. doi: 10.3892/ijmm.2017.2912.
10. Turinetto V., Vitale E., Giachino C. Senescence in human mesenchymal stem cells: Functional changes and implications in stem cell-based therapy. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, vol. 17, no. 7, art. 1164. doi: 10.3390/ijms17071164.
11. Legzdina D., Romanauska A., Nikulshin S., Kozlovska T., Berzins U. Characterization of senescence of culture-expanded human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Int. J. Stem Cells*, 2016, vol. 9, no. 1, pp. 124–136. doi: 10.15283/ijsc.2016.9.1.124.
12. Ratushnyy A.Yu., Buravkova L.B. Cell senescence and mesenchymal stromal cells. *Hum. Physiol.*, 2020, vol. 46, no. 1, pp. 85–93. doi: 10.1134/S0362119720010132.
13. Ratushnyy A., Ezdakova M., Buravkova L. Secretome of senescent adipose-derived mesenchymal stem cells negatively regulates angiogenesis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020,vol. 21, no. 5, art. 1802. doi: 10.3390/ijms21051802.
14. Zuk P.A., Zhu M., Mizuno H., Huang J., Futrell J.W., Katz A.J., Benhaim P., Lorenz H.P., Hedrick M.H. Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.*, 2001, vol. 7, no. 2, pp. 211–228. doi: 10.1089/107632701300062859.
15. Ratushnyy A., Lobanova M., Buravkova L. Expansion of adipose tissue-derived stromal cells at “physiologic” hypoxia attenuates replicative senescence. *Cell Biochem. Funct.*, 2017, vol. 35, no. 4, pp. 232–243. doi: 10.1002/cbf.3267.
16. Ratushnyy A.Yu., Rudimova Y.V., Buravkova L.B. Replicative senescence and expression of autophagy genes in mesenchymal stromal cells. *Biochemistry* (Moscow), 2020, vol. 85, no. 10, pp. 1169–1177. doi: 10.1134/S0006297920100053.
17. Chen J.-Y., Mou X.-Z., Du X.-C., Xiang C. Comparative analysis of biological characteristics of adult mesenchymal stem cells with different tissue origins. *Asian Pac. J. Trop. Med.*, 2015, vol. 8, no. 9, pp. 739–746. doi: 10.1016/j.apjtm.2015.07.022.

18. Campisi J., d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence: When bad things happen to good cells. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2007, vol. 8, no. 9, pp. 729–740. doi: 10.1038/nrm2233.
19. Wagner W., Horn P., Castoldi M., Diehlmann A., Bork S., Saffrich R., Benes V., Blake J., Pfister S., Eckstein V., Ho A.D. Replicative senescence of mesenchymal stem cells: A continuous and organized process. *PLoS ONE*, 2008, vol. 3, no. 5, art. e2213. doi: 10.1371/journal.pone.0002213.
20. Safwani W.K.Z.W., Makpol S., Sathapan S., Chua K.H. The impact of long-term in vitro expansion on the senescence-associated markers of human adipose-derived stem cells. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2012, vol. 166, no. 8, pp. 2101–2113. doi: 10.1007/s12010-012-9637-4.
21. Liu J., Ding Y., Liu Z., Liang X. Senescence in mesenchymal stem cells: Functional alterations, molecular mechanisms, and rejuvenation strategies. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2020, vol. 8, art. 258. doi: 10.3389/fcell.2020.00258.
22. Savickienė J., Baronaitė S., Zentelytė A., Treigyte G., Navakauskienė R. Senescence-associated molecular and epigenetic alterations in mesenchymal stem cell cultures from amniotic fluid of normal and fetus-affected pregnancy. *Stem Cells Int.*, 2016, vol. 2016, art. 2019498. doi: 10.1155/2016/2019498.
23. Jung E.M., Kwon O., Kwon K.S., Cho Y.S., Rhee S.K., Min J.K., Oh D.B. Evidences for correlation between the reduced VCAM-1 expression and hyaluronan synthesis during cellular senescence of human mesenchymal stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2011, vol. 404, no. 1, pp. 463– 469. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.12.003.
24. Gnani D., Crippa S., della Volpe L., Rossella V., Conti A., Lettera E., Rivis S., Ometti M., Fraschini G., Bernardo M.E., Di Micco R. An early-senescence state in aged mesenchymal stromal cells contributes to hematopoietic stem and progenitor cell clonogenic impairment through the activation of a pro-inflammatory program. *Aging Cell*, 2019, vol. 18, no. 3, art. e12933. doi: 10.1111/acel.12933.
25. Mun G.I., Boo Y.C. Identification of CD44 as a senescence-induced cell adhesion gene responsible for the enhanced monocyte recruitment to senescent endothelial cells. *Am. J. Physiol.: Heart Circ. Physiol.*, 2010, vol. 298, no. 6, pp. H2102–2111. doi: 10.1152/ajpheart.00835.2009.
26. Ke C., Chen J., Guo Y., Chen Z.W., Cai J. Migration mechanism of mesenchymal stem cells studied by QD/NSOM. *BBA, Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.*, 2015, vol. 1848, no. 3, pp. 859–868. doi: 10.1016/j.bbamem.2014.12.013.
27. de Leve S., Wirsdörfer F., Jendrossek V. Targeting the immunomodulatory CD73/adenosine system to improve the therapeutic gain of radiotherapy. *Front. Immunol.*, 2019, vol. 10, art. 698. doi: 10.3389/fimmu.2019.00698.
28. Sauzay C., Voutetakis K., Chatziioannou A., Chevet E., Avril T. CD90/Thy-1, a cancer-associated cell surface signaling molecule. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2019, vol. 7, art. 66. doi: 10.3389/fcell.2019.00066.

***Для цитирования*:** *Ратушный Ю.А.* Иммунофенотип мезенхимальных стромальных клеток при репликативном старении // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2023. Т. 165, кн. 2. С. 216–230. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.216-230.

***For citation*:** Ratushnyy A.Yu. Immunophenotype of replicative senescent mesenchymal stromal cells. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2023, vol. 165, no. 2, pp. 216–230. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.216-230. (In Russian)

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ КАЗАНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА.
СЕРИЯ ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

2023, Т. 165, кн. 2
С. 231–262

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

УДК 58.07

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.231-262

РАСТИТЕЛЬНЫЙ МИКРОБИОМ: ПРОИСХОЖДЕНИЕ, СОСТАВ И ФУНКЦИИ

Г.Ш. Галиева, П.Ю. Галицкая, С.Ю. Селивановская

Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

Аннотация

Микроорганизмы играют важную роль для роста и развития растения на всех этапах его жизни. Современные методы молекулярно-биологического анализа позволили значительно углубить понимание о составе и функциях эпифитной, ризосферной и эндосферной микробиоты и выявить механизмы ряда процессов. В настоящем обзоре рассмотрены виды микробных сообществ, связанных с растениями, описаны источники их происхождения, представлен видовой состав, продемонстрирована роль таких сообществ в формировании иммунного ответа растений при воздействии фитопатогенов, в улучшении элементного питания растений, в отпугивании травоядных животных, в выработке фитогормонов, в способности растений развиваться в экстремальных условиях окружающей среды.

Ключевые слова: фитобиом, ризосферный микробиом, филлосферный микробиом, эпифитный микробиом, эндосферный микробиом, микориза, вертикальный и горизонтальный перенос эндофитных микроорганизмов, фитогормоны, иммунный ответ растений, питание растений, фитопатогены.

1. Виды микробных сообществ, связанных с растениями

Согласно современным представлениям, растения рассматриваются как холобионты – метаорганизмы, состоящие из собственно растения и связанных с ним микроорганизмов, протист, простейших и некоторых других видов, в эволюционном отборе которых растение участвует с целью получения выгоды и достижения общей стабильности системы [1].

Организмы, обитающие в большом количестве в зоне влияния, на и внутри растений, составляют фитобиом растений, основной составляющей которого являются микроорганизмы – прежде всего бактерии, а также микроскопические грибы. Кроме того, растительный фитобиом включает таксоны вирусов, архей, которые являются постоянными членами сообщества и способны влиять на структуру фитобиомов, однако на данный момент их функция в растительной среде до конца не изучена [2]. Представители фитобиома коммуницируют, влияют друг на друга посредством круговорота питательных веществ, химического антагонизма или прямого хищничества. Взаимодействия устанавливаются, регулируются, подавляются посредством производства и восприятия физических и химических сигналов [1, 2]. Бактерии и микроскопические грибы, позволяющие растению увеличивать интенсивность своего роста, бороться с

патогенами или противостоять им, объединены в группы PGPB и PGPF соответственно (plant growth promoting bacteria and fungi) [3–5].

Поскольку фитобиом напрямую влияет на функционирование растений, в частности их урожайность, вопросы, связанные с его составом и свойствами, активно изучаются учеными в течение десятилетий. Однако появление методов молекулярной биологии позволило значительно углубить и скорректировать имеющийся пул знаний [6].

Именно управление фитобиомом растений, основанное на понимании сложных эволюционных и экологических механизмов его функционирования и взаимодействия с растениями, рассматривается в настоящее время как перспективный и практически безальтернативный способ повышения урожайности в сельском хозяйстве, требуемого в связи с недостатком площадей пахотных почв и значительным ростом народонаселения [7, 8]. В настоящем обзоре рассмотрены вопросы разнообразия и роли эндофитных популяций, а также сложные взаимодействия эндофитов с растением и наоборот, включая взаимодействия, ведущие к колонизации растений. Представлено описание биотических и абиотических факторов, влияющих на эндофитные бактериальные сообщества.

2. Экологические ниши фитобиома

Разные органы и ткани растений представляют собой отдельные ниши для фитобиома. Более всего по своим физико-химическим и биологическим характеристикам различаются подземные и надземные ниши. Внутри каждой из них выделяются зоны, более или менее подверженные влиянию выделений растений (в частности корневых экссудатов), более или менее освещенные, насыщенные влагой и пр. [7].

Подземная часть растения представлена корнем, и микроорганизмы могут обитать как непосредственно на нем (ризоплана), так и в тончайшем слое почвы, непосредственно примыкающем к нему и связанном с ним обменом химическими соединениями (экссудатами и продуктами микробной жизнедеятельности) (ризосфера). Надземная ниша (филлосфера) подразделяется на ряд подниш в зависимости от частей и органов растений – стеблей, листьев, цветов, плодов – каулосферу, филлоплану, антосферу и капросферу соответственно. Как в наземной, так и в подземной нишах микроорганизмы могут обитать снаружи (эпифиты) и внутри (эндофиты) растительных тканей (рис. 1) [1].

В результате сложных взаимодействий между хозяином, микроорганизмами и окружающей средой в указанных нишах формируются разные по составу и функциям микробные сообщества, объединяемые в ризосферную (ризоплановую и собственно ризосферную), филлосферную (филлоплановую и собственно филлосферную) и эндосферную (внутрикорневую, внутрилистовую, внутристеблевую, внутрисеменную и пр.) микрофлору. Интересную группу представляют собой симбионтные микроскопические грибы, формирующие с корнем растения систему – микоризу, позволяющие ему улучшить обеспечение водой, элементами питания, противостоять патогенам и экстремальным факторам среды (засуха, засоленность, загрязненность). Микоризные грибы могут обитать как снаружи, так и внутри корня (экто- и эндомикориза), а также одновременно и там, и там [2, 6 ,9].

Наибольшим количеством и разнообразием микроорганизмов обладают ризосфера и ризоплана (табл. 1). В 1 г ризосферной почвы содержится 10^7–10^9

бактериальных и 10^4–10^5 грибных КОЕ, или 10^6–10^{12} копий генов бактериальных 16S рРНК и 10^3–10^8 копий генов грибных 18S рРНК, а индекс разнообразия Шеннона изменяется в диапазоне 2.5–6.8 и 3.1–3.7 соответственно [2, 8, 10–14]. Бактерии представлены широким разнообразием таксонов – *Protebacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria, Cyanobacteria, Planctomycetes, Verrucomicrobia, Gemmatimonadetes, Acidobacteria*, среди микромицетов преобладают - *Ascomycetes* (порядка 75%) и *Basidiomycetes* (порядка 20%), имеются представители других таксонов (порядка 5%) [8].

Структура растительного фитобиома представлена на рис. 1.

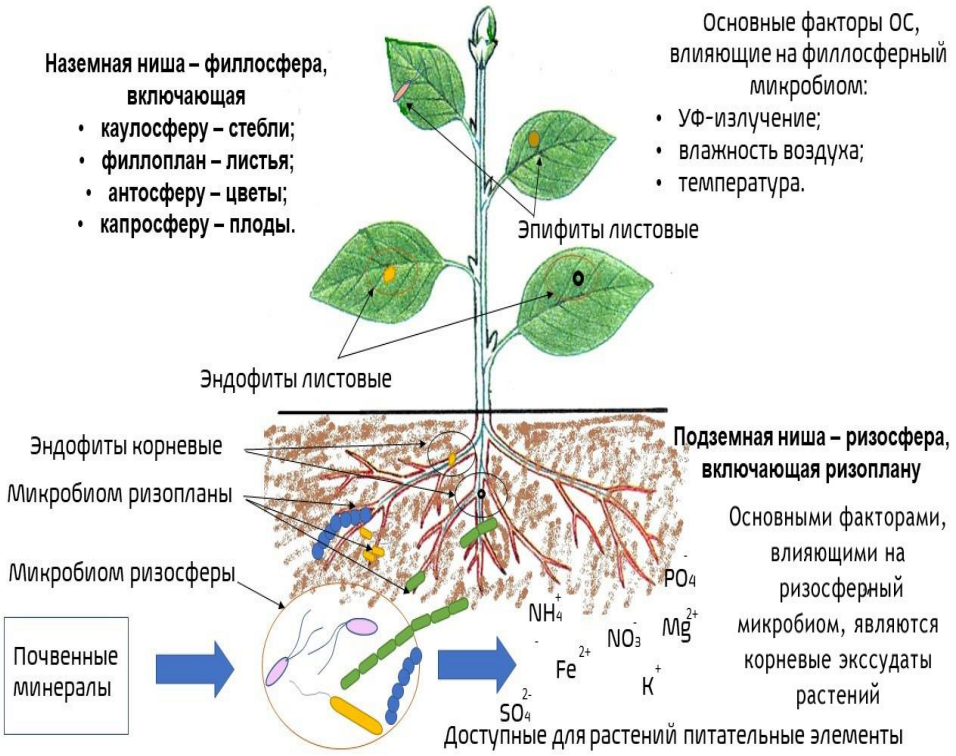

Рис. 1. Структура растительного фитобиома

Филлосфера растений более подвержена влияниям окружающей среды, чаще всего обогащена *Proteobacteria*, а также *Firmicutes, Bacteroidetes* и *Actinobacteria* [15, 16]. В филлосфере количество бактерий составляет 10^2–10^5 КОЭ/г свежего листа или 10^2–10^7 16S рРНК копий ген/г свежего листа [2, 15] в зависимости от климатических условий произрастания растений. Индекс разнообразия Шеннона может изменяться в диапазоне 2.2–4.1 [14, 17]. В грибном филлосферном сообществе увеличивается доля *Ascomycetes* до 95% [8]. Количество грибов определяется на уровне 10^1 КОЭ*см^2 листа или 10^1–10^3 18S рРНК копий ген/г свежего листа [2, 19], при этом индекс разнообразия Шеннона может изменяться в диапазоне 1.5–2.2 [12, 14].

В корневой эндосфере численность эндофитных бактерий и грибов изменяется в диапазоне 10^5–10^7 и 10^1 КОЕ/г свежих корневых тканей соответственно [11, 20], индекс разнообразия Шеннона может составлять при этом 3.5 и

от 0.25 до 2.2 соответственно [12, 21, 22]. Отмечается, что количество бактериальных генов составляет от 10^5 до 10^7 16S рРНК копий/г свежей корневой ткани [11, 20]. Данные о количестве грибных копий генов в эндосфере корней растений практически отсутствуют в научной литературе [12, 21, 22]. Среди бактерий доминируют *Protebacteria* (до 50%), однако представлены и *Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Acidobacteria*, определены и другие типы бактерий – *Chloroflexi, Cyanobacteria, Armatimonadetes, Verrucomicrobia, Planctomycetes* и *Nitrospirae*, которые представляют меньшую часть сообщества [11, 23–25]. У микромицетов распределение таксонов сходно с таковым в ризосфере, за исключением того, что суммарно на долю *Ascomycota* и *Basidiomycota* приходится более 98% организмов. Важнейшие для функционирования растений арбускулярные микоризные грибы, в основном относящиеся к подтипу *Glomeromycotina*, крайне немногочисленны (менее 2%) [8].

Табл. 1

Количественные данные о бактериальных и грибных сообществах, ассоциированных с растениями

Микробные сообщества	Бактерии			Грибы		
	Количество		Индекс разнообразия Шеннона	Количество		Индекс разнообразия Шеннона
	КОЕ	16S рРНК копий ген		КОЕ	18S рРНК копий ген	
Ризосфера	10^7–10^9 $г^{-1}$ ризосферной почвы [11]	10^6–10^{12} $г^{-1}$ почвы [2]	2.5–6.8 [8, 13]	10^4–10^5 $г^{-1}$ ризосферной почвы [11]	10^3–10^8 $г^{-1}$ свежего листа [2]	3.1–3.7 [12, 14]
Филлосфера	10^2–10^5 $г^{-1}$ свежего листа [15]	10^2–10^7 $г^{-1}$ свежего листа [2, 15]	2.2–4.1 [14, 17]	10^1 $см^2$ листа [19]	10^1–10^3 $г^{-1}$ свежего листа [2]	1.5–2.2 [12, 14]
Эндофиты корня	10^5–10^7 $г^{-1}$ свежей массы корня [11]	до 10^9 $г^{-1}$ свежей массы корня [26]	3.5 [21]	10^1 $г^{-1}$ свежей массы корня [20]	10^1 * [12]	0.25–2.2 [12, 22]
Эндофиты листа	10^3–10^4 $г^{-1}$ свежей массы листа [11]	до 10^8 $г^{-1}$ свежей массы листа [26]	1.8–3.6 [13, 21]	10^{-2} $см^2$ листа [19]	10^1 * [12]	0.1–1.8 [12, 22]

В листовой эндосфере численность бактерий и грибов колеблется в пределах 10^3–10^4 КОЕ/г свежей массы листа и 10^{-2} КОЕ/$см^2$ листа соответственно [11, 19], а индекс разнообразия Шеннона может изменяться от 1.8 до 3.6 и от 0.1 до 1.8 соответственно [12, 13, 21, 22]. При этом в целом в эндосфере пре-

обладают таксоны бактерий *Protebacteria* (50% и более), при этом суммарная доля *Ascomycota* и *Basidiomycota*в грибном эндофитном микробиоме увеличивается до 99% [8].

Следует отметить, что кроме физико-химических и биотических факторов экологических ниш на фитобиом влияют генетические особенности и стадия развития растения, а также географическое положение, климат, тип и свойства почвы, на которой оно произрастает [23].

3. Основной и дополнительный микробиом; виды-хабы

Использование методов молекулярной биологии для изучения растительных микробиомов позволило не только получить представление об их видовом и генетическом разнообразии, но и выявить ряд закономерностей. В частности, было установлено, что в микробиомах растений одного вида вне зависимости от условий их произрастания присутствует ряд одних и тех же микроорганизмов, на долю которых приходится до 75% от общего количества видов в фитобиоме [27]. Указанные постоянно ассоциированные с растением микроорганизмы были объединены в понятие «основной микробиом растений» (core plant microbiome) (рис. 2).

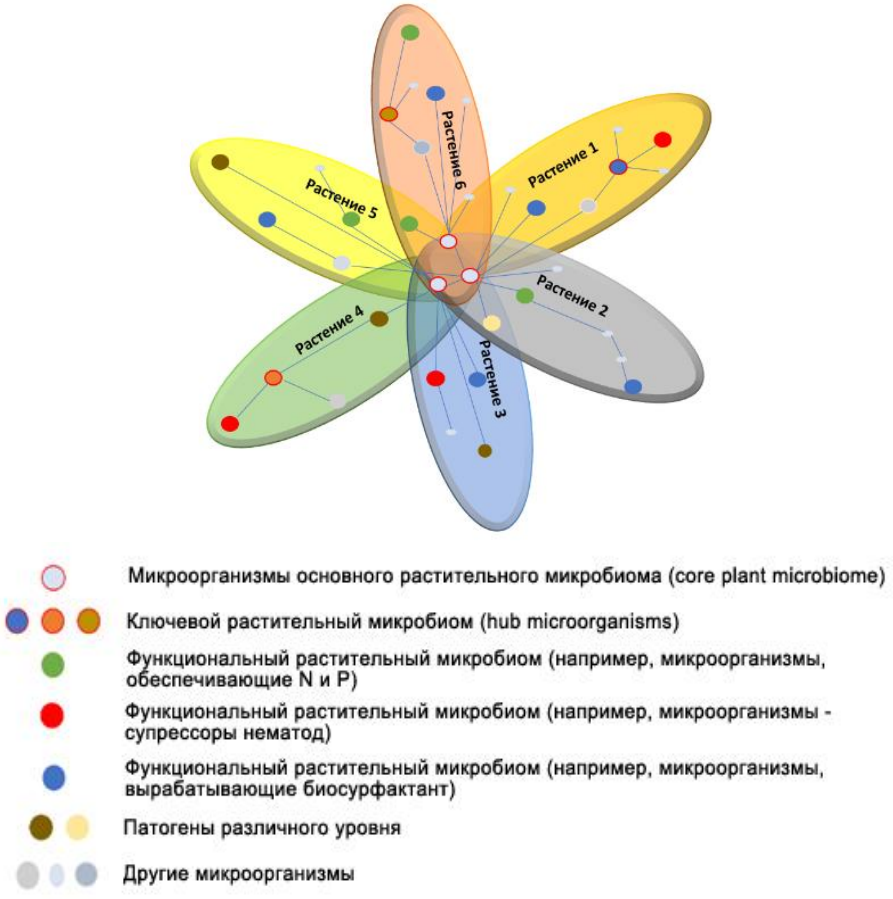

Рис. 2. Члены микробных сообществ, ассоциированных с растениями: основные, дополнительные, виды-хабы, виды-сателлиты

Микроорганизмы основного микробиома являются критически важными для питания, защиты и благополучия растений в целом, причем они могут выполнять функции как непосредственно, так и путем формирования связей с микроорганизмами неосновного (дополнительного) микробиома. Механизмы формирования и стабильности основного микробиома растений не изучены полностью, однако предполагаются как минимум два из них: передача части важных для растений микроорганизмов внутри семени, эволюционно сформированная селекция и обогащение из окружающей среды (почвы или воздуха) [8, 28]. Источниками формирования дополнительного микробиома являются пулы в окружающей среде (почве, воде, воздухе), при этом заселение и/или проникновение микроорганизмов в растение может быть как направленным (привлечение сигнальными молекулами, выработка специфичных ферментов бактериями, способствующими разрушению клеточной стенки растений, использование эндофитами систем секреции белков, отличных от патогенных микроорганизмов), так и случайным (через микротрещины и раны) [11, 23].

Наряду с понятием основного растительного микробиома в публикациях последних лет часто используется понятие ключевых видов, или видов-хабов. И хотя множества микроорганизмов основного микробиома и видов-хабов зачастую пересекаются, понятия эти принципиально различны, поскольку принадлежность к основному микробиому определяется количеством и присутствием видов, а принадлежность к хабам – их функциями. Так, виды-хабы – это микроорганизмы, которые могут присутствовать в фитобиоме как в минорных, так и в доминирующих количествах, но основной их характеристикой является способность формировать консорциумы с другими видами (сателлитами), влияя на их обилие и функции. Alexandre Jousset с соавторами [29] в своем обзоре показал, что некоторые редкие виды микробиома могут играть сверхпропорциональную роль в биогеохимических циклах и могут быть двигателями функционирования микробиома – такие редкие виды тоже относятся к хабам. Виды-хабы могут присутствовать как в дополнительном, так и в основном микробиоме растений, при этом их доля в основном, как правило, выше [29–31].

С точки зрения видов межпопуляционных взаимодействий фитобиом состоит из полезных, нейтральных и вредных (патогенных) для растения микроорганизмов. Преимущества, получаемые растением-хозяином от полезных микроорганизмов, могут быть прямыми, включая преобразование и перемещение основных питательных элементов в почве, синтез фитогормонов или защиту от патогенов, а также опосредованными, такими как, например, усиление реакций устойчивости (иммунитета) растений или смягчение экологических стрессов, например, засухи, воздействия тяжелых металлов [11].

В целом представление об основном микробиоме растений и ключевых для его функционирования видах-хабах является крайне важным для понимания экологии растений, а также управления растительными метаорганизмами, в частности при разработке удобрений и биопрепаратов для сельского хозяйства [1, 29, 32, 33].

4. Ризосферные микроорганизмы

Ризосферу определяют как область почвы, где процессы, опосредованные микроорганизмами, находятся под особым влиянием корневой системы, в частности корневых экссудатов – аминокислот, жирных кислот, фенолов, регу-

ляторов роста, формирующих так называемый ризосферный эффект, привлекающий микроорганизмы из почвы [34, 35]. Сама почва, являясь уникальной нишей для развития и сосуществования аэробных и анаэробных микроорганизмов, представляет собой самый большой «банк-хранилище» микробиологического разнообразия на планете [23, 36]. Таким образом, множество микроорганизмов ризосферы является подмножеством микроорганизмов почвы, в которой произрастает растение. Действительно, показано, что к основным бактериальным таксонам почвы относятся *Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, Bacteriodetes, Verrucomicrobia, Firmicutes, Cyanobacteria*, а ризосферы – *Proteobacteria*. К основным грибным типам почвы относятся *Ascomycetes* и *Basidiomycetes*, а ризосферы – *Basidiomycetes* [7, 37–39]. При этом состав сообществ на уровне операционных таксономических единиц в почве и ризосфере сходен [38, 39].

Ризосферные микроорганизмы и растения-хозяева взаимодействуют благодаря сложному набору выделяемых ими химических соединений. К важным корневым экссудатам растений, вызывающим хемотаксис бактерий, относятся стриголактоны и флавоноиды, распространенные, в частности, у бобовых. Растения также способны вырабатывать биомолекулы для привлечения полезного грибного сообщества. В исследовании Rozpadek et al. [40] показано, что стриголактоны, секретируемые корнями *Arabidopsis thaliana*, действует как сигнальная молекула для их колонизации грибами вида *Mucor*.

Микроорганизмы, например, бактерии родов *Azospirillum, Bacillus, Beijerinckia, Bradyrhizobium, Erwinia, Enterobacter, Herbaspirillum* и *Gluconoacetobacter*, осуществляют окисление, растворение или хелатирование минералов, превращение их в доступные для растений соединения фосфора, азота, калия, микроэлементов, фиксируют атмосферный азот (табл. 2) [8, 39]. Для повышения эффективности колонизации корней бактерии (ризобии, псевдомонады и др.) способны вырабатывать экзополисахариды и олигосахариды, способствующие образованию клубеньков и созданию биопленок [41, 42].

Ризосферные микроорганизмы также вырабатывают специфические амфифильные (гиброфильно-гидрофобные) вещества – биосурфактанты, которым в последнее время уделяется значительное внимание исследователей в связи с возможностью их использования в различных биотехнологиях – от добычи нефти до кондитерского дела [43, 44]. Цели синтеза биосурфактантов у микроорганизмов ризосферы различны – это формирование биопленок, нарушение мембран и угнетение подвижности видов-конкурентов и видов-хищников, взаимодействие с растением-хозяином и др. [45, 46]. Биосурфактанты, способны защитить растение-хозяина от широкого спектра фитопатогенов, поскольку они являются структурно разнообразными активными противомикробными соединениями [47].

Помимо антимикробной активности биосурфактанты известны своей способностью усиливать разложение химических инсектицидов и пестицидов, существующих или накапливающихся в сельскохозяйственных почвах [43]. Исследование [48] продемонстрировало, что биосурфактант, синтезируемый *Bacillus subtilis* MTCC1427, значительно увеличивает разложение эндосульфана в почве. Показана значительная противогрибковая активность ризосферного бактериального изолята *Bacillus altitudinis MS16* в отношении *Colletotrichum*

gloeosporioides и *Sclerotinia sclerotiorum*, что открывает возможность использования штамма в биофунгицидах [44].

Табл. 2

Функции ассоциированных с растениями микробных сообществ, занимающих различные экологические ниши

Функции фитобиома	Растительный микробиом			
	Ризосфера		Филлосфера	Эндосфера (надземной и подземной частей растений)
		в том числе микориза		
Обеспечение азотом	++	+++		+
Обеспечение фосфором	++	+++		+
Хелатирование минералов	++	+		+
Подавление фитопатогенов (выработка антибиотиков, фунгицидов, инсектицидов)	+	+++	+	++
Выделение биосурфактантов	++	+	++	+
Улучшение структуры почвы	+	+++		
Снижение стрессовых факторов окружающей среды растения (засуха, засоление, холод)	+	+	+	+++
Производство фитогормонов	+	++		+++
Отпугивание травоядных		+	+	+

Сообщества ризосферных микроорганизмов распределены неоднородно как во времени, так и в пространстве. На различных стадиях роста растение выделяет различные количества экссудатов, поэтому состав сообществ, находящихся под влиянием этих экссудатов, меняется. Так, например, показано, что в корневой зоне молодых растений доминируют грамотрицательные бактерии родов *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Azotobacter*, которые по мере старения растений сменяются грамположительными – бактериями рода *Bacillus* и актинобактериями родов *Mycobacterium*, *Streptomyces*. Таким образом, бактерии, питающиеся корневыми экссудатами, заменяются на бактерии-гидролитики, разлагающие корневой опад, отмершие корешки, микробную биомассу [49]. Ризосферный эффект увеличивается после прорастания семени и достигает максимума в период цветения и плодоношения растений [50].

Колонизация бактериями корневых зон зависит от подвижности бактерий, наличия биохимических процессов, способствующих метаболизму экссудатов корней растений, а также скорости роста самих бактерий [51]. Кроме того, бактерии с различной успешностью колонизируют те или иные участки корня (корневые волоски, главный или боковые корни). Обилие нарастает в области молодых верхушечных корней, где происходит максимальное выделение растворимых органических соединений [52, 53]. Установлено, что гены, кодирующие белки, участвующие в бактериальном хемотаксисе, сборке жгутиков, бактериальной подвижности, образовании биопленок, бактериальной секреции и двухкомпонентных регуляторных системах, широко распространены в мик-

роорганизмах и микробных сообществах, обнаруживаемых в ризосфере [8]. Наличие генов устойчивости к антибиотикам является еще одной из характерных особенностей ризосферных бактерий [54].

Ризосферные грибы дополнительно к описанным выше общим для всех ризосферных микроорганизмов функциям играют следующие роли: а) своеобразных «дополнительных корней» и б) средообразователей (табл. 2) [14]. Наиболее важными ризосферными грибами являются грибы микоризы, образующие сложную систему симбиотических связей с корнями растений [55]. Микоризные грибы могут образовывать структуры либо снаружи (эктомикориза), либо внутри (эндомикориза) корней, кроме того, описано много случаев, когда часть грибного организма находится внутри клеток корней растений, тогда как другая часть прорастает наружу. Таким образом, в случае микоризных грибов провести жесткое разделение между ризосферными и эндосферными корневыми организмами сложно. Как «дополнительные корни» гифы микоризных грибов позволяют корням контактировать с большим объемом почвы по сравнению с тем, который охватывают собственно корневые волоски. Они помогают растению увеличить поглощение питательных веществ в целом, способствуют селективному поглощению ряда ионов, при этом выполнение данных функций осуществляется и в экстремальных для растения условиях окружающей среды, тем самым позволяя ему противостоять стрессу [56]. Как средообразователи наружные гифы микоризных грибов способны выделять гломалин и гликопротеин, которые агрегируют частицы почвы, увеличивая влагостойкость почвенных агрегатов и улучшая структуру почвы [57]. Некоторые виды микоризных грибов увеличивают солюбилизацию питательных веществ, таких как фосфор, участвуют в доставке азота из почвенного органического вещества растениям-хозяевам [58]. Интересно, что характер экссудации растений может измениться после колонизации микоризными грибами, что повлияет на микробные и макрофаунистические сообщества ризосферы [57].

Необходимо выделить особых представителей эндомикоризных ризосферных грибов – арбускулярные грибы, которые присутствуют в корнях большинства наземных, пастбищных и мангровых растений [59]. Арбускулярные микоризные грибы способны повышать доступность питательных веществ за счет транспорта через мицелий и специализированные структуры, называемые арбускулами, непосредственно в цитоплазму хозяина, а также превращать аргинин в мочевину и далее в NH_4^+, увеличивая тем самым доступность азота для растений [8, 42, 56].

5. Микроорганизмы поверхности наземных частей растений (эпифиты филлосферы)

Микробиом поверхности листьев и других наземных частей растений разнообразен и включает множество родов бактерий, мицеллярных грибов, дрожжей, реже водорослей, простейших. Эпифиты сталкиваются с экстремальной и нестабильной средой, которая оказывает непосредственное влияние на их разнообразие и обилие. Основными абиотическими факторами, оказывающими воздействие на эпифитные сообщества, являются ультрафиолетовое излучение и относительная влажность воздуха, возраст и положение листьев, к основным же биотическим факторам относится наличие патогенов и вредителей [60]. В качестве питательных субстратов микроорганизмы филлосферы используют

простые сахара, например, глюкозу, фруктозу, сахарозу, выщелачиваемые из внутренних частей растений. Именно поэтому сообщества этих микроорганизмов сосредоточены в местах локализации питательных субстратов – трихом, устьиц и пр. [61].

Бактерии являются самыми многочисленными представителями эпифитной микробиоты. Интересно, что популяции бактерий различаются среди растений одного и того же вида и в течение вегетационного периода, что обусловлено значительными колебаниями физических условий и ограничениями доступа к питательным элементам в течение жизни растения [6].

Для приспособления к факторам среды бактерии филлосферы выработали ряд механизмов. Так, для защиты от ультрафиолетового излучения многие представители этой группы пигментированы [62]. Другим способом защиты от ультрафиолета является механизм репарации ДНК, выявленный, например, у одного из наиболее изученных представителей эпифитной микрофлоры *P. syringae*. Показано, что толерантность данного вида к ультрафиолетовому излучению была связана с индуцируемыми таким излучением плазмидными генами *rulAB*, обеспечивающими репарацию [61]. Для закрепления и перемещения на поверхности листьев и стеблей растений-хозяев, а также для повышения доступности элементов питания и борьбы с конкурентами эпифитные микроорганизмы вырабатывают биосурфактанты. Покрытие листьев этими веществами выгодно и для самих растений, поскольку оно увеличивает смачиваемость листьев (табл. 2) [16, 61, 63].

Эпифитный грибной микробиом находится под воздействием тех же абиотических факторов, что и бактериальный, и вынужден приспосабливаться к ним [64]. Существенным отличием грибного эпифитного микробиома от бактериального является то, что первый менее зависим от выделений растений (сахаров). Именно поэтому эпифитное грибное сообщество менее специфично, в большей степени обусловлено микробиомом прилежащих слоев атмосферы и, таким образом, сильнее различается между растениями одного вида [38]. На сегодня практический интерес для исследователей представляет использование эпифитных грибов в качестве агентов биоконтроля [39].

6. Эндосферные микроорганизмы (эндосфера корня и листа)

Эндофитные микроорганизмы обитают внутри растений, в отличие от других связанных с растением микроорганизмов, их экологические ниши являются более стабильными с точки зрения влажности, освещенности, обеспечения питательными элементами и других факторов. Принципы формирования и функционирования эндофитного микробиома и взаимодействия эндофитов с растением-хозяином одинаковы для подземных и надземных частей растений, поэтому в данном разделе будут совместно рассмотрены эндосферные микроорганизмы корня и листа [23]. Интересно, что в широком понимании к эндофитам относятся все микроорганизмы, обитающие внутри растения, – как полезные для него, так и нейтральные и даже патогенные. В узком же понимании эндофитами являются полезные для растений микроорганизмы, при этом факультативными называют такие, которые полезны в течение части жизненного цикла растения, могут обитать как внутри растения, так и вне его и не являются видо-

специфичными, а облигатными называют такие эндофиты, которые полезны для растения в течение всего (или большей части) жизненного цикла. Как правило, облигатные эндофиты передаются от растения к растению вертикально (через семена) и являются видоспецифичными [66]. Получая от растений благоприятную среду для обитания, эндофиты могут приносить ему следующую пользу: они производят фитогормоны, облегчают получение элементов питания, помогают противостоять экстремальным условиям окружающей среды, участвуют в борьбе с патогенами, отпугивают травоядных животных (табл. 2) [67].

Эндосферная микробиота может быть сформирована как из микроорганизмов ризосферы и филлосферы (так называемый горизонтальный перенос), так и из микроорганизмов, передаваемых от родительского растения к дочернему (вертикальный перенос) [68].

Горизонтальный перенос происходит благодаря проникновению микроорганизмов из внешней среды растения во внутреннюю. Интересно, что часть этого процесса схожа для (полезных) эндофитов и фитопатогенов. Предварительный этап горизонтального переноса состоит в приближении микроорганизмов к клеткам растений в результате хемотаксиса, формирования пилей и закрепления на поверхности растительных клеток (прежде всего клеток корня). Собственно перенос может быть пассивным и активным. Пассивное проникновение осуществляется через трещины, раны, места прикрепления корневых волосков. Активное проникновение осуществляется путем направленного повреждения клеточной стенки растения-хозяина, передвижения внутрь клетки и закрепления в ней. Для осуществления активного проникновения микроорганизмы вырабатывают лизоцим, пектиназы, целлюлазы и другие ферменты с целью создать повреждение растительной клеточной стенки, для передвижения используют жгутики, а для закрепления формируют пили и вырабатывают полисахариды [23]. Вне зависимости от способа – активного или пассивного – проникновение вызывает активацию иммунного ответа растений. Во избежание его запуска или для снижения его интенсивности (полезные) эндофиты выработали ряд приспособлений, которые позволяют им успешно колонизировать растения. В отличие от животных, растения не обладают специфическими подвижными клетками, участвующими в иммунной реакции. Напротив, каждая клетка растений способна к выработке специфических соединений, обеспечивающих подавление чужеродных микроорганизмов или укрепление растительной клеточной стенки, в ответ на наличие молекул, продуцируемых такими чужеродными микроорганизмами [69]. Эти молекулы, называемые MAMPs (microbe-associated molecular patterns, микробно-ассоциированные молекулярные паттерны), присутствуют в большинстве микроорганизмов, но отсутствуют в самих клетках растений [70]. К MAMPs относятся, например, флагеллин бактерий или хитин микромицетов. В частности, показано, что синтетический флагеллин (*flg22*) вызывает индукцию как минимум 1100 генов у *Arabidopsis thaliana* в течение часа после воздействия [71]. Эндофиты, в отличие от большей части микроорганизмов, не вырабатывают MAMPs, заменяя их молекулами со сходными функциями. Такие молекулы не распознаются специфическими рецепторами растений, не запускают каскад иммунных реакций, что позволяет эндофитам успешно колонизировать растительные клетки. Описаны случаи, когда эндофиты вырабатывали MAMPs, но значительно снижали их количество для успешной колонизации или частично изменяли их структуру с по-

мощью дополнительных ферментов, что также предотвращало распознавание эндофитов рецепторами [72]. Другим механизмом защиты эндофитов от иммунного ответа растений является детоксикация активных форм кислорода с помощью ферментов супероксиддисмутазы, каталазы, пероксидазы, алкил гидропероксидредуктазы и ряда других [11, 73–75]. Дело в том, что при соединении MAMPs с соответствующими рецепторами могут высвобождаться активные формы кислорода, которые, собственно, и запускают каскад реакций, обеспечивающих иммунный ответ. Изъятие активных форм кислорода из среды с помощью указанных ферментов тормозит иммунный ответ [76]. Третьим механизмом защиты эндофитов является сниженное относительно фитопатогенов количество литических ферментов, вырабатываемых ими для повреждения растительной стенки с целью внедрения в клетку, что также предотвращает или снижает активацию иммунной системы [77]. Еще одним интересным приспособлением является изменение способов поставки эффекторных белков в клетку хозяина. Фитопатогенные микроорганизмы секретируют целый ряд таких белков для разных целей, прежде всего для подавления иммунной системы хозяина. Секреция производится в основном с использованием двух из девяти возможных секреторных систем – T3SS и T4SS. И именно наличие этих двух систем индуцирует эффекторно-связанный иммунитет растений. Показано, что у эндофитов отсутствуют гены, кодирующие две указанные секреторные системы, либо их количество значительно снижено. Например, прочтение генома мутуалистического азотофиксирующего эндофита злаков *Azoarcus sp.* штамм BH72 показало отсутствие систем секреции белков как T3SS, так и T4SS, а также других важных компонентов клеточной поверхности, которые обычно присущи патогенам [78].

Вертикальный перенос эндофитных микроорганизмов осуществляется от родительского растения через семена или пыльцу [79]. Зачастую акторами вертикального переноса являются насекомые-опылители [80]. Предполагается, что родительское растение передает дочернему те эндофиты, которые выполняют какую-либо незаменимую функцию в условиях произрастания данного растения, например, вертикально передаются бактерии – фосфатмобилизаторы, азотфиксаторы, а также продуценты фитогормонов [81, 82]. Современные методы анализа показали наличие значительного числа разнообразных таксонов бактерий в различных частях семян, включая кожуру, эндосперм, зародышевые ткани, и в пыльце. Бактерии были обнаружены в поверхностно стерилизованных семенах различных растений, как в культурных (рис, кукуруза, табак, кофе, фасоль обыкновенная, ячмень, тыква), так и в диких видах (эвкалипт, ель, райграс) [79]. Хорошо изученными примерами последовательной передачи от поколения поколению являются примеры передачи эндофитных грибов трав *Epichloë* и *Neotyphodium* [83].

В ряде работ утверждается, что вертикальная передача эндофитных бактерий через семена может быть основным источником бактериального разнообразия растения, дополняемого при дальнейшем росте и развитии из почвы или воздуха [84]. Интересно, что при попытке отслеживания вертикального переноса эндофитного микробиома через несколько поколений не было выявлено его постоянства. Вероятно, это не противоречит первому утверждению о передаче жизненно важных видов от родителя к потомству, но означает, что перечень таких жизненно важных эндофитных видов зависит от условий произрас-

тания каждого последующего родительского растения и корректируется в зависимости от них [85, 86]. Более того, в проростках, полученных от семян одного и того же родительского растения, может развиться разный эндофитный микробиом в зависимости от условий их произрастания [87].

Эндофиты могут бессимптомно обитать внутри хозяина, получая от него благоприятную для жизни среду, однако в большинстве описанных случаев они приносят хозяину несомненную пользу [23]. Рассмотрим ряд примеров такой пользы (табл. 2).

Эндофитные бактерии способны вырабатывать ряд фитогормонов, например ауксины (прежде всего индолилуксусную кислоту), абсцизины, цитокинины, гибберелины, этилен и др. В метагеномах эндофитных сообществ часто обнаруживают повышенное содержание генов, кодирующих указанные вещества [23, 79]. Так, например, в эндомикробиоме корня томата обнаружены гены, кодирующие все четыре метаболических пути синтеза индолилуксусной кислоты [75]. Интересно, что продукция фитогормонов может влиять на растение как напрямую (ускоряя его рост или созревание), так и косвенно (ускоряя или замедляя рост и созревание отдельных его органов в зависимости от условий окружающей среды) [88]. Такая избирательная стимуляция роста является одной из стратегий выживания растений в условиях стресса – засоления, засухи и т. д. [23]. Показано, например, что бактерии из эндосферы однолетника статицы (*Limonium sinense)* обладали высокой активностью фермента АЦК-дезаминазы, разрушающего АЦК (1-аминоциклопропан-1-карбоксилат) – прекурсор этилена. Снижение количества АЦК в корнях растения способствовало снижению количества стрессового этилена, что улучшало устойчивость растения в условиях засоления [89].

Абиотические стрессы, такие как засуха, экстремальные температуры, засоление, воздействие токсичных веществ, представляют угрозу в целом для растений и в частности для агроэкосистем. Эндофитные микроорганизмы выработали различные механизмы, способствующие повышению устойчивости растений к абиотическим стрессам. К таким механизмам относится индукция экспрессии генов, кодирующих синтез веществ, укрепляющих растительные клеточные стенки, позволяющих растениям противостоять холоду, обладающих антиоксидантной активностью и др. Экспрессия таких генов вызывает физиологические изменения в растениях [72]. Так, например, инокуляция растений томатов эндофитными бактериями *Pseudomonas vancouverensis OB155* и *P. frederiksbergensis OS261* в условиях холодного стресса привела к снижению повреждения клеточных мембран, повышению антиоксидантной активности и индуцировала экспрессию генов устойчивости растений к холоду (*LeCBF1 и LeCBF3*) [90]. А инокуляция растений картофеля, киноа и арабидопсиса эндофитным штаммом *Burkholderia phytofirmans* PsJN привела к укреплению растительных стенок, экспрессии генов, отвечающих за гомеостаз и детоксикацию активных форм кислорода в условиях засухи, засоления или пониженных температур [91–93].

Эндофитные бактерии способны снижать токсичность органических и неорганических соединений, используя механизмы внеклеточного осаждения, внутриклеточного накопления, секвестрации, разложения или биотрансформации в менее токсичные формы [72, 94]. Продемонстрировано, что инокуляция растений томатов эндофитными бактериями *Methylobacterium oryzae* и

Burkholderia sp. приводила к повышению толерантности растений к никелю и кадмию при их накоплении в корнях и дальнейшей транслокации из корней в побеги [95]. В ряде работ продемонстрирована способность эндофитных бактерий разлагать гербициды [84, 96].

Эндофиты играют значительную роль в обеспечении растений элементами питания – азотом, фосфором, а также микроэлементами, прежде всего железом [97]. Анализ эндофитной среды растений с использованием метагеномных методов показывает наличие бактериальных генов, участвующих в процессах нитрификации (*amoA*), денитрификации (*nirS-K, nosZ*) и фиксации азота (*nifH*) [98, 99]. Показано, что для многих хвойных деревьев азотфиксирующие эндофиты являются стабильным источником азота [99]. Продемонстрирована способность азотофиксирующего штамма *Paenibacillus polymyxa* P2b-2R к стимулированию роста кукурузы [100]. Но вклад, вносимый эндофитами в общую степень обеспечения растений азотом, еще предстоит выяснить [23].

Эндофиты играют роль и в обеспечении растений фосфором и железом. Оба этих элемента содержатся в почве, но в недоступных для растений формах – фосфор в виде комплексов с кальцием, алюминием и железом, железо – в виде трехвалентных гидроксидов и оксидов [4, 101, 102]. В случае с фосфором бактерии выделяют в окружающую среду кислоты (глюконовую, яблочную, лимонную и салициловую) и продуцируют фитазы, в случае с железом – выделяют соединения, образующие с железом хелаты (так называемые сидерофоры) [4, 23]. Мобилизация фосфатов и продукция сидерофоров достаточно хорошо описаны для ризосферных микроорганизмов, а также микоризных грибов, обитающих на стыках внешней и внутренней среды растения [23, 103]. Однако в последнее время в научной литературе появились сообщения о таких функциях и у микроорганизмов эндосферы. Так, например, показано, что в эндосферном сообществе *Miscanthus giganteus* присутствовали гены *pqqA, pqqB, pqqC, pqqD, pqqE*, кодирующие фермент глюкозодегидрогеназу и задействованные в синтезе глюконовой кислоты, являющейся основным агентом мобилизации соединений фосфора [102]. Частично необходимость перевода фосфора в доступную форму именно эндосферными микроорганизмами обусловлена тем, что фосфаты легко образуют комплексы, уже находясь внутри растений. Однако, по всей вероятности, кислоты и хелаты, продуцируемые эндофитами, могут транспортироваться растением в почву вместе с другими экссудатами и использоваться во внешней среде [102]. Механизм такого транспорта недостаточно описан в научной литературе.

Велика роль эндофитов и в борьбе с фитопатогенными микроорганизмами. Эндофиты способны воздействовать на патогены напрямую, выделяя токсичные для них вещества или нарушая их чувство кворума (quorum sensing, QS), а также косвенно, стимулируя иммунную систему растений [104].

В качестве веществ, прямо подавляющих развитие патогенов, можно отметить вещества с антибактериальной, антигрибной и инсектицидной активностью (например, биосурфактанты итурин и рамнолипид), цианид водорода (HCN). В этом ряду особо стоит отметить разнообразный класс летучих органических соединений, эффективность которых для борьбы с фитопатогенами была неоднократно показана в научной литературе [105, 106]. Так, например, показано, что эндофитная бактерия *Enterobacter aerogenes* способна вырабатывать 2,3-бутандиол, обладающий фунгицидной активностью по отношению к

патогенам кукурузы [107]. В работе De la Cruz-López et al. [108] эндофитные штаммы *B. subtilis*, выделенные из различных частей растения какао, ингибировали рост мицелия *M. roreri* до 100% за счет продуцирования различных соединений, включая пиразин, кетон, терпен, производные бензола и пр. QS является важным для выживания микроорганизмов, в частности фитопатогенов, поскольку позволяет начать экспрессию генов, обеспечивающую формирование биопленок, ускорение или замедление размножения, адаптацию к условиям среды [109]. QS осуществляется через сигнальные молекулы, а эндофиты обладают способностью разрушать такие молекулы с помощью специфических ферментов. Так, например, показано, что у эндофитных бактерий родов *Bacillus* и *Pseudomonas* широко распространен ген *carAB*, кодирующий увеличение скорости деградации сигнальных соединений DSF (diffusive signal factor) патогенных бактерий родов *Xanthomonas* и *Xylella* [110].

Эндофиты способны вырабатывать вещества, сходные с таковыми для фитопатогенов, которые запускают каскад иммунных реакций в растении – прежде всего речь идет о сигнальных путях жасмоновой, салициловой кислот и этилена или их комбинации [111]. Производя первое «столкновение» растений с веществами, запускающими иммунный ответ, эндофитные микроорганизмы осуществляют прайминг [23]. В дальнейшем при внедрении патогенов запуск иммунного ответа в праймированном растении происходит при значительно меньших дозах жасмоновой, салициловой кислот и этилена, чем это было бы в наивном растении. Именно поэтому иммунный ответ наступает быстрее, а интенсивность его выше [111]. Продемонстрировано, что инокуляция растений резуховидки (*Arabidopsis)* и томатов (*Solanum lycopersicum*) бактериями родов *Enterobacter radicincitans* DSM 16656 и *R. radiobacter* F4 значительно усиливало их иммунные ответы к *Xanthomonas translucens* и *P. syringae* патогенам [23, 112].

Интересна роль эндофитов и в отпугивании травоядных животных – насекомых, зверей, птиц. Эндофиты способны продуцировать вещества, портящие вкус или запах стеблей и плодов, и таким образом снижать их привлекательность [67]. В качестве примера можно привести алкалоиды, вырабатываемые эндофитными микромицетами *Neotyphodium sp.* и *Epichloë sp*. в травах овсяницы, защищающие растение от тли [113].

В процессе длительной совместной эволюции гены, кодирующие выработку отпугивающих травоядных животных соединений, в ряде случаев передавались от эндофитов к растениям-хозяевам. Так, вещество альтернариол, являющееся типичным метаболитом грибов *Alternaria*, было обнаружено в экстрактах цветной капусты [114]. Также вторичные метаболиты эндофитных грибов альтунезин, макроспорин, метилалатернин были обнаружены в растениях-хозяевах *Polygonum senegalense* и *Urospermum picroides* [67].

В целом разнообразные и значительные роли эндофитов для роста и развития растений вызывают высокий интерес к ним как к агентам биоконтроля [67, 115].

Заключение

Развитие методов молекулярной биологии и аналитической химии позволило получить пул новых данных о составе и функционировании микробных сообществ, в частности сообществ, ассоциированных с растениями – на или

внутри их наземных и подземных частей. В данном обзоре проведена попытка отразить современные представления о составе и структуре растительных фитобиомов, раскрыть роль микробных сообществ в функционировании растений, а также описать механизмы растительно-микробных взаимодействий.

Благодарности. Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности, проект № FZSM-2022-0003.

Литература

1. *Compant S., Samad A., Faist H., Sessitsch A.* A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application // J. Adv. Res. 2019. V. 19. P. 29–37. doi: 10.1016/j.jare.2019.03.004.
2. *Leach J.E., Triplett L.R., Argueso C.T., Trivedi P.* Communication in the phytobiome // Cell. 2017. V. 169, No 4. P. 587–596. doi: 10.1016/j.cell.2017.04.025.
3. *Zhang H., Li X., Yang Q., Sun L., Yang X., Zhou M., Deng R., Bi L.* Plant growth, antibiotic uptake, and prevalence of antibiotic resistance in an endophytic system of pakchoi under antibiotic exposure // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2017. V. 14, No 11. art. 1336. doi: 10.3390/ijerph14111336.
4. *de Souza R., Ambrosini A., Passaglia L.M.P.* Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils // Genet. Mol. Biol. 2015. V. 38, No 4. P. 401–419. doi: 10.1590/S1415-475738420150053.
5. *Gray E.J., Smith D.L.* Intracellular and extracellular PGPR: Commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes // Soil Biol. Biochem. 2005. V. 37, No 3. P. 395–412. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.08.030.
6. *Bulgarelli D., Schlaeppi K., Spaepen S., van Themaat E.V.L., Schulze-Lefert P.* Structure and functions of the bacterial microbiota of plants // Annu. Rev. Plant Biol. 2013. V. 64. P. 807–838. doi: 10.1146/annurev-arplant-050312-120106.
7. *Hassani M.A., Durán P., Hacquard S.* Microbial interactions within the plant holobiont // Microbiome. 2018. V. 6, No 1. art. 58. doi: 10.1186/s40168-018-0445-0.
8. *Trivedi P., Leach J.E., Tringe S.G., Sa T., Singh B.K.* Plant–microbiome interactions: From community assembly to plant health // Nat. Rev. Microbiol. 2020. V. 18, No 11. P. 607–621. doi: 10.1038/s41579-020-0412-1.
9. *Begum N., Qin C., Ahanger M.A., Raza S., Khan M.I., Ashraf M., Ahmed M., Zhang L.* Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: Implications in abiotic stress tolerance // Front. Plant Sci. 2019. V. 10. art. 1068. doi: 10.3389/fpls.2019.01068.
10. *Semenov M., Nikitin D.A., Stepanov A.L., Semenov V.M.* The structure of bacterial and fungal communities in the rhizosphere and root-free loci of gray forest soil // Eurasian Soil Sci. 2019. V. 3. P. 355–369. doi: 10.1134/S1064229319010137.
11. *Afzal I., Shinwari Z.K., Sikandar S., Shahzad S.* Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants // Microbiol. Res. 2019. V. 221. P. 36–49. doi: 10.1016/j.micres.2019.02.001.
12. *Dong C., Wang L., Li Q., Shang Q.* Epiphytic and endophytic fungal communities of tomato plants // Hortic. Plant J. 2021. V. 7, No 1. P. 38–48. doi: 10.1016/j.hpj.2020.09.002.
13. *Lopez-Echartea E., Strejcek M., Mukherjee S., Uhlik O., Yrjälä K.* Bacterial succession in oil-contaminated soil under phytoremediation with poplars // Chemosphere. 2020. V. 243. art. 125242. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.125242.

14. *Hamonts K., Trivedi P., Garg A., Janitz C., Grinyer J., Holford P., Botha F.C., Anderson I.C., Singh B.K.* Field study reveals core plant microbiota and relative importance of their drivers // Environ. Microbiol. 2018. V. 20, No 1. P. 124–140. doi: 10.1111/1462-2920.14031.
15. *Rastogi G., Sbodio A., Tech J.J., Suslow T.V., Coaker G.L., Leveau J.H.J.* Leaf microbiota in an agroecosystem: Spatiotemporal variation in bacterial community composition on field-grown lettuce // ISME J. 2012. V. 6, No 10. P. 1812–1822. doi: 10.1038/ismej.2012.32.
16. *Ruppel S., Krumbein A., Schreiner M.* Composition of the phyllospheric microbial populations on vegetable plants with different glucosinolate and carotenoid compositions // Microb. Ecol. 2008. V. 56, No 2. P. 364–372. doi: 10.1007/s00248-007-9354-7.
17. *Steven B., Huntley R.B., Zeng Q.* The influence of flower anatomy and apple cultivar on the apple flower phytobiome // Phytobiomes Journal. 2018. V. 2, No 3. P. 171–179. doi: 10.1094/PBIOMES-03-18-0015-R.
18. *Inácio J., Pereira P., Carvalho M., Fonseca Á., Amaral-Collaço M.T., Spencer-Martins I.* Estimation and diversity of phylloplane mycobiota on selected plants in a Mediterranean-type ecosystem in Portugal // Microb. Ecol. 2002. V. 44, No 4. P. 344–353. doi: 10.1007/s00248-002-2022-z.
19. *Preto G., Martins F., Pereira J.A., Baptista P.* Fungal community in olive fruits of cultivars with different susceptibilities to anthracnose and selection of isolates to be used as biocontrol agents // Biol. Control. 2017. V. 110. P. 1–9. doi: 10.1016/j.biocontrol.2017.03.011.
20. *Rivas-Franco F., Hampton J.G., Narciso J., Rostás M., Wessman P., Saville D.J., Jackson T.A., Glare T.A.* Effects of a maize root pest and fungal pathogen on entomopathogenic fungal rhizosphere colonization, endophytism and induction of plant hormones // Biol. Control. 2020. V. 150. art. 104347. doi: 10.1016/j.biocontrol.2020.104347.
21. *Ma B., Lv X., Warren A., Gong J.* Shifts in diversity and community structure of endophytic bacteria and archaea across root, stem and leaf tissues in the common reed, *Phragmites australis*, along a salinity gradient in a marine tidal wetland of northern China // Antonie van Leeuwenhoek. 2013. V. 104, No 5. P. 759–768. doi: 10.1007/s10482-013-9984-3.
22. *Zuo Y., Hu Q., Zhang K., He X.* Host and tissue affiliations of culturable endophytic fungi associated with xerophytic plants in the desert region of Northwest China // Agronomy. 2022. V. 12, No 3. art. 727. doi: 10.3390/agronomy12030727.
23. *Liu H., Carvalhais L.C., Crawford M., Singh E., Dennis P.G., Pieterse C.M.J., Schenk P.M.* Inner plant values: Diversity, colonization and benefits from endophytic bacteria // Front. Microbiol. 2017. V. 8. art. 2552. doi: 10.3389/fmicb.2017.02552.
24. *Chebotar V.K., Malfanova N.V., Shcherbakov A.V., Ahtemova G.A., Borisov A.Y., Lugtenberg B., Tikhonovich I.A.* Endophytic bacteria in microbial drugs that improve plant development (Review) // Appl. Biochem. Microbiol. 2015. V. 51, No 3. P. 271–277. doi: 10.1134/S0003683815030059.
25. *Durán M., San Emeterio L., Canals R.M.* Comparison of culturing and metabarcoding methods to describe the fungal endophytic assemblage of *Brachypodium rupestre* growing in a range of anthropized disturbance regimes // Biology. 2021. V. 10, No 12. art. 1246. doi: 10.3390/biology10121246.
26. *Duan M., Li H., Gu J., Tuo X., Sun W., Qian X., Wang X.* Effects of biochar on reducing the abundance of oxytetracycline, antibiotic resistance genes, and human pathogenic bacteria in soil and lettuce // Environ. Pollut. 2017. V. 224. P. 787–795. doi: 10.1016/j.envpol.2017.01.021.

27. *Taye Z.M., Helgason B.L., Bell J.K., Norris C.E., Vail S., Robinson S.J., Parkin I.A.P., Arcand M., Mamet S., Links M.G., Dowhy T., Siciliano S., Lamb E.G.* Core and differentially abundant bacterial taxa in the rhizosphere of field grown *Brassica napus* genotypes: Implications for canola breeding // Front. Microbiol. 2020. V. 10. art. 3007. doi: 10.3389/fmicb.2019.03007.

28. *Toju H., Peay K.G., Yamamichi M., Narisawa K., Hiruma K., Naito K., Fukuda S., Ushio M., Nakaoka S., Onoda Y., Yoshida K., Schlaeppi K., Bai Y., Sugiura R., Ichihashi Y., Minamisawa K., Kiers E.T.* Core microbiomes for sustainable agroecosystems // Nat. Plants. 2018. V. 4, No 5. P. 247–257. doi: 10.1038/s41477-018-0139-4.

29. *Jousset A., Bienhold C., Chatzinotas A., Gallien L., Gobet A., Kurm V., Küsel K., Rillig M.C., Rivett D.W., Salles J.F., van der Heijden M.G.A., Youssef N.H., Zhang X., Wei Z., Hol W.H.G.* Where less may be more: How the rare biosphere pulls ecosystems strings // ISME J. 2017. V. 11, No 4. P. 853–862. doi: 10.1038/ismej.2016.174.

30. *Hanski I.* Dynamics of regional distribution: The core and satellite species hypothesis // Oikos. 1982. V. 38, No 2. P. 210–221. doi: 10.2307/3544021.

31. *Chambers L.G., Guevara R., Boyer J.N., Troxler T.G., Davis S.E.* Effects of salinity and inundation on microbial community structure and function in a mangrove peat soil // Wetlands. 2016. V. 36, No 2. P. 361–371. doi: 10.1007/s13157-016-0745-8.

32. *Lemanceau P., Blouin M., Muller D., Moënne-Loccoz Y.* Let the core microbiota be functional // Trends Plant Sci. 2017. V. 22, No 7. P. 583–595. doi: 10.1016/j.tplants.2017.04.008.

33. *Hol W.H.G., de Boer W., de Hollander M., Kuramae E.E., Meisner A., van der Putten W.H.* Context dependency and saturating effects of loss of rare soil microbes on plant productivity // Front. Plant Sci. 2015. V. 6. art. 485. doi: 10.3389/fpls.2015.00485.

34. *Zhang Y.-J., Hu H.-W., Chen Q.-L., Singh B.K., Yan H., Chen D., He J.-Z.* Transfer of antibiotic resistance from manure-amended soils to vegetable microbiomes // Environ. Int. 2019. V. 130. art. 104912. doi: 10.1016/j.envint.2019.104912.

35. *Mendes R., Garbeva P., Raaijmakers J.M.* The rhizosphere microbiome: Significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms // FEMS Microbiol. Rev. 2013. V. 37, No 5. P. 634–663. doi: 10.1111/1574-6976.12028.

36. *Gans J., Wolinsky M., Dunbar J.* Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil // Science. 2005. V. 309, No 5739. P. 1387–1390. doi: 10.1126/science.1112665.

37. *Zarraonaindia I., Owens S.M., Weisenhorn P., West K., Hampton-Marcell J., Lax S., Bokulich N.A., Mills D.A., Martin G., Taghavi S., van der Lelie D., Gilbert J.A.* The soil microbiome influences grapevine-associated microbiota // mBio. 2015. V. 6, No 2. art. e02527-14. doi: 10.1128/mBio.02527-14.

38. *Coleman-Derr D., Desgarennes D., Fonseca-Garcia C., Gross S., Clingenpeel S., Woyke T., North G., Visel A., Partida-Martinez L.P., Tringe S.G.* Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native *Agave* species // New Phytol. 2016. V. 209, No 2. P. 798–811. doi: 10.1111/nph.13697.

39. *de Souza R.S.C., Okura V.K., Armanhi J.S.L., Jorrín B., Lozano N., da Silva M.J., González-Guerrero M., de Araújo L.M., Verza N.C., Bagheri H.C., Imperial J., Arruda P.* Unlocking the bacterial and fungal communities assemblages of sugarcane microbiome // Sci. Rep. 2016. V. 6, No 1. art. 28774. doi: 10.1038/srep28774.

40. *Rozpądek P., Domka A.M., Nosek M., Ważny R., Jędrzejczyk R.J., Wiciarz M., Turnau K.* The role of strigolactone in the cross-talk between *Arabidopsis thaliana* and the endophytic fungus *Mucor* sp. // Front. Microbiol. 2018. V. 9. art. 441. doi: 10.3389/fmicb.2018.00441.

41. *Arora N.K., Mishra J.* Prospecting the roles of metabolites and additives in future bioformulations for sustainable agriculture // Appl. Soil Ecol. 2016. V. 107. P. 405–407. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.05.020.

42. *Oldroyd G.E.D.* Speak, friend, and enter: Signalling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants // Nat. Rev. Microbiol. 2013. V. 11, No 4. P. 252–263. doi: 10.1038/nrmicro2990.

43. *Adebajo S.O., Akintokun P.O., Ojo A.E., Akintokun A.K., Badmos O.A.* Recovery of biosurfactant using different extraction solvent by rhizospheric bacteria isolated from rice-husk and poultry waste biochar amended soil // Egypt. J. Basic Appl. Sci. 2020. V. 7, No 1. P. 252–266. doi: 10.1080/2314808X.2020.1797377.

44. *Goswami M., Deka S.* Biosurfactant production by a rhizosphere bacteria *Bacillus altitudinis* MS16 and its promising emulsification and antifungal activity // Colloids Surf., B. 2019. V. 178. P. 285–296. doi: 10.1016/j.colsurfb.2019.03.003.

45. *Pessione E., Garcia-Contreras R.* Non-conventional antimicrobial agents // Rezaei N. (Ed.) Encyclopedia of Infection and Immunity. V. 4. Elsevier, 2022. P. 586–607. doi: 10.1016/B978-0-12-818731-9.00136-1.

46. *Wang F., Fu Y.-H., Sheng H.-J., Topp E., Jiang X., Zhu Y.-G., Tiedje J.M.* Antibiotic resistance in the soil ecosystem: A One Health perspective // Curr. Opin. Environ. Sci. Health. 2021. V. 20. art. 100230. doi: 10.1016/j.coesh.2021.100230.

47. *Malfanova N., Franzil L., Lugtenberg B., Chebotar V., Ongena M.* Cyclic lipopeptide profile of the plant-beneficial endophytic bacterium *Bacillus subtilis* HC8 // Arch. Microbiol. 2012. V. 194, No 11. P. 893–899. doi: 10.1007/s00203-012-0823-0.

48. *Awasthi N., Kumar A., Makkar R., Cameotra S.S.* Biodegradation of soil-applied endosulfan in the presence of a biosurfactant // J. Environ. Sci. Health, Part B. 1999. V. 34, No 5. P. 793–803. doi: 10.1080/03601239909373226.

49. *Добровольская Т. Г.* Структура бактериальных сообществ почв. М.: ИКЦ «Академкнига», 2002. 282 с.

50. *Феоктистова Н.В., Марданова А.М., Хадиева Г.Ф., Шарипова М.Р.* Ризосферные бактерии // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2016. Т. 158, кн. 2. С. 207–224.

51. *Matilla M.A., Espinosa-Urgel M., Rodríguez-Herva J.J., Ramos J.L., Ramos-González M.I.* Genomic analysis reveals the major driving forces of bacterial life in the rhizosphere // Genome Biol. 2007. V. 8, No 9. art. R179. doi: 10.1186/gb-2007-8-9-r179.

52. *Gamalero E., Lingua G., Berta G., Lemanceau P.* Methods for studying root colonization by introduced beneficial bacteria // Lichtfouse E., Navarrete M., Debaeke P., Véronique S., Alberola C. (Eds.) Sustainable Agriculture. Dordrecht: Springer, 2009. P. 601–615. doi: 10.1007/978-90-481-2666-8_37.

53. *Compant S., Clément C., Sessitsch A.* Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization // Soil Biol. Biochem. 2010. V. 42, No 5. P. 669–678. doi: 10.1016/j.soilbio.2009.11.024.

54. *Jiménez-Bremont J.F., Marina M., Guerrero-González M. de la L., Rossi F.R., Sánchez-Rangel D., Rodríguez-Kessler M., Ruiz O.A., Gárriz A.* Physiological and molecular implications of plant polyamine metabolism during biotic interactions // Front. Plant Sci. 2014. V. 5. art. 95. doi: 10.3389/fpls.2014.00095.

55. *Лабутова Н.М.* Взаимоотношения эндомикоризных грибов с микроорганизмами ризосферы // Микология и фитопатология. 2009. Т. 43, вып. 1. С. 3–19.

56. *Pattnaik S.S., Busi S.* Rhizospheric fungi: Diversity and potential biotechnological applications // Yadav A., Mishra S., Singh S., Gupta A. (Eds) Recent Advancement in

White Biotechnology Through Fungi. Vol. 1: Diversity and enzymes perspectives. Ser.: Fungal Biology. Cham: Springer, 2019. P. 63–84. doi: 10.1007/978-3-030-10480-1_2.

57. *Kennedy A.C., de Luna L.Z.* Rhizosphere // Hillel D. (Ed.) Encyclopedia of Soils in the Environment. V. 4. Acad. Press, 2005. P. 399–406. doi: 10.1016/B0-12-348530-4/00163-6.
58. *Poveda J., Eugui D., Abril-Urías P., Velasco P.* Endophytic fungi as direct plant growth promoters for sustainable agricultural production // Symbiosis. 2021. V. 85, No 1. P. 1–19. doi: 10.1007/s13199-021-00789-x.
59. *Rajkumar H.G., Seema H.S., Sunil Kumar C.P.* Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with some medicinal plants in Western Ghats of Karnataka region, India // World J. Nucl. Sci. Technol. 2012. V. 2, No 1. P. 13–20.
60. *Coutinho T.A., Bophela K.N.* Chapter 7 – Tree leaves as a habitat for phyllobacteria // Asiegbu F.O., Kovalchuk A. (Eds.) Forest Microbiology. Vol. 1: Tree microbiome: Phyllosphere, endosphere and rhizosphere. Acad. Press, 2021. P. 133–144. doi: 10.1016/B978-0-12-822542-4.00001-2.
61. *Lindow S.E., Brandl M.T.* Microbiology of the phyllosphere // Appl. Environ. Microbiol. 2003. V. 69, No 4. P. 1875–1883. doi: 10.1128/AEM.69.4.1875-1883.2003.
62. *Sundin G.W., Jacobs J.L.* Ultraviolet radiation (UVR) sensitivity analysis and UVR survival strategies of a bacterial community from the phyllosphere of field-grown peanut (*Arachis hypogeae* L.) // Microb. Ecol. 1999. V. 38, No 1. P. 27–38. doi: 10.1007/s002489900152.
63. *Bunster L., Fokkema N.J., Schippers B.* Effect of surface-active *Pseudomonas* spp. on leaf wettability // Appl. Environ. Microbiol. 1989. V. 55, No 6. P. 1340–1345. doi: 10.1128/aem.55.6.1340-1345.1989.
64. *Yao H., Sun X., He C., Maitra P., Li X.-C., Guo L.-D.* Phyllosphere epiphytic and endophytic fungal community and network structures differ in a tropical mangrove ecosystem // Microbiome. 2019. V. 7, No 1. art. 57. doi: 10.1186/s40168-019-0671-0.
65. *Rodrigo S., García-Latorre C., Santamaria O.* Metabolites produced by fungi against fungal phytopathogens: Review, implementation and perspectives // Plants. 2022. V. 11, No 1. art. 81. doi: 10.3390/plants11010081.
66. *Rosenblueth M., Martínez-Romero E.* Bacterial endophytes and their interactions with hosts // Mol. Plant Microbe Interact. 2006. V. 19, No 8. P. 827–837. doi: 10.1094/MPMI-19-0827.
67. *Alam B., Lǐ J., Gě Q., Khan M.A., Gōng J., Mehmood S., Yuán Y., Gǒng W.* Endophytic fungi: From symbiosis to secondary metabolite communications or vice versa? // Front. Plant Sci. 2021. V. 12. art. 791033. doi: 10.3389/fpls.2021.791033.
68. *Zhang H., Li X., Yang Q., Sun L., Yang X., Zhou M., Deng R., Bi L.* Plant growth, antibiotic uptake, and prevalence of antibiotic resistance in an endophytic system of pakchoi under antibiotic exposure // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2017. V. 14, No 11. art. 1336. doi: 10.3390/ijerph14111336.
69. *Buschart A., Sachs S., Chen X., Herglotz J., Krause A., Reinhold-Hurek B.* Flagella mediate endophytic competence rather than act as MAMPS in rice – *Azoarcus* sp. strain BH72 interactions // Mol. Plant-Microbe Interact. 2012. V. 25, No 2. P. 191–199. doi: 10.1094/MPMI-05-11-0138.
70. *Vandenkoornhuyse P., Quaiser A., Duhamel M., Le Van A., Dufresne A.* The importance of the microbiome of the plant holobiont // New Phytol. 2015. V. 206, No 4. P. 1196–1206. doi: 10.1111/nph.13312.

71. *Zipfel C., Robatzek S., Navarro L., Oakeley E.J., Jones J.D.G., Felix G., Boller T.* Bacterial disease resistance in *Arabidopsis* through flagellin perception // Nature. 2004. V. 428, No 6984. P. 764–767. doi: 10.1038/nature02485.

72. *Khare E., Mishra J., Arora N.K.* Multifaceted interactions between endophytes and plant: Developments and prospects // Front. Microbiol. 2018. V. 9. art. 2732. doi: 10.3389/fmicb.2018.02732.

73. *Bhore S.J., Nithya R., Loh C.Y.* Screening of endophytic bacteria isolated from leaves of Sambung Nyawa [*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.] for cytokinin-like compounds // Bioinformation. 2010. V. 5, No 5. P. 191–197. doi: 10.6026/97320630005191.

74. *Shahzad R., Waqas M., Khan A.L., Asaf S., Khan M.A., Kang S.-M., Yun B.-W., Lee I.-J.* Seed-borne endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 produces gibberellins and regulates endogenous phytohormones of *Oryza sativa* // Plant Physiol. Biochem. 2016. V. 106. P. 236–243. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.05.006.

75. *Tian B.-Y., Cao Y., Zhang K.-Q.* Metagenomic insights into communities, functions of endophytes and their associates with infection by root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in tomato roots // Sci. Rep. 2015. V. 5, No 1. art. 17087. doi: 10.1038/srep17087.

76. *Sessitsch A., Hardoim P., Döring J., Weilharter A., Krause A., Woyke T., Mitter B., Hauberg-Lotte L., Friedrich F., Rahalkar M., Hurek T., Sarkar A., Bodrossy L., van Overbeek L., Brar D., van Elsas J.D., Reinhold-Hurek B.* Functional characteristics of an endophyte community colonizing rice roots as revealed by metagenomic analysis // Mol. Plant-Microbe Interact. 2012. V. 25, No 1. P. 28–36. doi: 10.1094/MPMI-08-11-0204.

77. *Ye W., Murata Y.* Microbe associated molecular pattern signaling in guard cells // Front. Plant Sci. 2016. V. 7. art. 583. doi: 10.3389/fpls.2016.00583.

78. *Krause A., Ramakumar A., Bartels D., Battistoni F., Bekel T., Boch J., Böhm M., Friedrich F., Hurek T., Krause L., Linke B., McHardy A.C., Sarkar A., Schneiker S., Syed A.A., Thauer R., Vorhölter F.-J., Weidner S., Pühler A., Reinhold-Hurek B., Kaiser O., Goesmann A.* Complete genome of the mutualistic, N_2-fixing grass endophyte *Azoarcus* sp. strain BH72 // Nat. Biotechnol. 2006. V. 24, No 11. P. 1384–1391. doi: 10.1038/nbt1243.

79. *Frank A.C., Saldierna Guzmán J.P., Shay J.E.* Transmission of bacterial endophytes // Microorganisms. 2017. V. 5, No 4. art. 70. doi: 10.3390/microorganisms5040070.

80. *Lopez-Fernandez S., Mazzoni V., Pedrazzoli F., Pertot I., Campisano A.* A phloem-feeding insect transfers bacterial endophytic communities between grapevine plants // Front. Microbiol. 2017. V. 8. art. 834. doi: 10.3389/fmicb.2017.00834.

81. *Puente M.E., Li C.Y., Bashan Y.* Endophytic bacteria in cacti seeds can improve the development of cactus seedlings // Environ. Exp. Bot. 2009. V. 66, No 3. P. 402–408. doi: 10.1016/j.envexpbot.2009.04.007.

82. *Rout M.E., Chrzanowski T.H., Westlie T.K., DeLuca T.H., Callaway R.M., Holben W.E.* Bacterial endophytes enhance competition by invasive plants // Am. J. Bot. 2013. V. 100, No 9. P. 1726–1737. doi: 10.3732/ajb.1200577.

83. *Schardl C.L. Epichloë festucae* and related mutualistic symbionts of grasses // Fungal Genet. Biol. 2001. V. 33, No 2. P. 69–82. doi: 10.1006/fgbi.2001.1275.

84. *Cope-Selby N., Cookson A., Squance M., Donnison I., Flavell R., Farrar K.* Endophytic bacteria in Miscanthus seed: Implications for germination, vertical inheritance of endophytes, plant evolution and breeding // GCB Bioenergy. 2017. V. 9, No 1. P. 57–77. doi: 10.1111/gcbb.12364.

85. *Barret M., Briand M., Bonneau S., Préveaux A., Valière S., Bouchez O., Hunault G., Simoneau P., Jacquesa M.-A.* Emergence shapes the structure of the seed microbiota // Appl. Environ. Microbiol. 2015. V. 81, No 4. P. 1257–1266. doi: 10.1128/AEM.03722-14.

86. *Truyens S., Weyens N., Cuypers A., Vangronsveld J.* Bacterial seed endophytes: Genera, vertical transmission and interaction with plants // Environ. Microbiol. Rep. 2015. V. 7, No 1. P. 40–50. doi: 10.1111/1758-2229.12181.

87. *Thomas P., Sahu P.K.* Vertical transmission of diverse cultivation-recalcitrant endophytic bacteria elucidated using watermelon seed embryos // Front. Microbiol. 2021. V. 12. art. 635810. doi: 10.3389/fmicb.2021.635810.

88. *Khan A.L., Waqas M., Kang S.-M., Al-Harrasi A., Hussain J., Al-Rawahi A., Al-Khiziri S., Ullah I., Ali L., Jung H.-Y., Lee I.-J.* Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth // J. Microbiol. 2014. V. 52, No 8. P. 689–695. doi: 10.1007/s12275-014-4002-7.

89. *Qin S., Zhang Y.-J., Yuan B., Xu P.-Y., Xing K., Wang J., Jiang J.-H.* Isolation of ACC deaminase-producing habitat-adapted symbiotic bacteria associated with halophyte *Limonium sinense* (Girard) Kuntze and evaluating their plant growth-promoting activity under salt stress // Plant Soil. 2013. V. 374, No 1. P. 753–766. doi: 10.1007/s11104-013-1918-3.

90. *Subramanian P., Mageswari A., Kim K., Lee Y., Sa T.* Psychrotolerant endophytic *Pseudomonas* sp. strains OB155 and OS261 induced chilling resistance in tomato plants (*Solanum lycopersicum* Mill.) by activation of their antioxidant capacity // Mol. Plant-Microbe Interact. 2015. V. 28, No 10. P. 1073–1081. doi: 10.1094/MPMI-01-15-0021-R.

91. *Su F., Jacquard C., Villaume S., Michel J., Rabenoelina F., Clément C., Barka E.A., Dhondt-Cordelier S., Vaillant-Gaveau N. Burkholderia phytofirmans* PsJN reduces impact of freezing temperatures on photosynthesis in *Arabidopsis thaliana* // Front. Plant Sci. 2015. V. 6. art. 810. doi: 10.3389/fpls.2015.00810.

92. *Yang A., Akhtar S.S., Fu Q., Naveed M., Iqbal S., Roitsch T., Jacobsen S.-E. Burkholderia phytofirmans PsJN* stimulate growth and yield of quinoa under salinity stress // Plants. 2020. V. 9, No 6. art. 672. doi: 10.3390/plants9060672.

93. *Theocharis A., Bordiec S., Fernandez O., Paquis S., Dhondt-Cordelier S., Baillieul F., Clément C., Barka E.A. Burkholderia phytofirmans* PsJN primes *Vitis vinifera* L. and confers a better tolerance to low nonfreezing temperatures // Mol. Plant-Microbe Interact. 2012. V. 25, No 2. P. 241–249. doi: 10.1094/MPMI-05-11-0124.

94. *Ma Y., Rajkumar M., Zhang C., Freitas H.* Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal phytoremediation // J. Environ. Manage. 2016. V. 174. P. 14–25. doi: 10.1016/j.jenvman.2016.02.047.

95. *Madhaiyan M., Poonguzhali S., Sa T.* Metal tolerating methylotrophic bacteria reduces nickel and cadmium toxicity and promotes plant growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) // Chemosphere. 2007. V. 69, No 2. P. 220–228. doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.04.017.

96. *Lafi F.F., AlBladi M.L., Salem N.M., Al-Banna L., Alam I., Bajic V.B., Hirt H., Saad M.M.* Draft genome sequence of the plant growth-promoting *Pseudomonas punonensis* strain D1-6 isolated from the desert plant *Erodium hirtum* in Jordan // Genome Announce. 2017. V. 5, No 2. art. e01437-16. doi: 10.1128/genomeA.01437-16.

97. *Gourion B., Berrabah F., Ratet P., Stacey G.* Rhizobium–legume symbioses: The crucial role of plant immunity // Trends Plant Sci. 2015. V. 20, No 3. P. 186–194. doi: 10.1016/j.tplants.2014.11.008.

98. *Straub D., Rothballer M., Hartmann A., Ludewig U.* The genome of the endophytic bacterium *H. frisingense* GSF30^{T} identifies diverse strategies in the *Herbaspirillum*

genus to interact with plants // Front. Microbiol. 2013. V. 4. art. 168. doi: 10.3389/fmicb.2013.00168.

99. *Moyes A.B., Kueppers L.M., Pett-Ridge J., Carper D.L., Vandehey N., O'Neil J., Frank A.C.* Evidence for foliar endophytic nitrogen fixation in a widely distributed subalpine conifer // New Phytol. 2016. V. 210, No 2. P. 657–668. doi: 10.1111/nph.13850.

100. *Puri A., Padda K.P., Chanway C.P.* Seedling growth promotion and nitrogen fixation by a bacterial endophyte *Paenibacillus polymyxa* P2b-2R and its GFP derivative in corn in a long-term trial // Symbiosis. 2016. V. 69, No 2. P. 123–129. doi: 10.1007/s13199-016-0385-z.

101. *Schalk I.J., Hannauer M., Braud A.* New roles for bacterial siderophores in metal transport and tolerance // Environ. Microbiol. 2011. V. 13, No 11. P. 2844–2854. doi: 10.1111/j.1462-2920.2011.02556.x.

102. *Oteino N., Lally R.D., Kiwanuka S., Lloyd A., Ryan D., Germaine K.J., Dowling D.N.* Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates // Front. Microbiol. 2015. V. 6. art. 745. doi: 10.3389/fmicb.2015.00745.

103. *Bodenhausen N., Somerville V., Desirò A., Walser J.-C., Borghi L., van der Heijden M.G.A., Schlaeppi K.* Petunia- and Arabidopsis-specific root microbiota responses to phosphate supplementation // Phytobiomes J. 2019. V. 3, No 2. P. 112–124. doi: 10.1094/PBIOMES-12-18-0057-R.

104. *Kusari P., Kusari S., Lamshöft M., Sezgin S., Spiteller M., Kayser O.* Quorum quenching is an antivirulence strategy employed by endophytic bacteria // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2014. V. 98, No 16. P. 7173–7183. doi: 10.1007/s00253-014-5807-3.

105. *Carrión V.J. Cordovez V., Tyc O., Etalo D.W., de Bruijn I., de Jager V.C.L., Medema M.H., Eberl L., Raaijmakers J.M.* Involvement of Burkholderiaceae and sulfurous volatiles in disease-suppressive soils // ISME J. 2018. V. 12, No 9. P. 2307–2321. doi: 10.1038/s41396-018-0186-x.

106. *Weisskopf L., Schulz S., Garbeva P.* Microbial volatile organic compounds in intra-kingdom and inter-kingdom interactions // Nat. Rev. Microbiol. 2021. V. 19, No 6. P. 391–404. doi: 10.1038/s41579-020-00508-1.

107. *D'Alessandro M., Erb M., Ton J., Brandenburg A., Karlen D., Zopfi J., Turlings T.C.J.* Volatiles produced by soil-borne endophytic bacteria increase plant pathogen resistance and affect tritrophic interactions // Plant Cell Environ. 2014. V. 37, No 4. P. 813–826. doi: 10.1111/pce.12220.

108. *De la Cruz-Lopez N., Cruz-López L., Holguín-Meléndez F., Guillén-Navarro G.K., Huerta-Palacios G.* Volatile organic compounds produced by cacao endophytic bacteria and their inhibitory activity on *Moniliophthora roreri* // Curr. Microbiol. 2022. V. 79, No 2. art. 35. doi: 10.1007/s00284-021-02696-2.

109. *Sibanda S., Moleleki L.N., Shyntum D.Y., Coutinho T.A.* Quorum sensing in gram-negative plant pathogenic bacteria // Kimatu J.N. (Ed.) Advances in Plant Pathology. InTech, 2018. P. 67–89. doi: 0.5772/intechopen.78003.

110. *Newman K.L., Chatterjee S., Ho K.A., Lindow S.E.* Virulence of plant pathogenic bacteria attenuated by degradation of fatty acid cell-to-cell signaling factors // Mol. Plant-Microbe Interact. 2008. V. 21, No 3. P. 326–334. doi: 10.1094/MPMI-21-3-0326.

111. *Martinez-Medina A., Flors V., Heil M., Mauch-Mani B., Pieterse C.M.J., Pozo M.J., Ton J., van Dam N.M., Conrath U.* Recognizing plant defense priming // Trends Plant Sci. 2016. V. 21, No 10. P. 818–822. doi: 10.1016/j.tplants.2016.07.009.

112. *Glaeser S.P., Imani J., Alabid I., Guo H., Kumar N., Kämpfer P., Hardt M., Blom J., Goesmann A., Rothballer M., Hartmann A., Kogel K.-H.* Non-pathogenic *Rhizobium*

radiobacter F4 deploys plant beneficial activity independent of its host *Piriformospora indica* // ISME J. 2015. V. 10, No 4. P. 871–884. doi: 10.1038/ismej.2015.163.

113. *Roberts E., Lindow S.* Loline alkaloid production by fungal endophytes of *Fescue* species select for particular epiphytic bacterial microflora // ISME J. 2013. V. 8, No 2. P. 359–368. doi: 10.1038/ismej.2013.170.

114. *Aly A.H., Debbab A., Kjer J., Proksch P.* Fungal endophytes from higher plants: A prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products // Fungal Diversity. 2010. V. 41, No 1. P. 1–16. doi: 10.1007/s13225-010-0034-4.

115. *Abdel-Azeem A.M., Abdel-Azeem M.A., Khalil W.F.* Chapter 21 – Endophytic fungi as a new source of antirheumatoid metabolites // Watson R.R., Preedy V. R. (Eds.) Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases. Acad. Press, 2019. P. 355–384. doi: 10.1016/B978-0-12-813820-5.00021-0.

Поступила в редакцию 12.07.2022
Принята к публикации 28.09.2022

Галиева Гульназ Шайхинуровна – научный сотрудник НИЛ OpenLab «Биоконтроль»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *goolnaz@rambler.ru*

Галицкая Полина Юрьевна – доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник НИЛ OpenLab «Биоконтроль»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *gpolina33@yandex.ru*

Селивановская Светлана Юрьевна – доктор биологических наук, профессор, директор Института экологии и природопользования, профессор кафедры прикладной экологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *svetlana.selivanovskaya@kpfu.ru*

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI

(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2023, vol. 165, no. 2, pp. 231–262

REVIEW ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.231-262

Plant Microbiome: Origin, Composition, and Functions

G.Sh. Galieva [*], *P.Yu. Galitskaya* [**], *S.Yu. Selivanovskaya* [***]

Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia

E-mail: [*]*goolnaz@rambler.ru*, [**]*gpolina33@yandex.ru*, ***svetlana.selivanovskaya@kpfu.ru*

Received July 12, 2022; Accepted September 28, 2022

Abstract

Microorganisms play an important role in the growth and development of a plant throughout its entire life cycle. Recent advances in the methods of molecular biological analysis have expanded our understand-

ing of the composition and functions of plant microbiota (epiphytic, rhizosphere, and endosphere) and the molecular mechanisms associated with specific processes that govern plant-microorganism interactions. This article reviews the types of plant microbial communities, their sources of origin, and species composition, as well as the critical role they play in modulating the plant immune response against phytopathogens, improving the elemental nutrition of plants, scaring away herbivorous animals, producing phytohormones, and enabling plants to thrive under extreme environmental conditions.

Keywords: phytobiome, rhizosphere microbiome, phyllosphere microbiome, epiphytic microbiome, endosphere microbiome, mycorrhiza, vertical and horizontal transfer of endosphere microorganisms, phytohormones, plant immune response, plant nutrition, phytopathogens

Acknowledgements. This study was funded by the subsidy allocated to Kazan Federal University for the state assignment in the sphere of scientific activities (project no. FZSM-2022-0003).

Figure Captions

Fig. 1. Plant phytobiome structure.

Fig. 2. Members of plant-associated microbial communities: main, additional, hub species, satellite species

References

1. Compant S., Samad A., Faist H., Sessitsch A. A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application. *J. Adv. Res.*, 2019, vol. 19, pp. 29–37. doi: 10.1016/j.jare.2019.03.004.
2. Leach J.E., Triplett L.R., Argueso C.T., Trivedi P. Communication in the phytobiome. *Cell*, 2017, vol. 169, no. 4, pp. 587–596. doi: 10.1016/j.cell.2017.04.025.
3. Zhang H., Li X., Yang Q., Sun L., Yang X., Zhou M., Deng R., Bi L. Plant growth, antibiotic uptake, and prevalence of antibiotic resistance in an endophytic system of pakchoi under antibiotic exposure. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2017, vol. 14, no. 11, art. 1336. doi: 10.3390/ijerph14111336.
4. de Souza R., Ambrosini A., Passaglia L.M.P. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genet. Mol. Biol.*, 2015, vol. 38, no. 4, pp. 401–419. doi: 10.1590/S1415-475738420150053.
5. Gray E.J., Smith D.L. Intracellular and extracellular PGPR: Commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. *Soil Biol. Biochem.*, 2005, vol. 37, no. 3, pp. 395–412. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.08.030.
6. Bulgarelli D., Schlaeppi K., Spaepen S., van Themaat E.V.L., Schulze-Lefert P. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2013, vol. 64, pp. 807–838. doi: 10.1146/annurev-arplant-050312-120106.
7. Hassani M.A., Durán P., Hacquard S. Microbial interactions within the plant holobiont. *Microbiome*, 2018, vol. 6, no. 1, art. 58. doi: 10.1186/s40168-018-0445-0.
8. Trivedi P., Leach J.E., Tringe S.G., Sa T., Singh B.K. Plant–microbiome interactions: From community assembly to plant health. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2020, vol. 18, no. 11, pp. 607–621. doi: 10.1038/s41579-020-0412-1.
9. Begum N., Qin C., Ahanger M.A., Raza S., Khan M.I., Ashraf M., Ahmed M., Zhang L. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: Implications in abiotic stress tolerance. *Front. Plant Sci.*, 2019, vol. 10, art. 1068. doi: 10.3389/fpls.2019.01068.
10. Semenov M., Nikitin D.A., Stepanov A.L., Semenov V.M. The structure of bacterial and fungal communities in the rhizosphere and root-free loci of gray forest soil. *Eurasian Soil Sci.*, 2019, vol. 3, pp. 355–369. doi: 10.1134/S1064229319010137.
11. Afzal I., Shinwari Z.K., Sikandar S., Shahzad S. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiol. Res.*, 2019, vol. 221, pp. 36–49. doi: 10.1016/j.micres.2019.02.001.
12. Dong C., Wang L., Li Q., Shang Q. Epiphytic and endophytic fungal communities of tomato plants. *Hortic. Plant J.*, 2021, vol. 7, no. 1, pp. 38–48. doi: 10.1016/j.hpj.2020.09.002.

13. Lopez-Echartea E., Strejcek M., Mukherjee S., Uhlik O., Yrjälä K. Bacterial succession in oil-contaminated soil under phytoremediation with poplars. *Chemosphere*, 2020, vol. 243, art. 125242. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.125242.
14. Hamonts K., Trivedi P., Garg A., Janitz C., Grinyer J., Holford P., Botha F.C., Anderson I.C., Singh B.K. Field study reveals core plant microbiota and relative importance of their drivers. *Environ. Microbiol.*, 2018, vol. 20, no. 1, pp. 124–140. doi: 10.1111/1462-2920.14031.
15. Rastogi G., Sbodio A., Tech J.J., Suslow T.V., Coaker G.L., Leveau J.H.J. Leaf microbiota in an agroecosystem: Spatiotemporal variation in bacterial community composition on field-grown lettuce. *ISME J.*, 2012, vol. 6, no. 10, pp. 1812–1822. doi: 10.1038/ismej.2012.32.
16. Ruppel S., Krumbein A., Schreiner M. Composition of the phyllospheric microbial populations on vegetable plants with different glucosinolate and carotenoid compositions. *Microb. Ecol.*, 2008, vol. 56, no. 2, pp. 364–372. doi: 10.1007/s00248-007-9354-7.
17. Steven B., Huntley R.B., Zeng Q. The influence of flower anatomy and apple cultivar on the apple flower phytobiome. *Phytobiomes J.*, 2018, vol. 2, no. 3, pp. 171–179. doi: 10.1094/PBIOMES-03-18-0015-R.
18. Inácio J., Pereira P., Carvalho M., Fonseca Á., Amaral-Collaço M.T., Spencer-Martins I. Estimation and diversity of phylloplane mycobiota on selected plants in a Mediterranean-type ecosystem in Portugal. *Microb. Ecol.*, 2002, vol. 44, no. 4, pp. 344–353. doi: 10.1007/s00248-002-2022-z.
19. Preto G., Martins F., Pereira J.A., Baptista P. Fungal community in olive fruits of cultivars with different susceptibilities to anthracnose and selection of isolates to be used as biocontrol agents. *Biol. Control*, 2017, vol. 110, pp. 1–9. doi: 10.1016/j.biocontrol.2017.03.011.
20. Rivas-Franco F., Hampton J.G., Narciso J., Rostás M., Wessman P., Saville D.J., Jackson T.A., Glare T.A. Effects of a maize root pest and fungal pathogen on entomopathogenic fungal rhizosphere colonization, endophytism and induction of plant hormones. *Biol. Control*, 2020, vol. 150, art. 104347. doi: 10.1016/j.biocontrol.2020.104347.
21. Ma B., Lv X., Warren A., Gong J. Shifts in diversity and community structure of endophytic bacteria and archaea across root, stem and leaf tissues in the common reed, *Phragmites australis*, along a salinity gradient in a marine tidal wetland of northern China. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2013, vol. 104, no. 5, pp. 759–768. doi: 10.1007/s10482-013-9984-3.
22. Zuo Y., Hu Q., Zhang K., He X. Host and tissue affiliations of culturable endophytic fungi associated with xerophytic plants in the desert region of Northwest China. *Agronomy*, 2022, vol. 12, no. 3, art. 727. doi: 10.3390/agronomy12030727.
23. Liu H., Carvalhais L.C., Crawford M., Singh E., Dennis P.G., Pieterse C.M.J., Schenk P.M. Inner plant values: Diversity, colonization and benefits from endophytic bacteria. *Front. Microbiol.*, 2017, vol. 8, art. 2552. doi: 10.3389/fmicb.2017.02552.
24. Chebotar V.K., Malfanova N.V., Shcherbakov A.V., Ahtemova G.A., Borisov A.Y., Lugtenberg B., Tikhonovich I.A. Endophytic bacteria in microbial drugs that improve plant development (Review). *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2015, vol. 51, no. 3, pp. 271–277. doi: 10.1134/S0003683815030059.
25. Durán M., San Emeterio L., Canals R.M. Comparison of culturing and metabarcoding methods to describe the fungal endophytic assemblage of *Brachypodium rupestre* growing in a range of anthropized disturbance regimes. *Biology*, 2021, vol. 10, no. 12, art. 1246. doi: 10.3390/biology10121246.
26. Duan M., Li H., Gu J., Tuo X., Sun W., Qian X., Wang X. Effects of biochar on reducing the abundance of oxytetracycline, antibiotic resistance genes, and human pathogenic bacteria in soil and lettuce. *Environ. Pollut.*, 2017, vol. 224, pp. 787–795. doi: 10.1016/j.envpol.2017.01.021.
27. Taye Z.M., Helgason B.L., Bell J.K., Norris C.E., Vail S., Robinson S.J., Parkin I.A.P., Arcand M., Mamet S., Links M.G., Dowhy T., Siciliano S., Lamb E.G. Core and differentially abundant bacterial taxa in the rhizosphere of field grown *Brassica napus* genotypes: Implications for canola breeding. *Front. Microbiol.*, 2020, vol. 10, art. 3007. doi: 10.3389/fmicb.2019.03007.
28. Toju H., Peay K.G., Yamamichi M., Narisawa K., Hiruma K., Naito K., Fukuda S., Ushio M., Nakaoka S., Onoda Y., Yoshida K., Schlaeppi K., Bai Y., Sugiura R., Ichihashi Y., Minamisawa K., Kiers E.T. Core microbiomes for sustainable agroecosystems. *Nat. Plants*, 2018, vol. 4, no. 5, pp. 247–257. doi: 10.1038/s41477-018-0139-4.

29. Jousset A., Bienhold C., Chatzinotas A., Gallien L., Gobet A., Kurm V., Küsel K., Rillig M.C., Rivett D.W., Salles J.F., van der Heijden M.G.A., Youssef N.H., Zhang X., Wei Z., Hol W.H.G. Where less may be more: How the rare biosphere pulls ecosystems strings. *ISME J.*, 2017, vol. 11, no. 4, pp. 853–862. doi: 10.1038/ismej.2016.174.

30. Hanski I. Dynamics of regional distribution: The core and satellite species hypothesis. *Oikos*, 1982, vol. 38, no. 2, pp. 210–221. doi: 10.2307/3544021.

31. Chambers L.G., Guevara R., Boyer J.N., Troxler T.G., Davis S.E. Effects of salinity and inundation on microbial community structure and function in a mangrove peat soil. *Wetlands*, 2016, vol. 36, no. 2, pp. 361–371. doi: 10.1007/s13157-016-0745-8.

32. Lemanceau P., Blouin M., Muller D., Moënne-Loccoz Y. Let the core microbiota be functional. *Trends Plant Sci.*, 2017, vol. 22, no. 7, pp. 583–595. doi: 10.1016/j.tplants.2017.04.008.

33. Hol W.H.G., de Boer W., de Hollander M., Kuramae E.E., Meisner A., van der Putten W.H. Context dependency and saturating effects of loss of rare soil microbes on plant productivity. *Front. Plant Sci.*, 2015, vol. 6, art. 485. doi: 10.3389/fpls.2015.00485.

34. Zhang Y.-J., Hu H.-W., Chen Q.-L., Singh B.K., Yan H., Chen D., He J.-Z. Transfer of antibiotic resistance from manure-amended soils to vegetable microbiomes. *Environ. Int.*, 2019, vol. 130, art. 104912. doi: 10.1016/j.envint.2019.104912.

35. Mendes R., Garbeva P., Raaijmakers J.M. The rhizosphere microbiome: Significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2013, vol. 37, no. 5, pp. 634–663. doi: 10.1111/1574-6976.12028.

36. Gans J., Wolinsky M., Dunbar J. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil. *Science*, 2005, vol. 309, no. 5739, pp. 1387–1390. doi: 10.1126/science.1112665.

37. Zarraonaindia I., Owens S.M., Weisenhorn P., West K., Hampton-Marcell J., Lax S., Bokulich N.A., Mills D.A., Martin G., Taghavi S., van der Lelie D., Gilbert J.A. The soil microbiome influences grapevine-associated microbiota. *mBio*, 2015, vol. 6, no. 2, art. e02527-14. doi: 10.1128/mBio.02527-14.

38. Coleman-Derr D., Desgarennes D., Fonseca-Garcia C., Gross S., Clingenpeel S., Woyke T., North G., Visel A., Partida-Martinez L.P., Tringe S.G. Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native *Agave* species. *New Phytol.*, 2016, vol. 209, no. 2, pp. 798–811. doi: 10.1111/nph.13697.

39. de Souza R.S.C., Okura V.K., Armanhi J.S.L., Jorrín B., Lozano N., da Silva M.J., González-Guerrero M., de Araújo L.M., Verza N.C., Bagheri H.C., Imperial J., Arruda P. Unlocking the bacterial and fungal communities assemblages of sugarcane microbiome. *Sci. Rep.*, 2016, vol. 6, no. 1, art. 28774. doi: 10.1038/srep28774.

40. Rozpądek P., Domka A.M., Nosek M., Ważny R., Jędrzejczyk R.J., Wiciarz M., Turnau K. The role of strigolactone in the cross-talk between *Arabidopsis thaliana* and the endophytic fungus *Mucor* sp. *Front. Microbiol.*, 2018, vol. 9, art. 441. doi: 10.3389/fmicb.2018.00441.

41. Arora N.K., Mishra J. Prospecting the roles of metabolites and additives in future bioformulations for sustainable agriculture. *Appl. Soil Ecol.*, 2016, vol. 107, pp. 405–407. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.05.020.

42. Oldroyd G.E.D. Speak, friend, and enter: Signalling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2013, vol. 11, no. 4, pp. 252–263. doi: 10.1038/nrmicro2990.

43. Adebajo S.O., Akintokun P.O., Ojo A.E., Akintokun A.K., Badmos O.A. Recovery of biosurfactant using different extraction solvent by rhizospheric bacteria isolated from rice-husk and poultry waste biochar amended soil. *Egypt. J. Basic Appl. Sci.*, 2020, vol. 7, no. 1, pp. 252–266. doi: 10.1080/2314808X.2020.1797377.

44. Goswami M., Deka S. Biosurfactant production by a rhizosphere bacteria *Bacillus altitudinis* MS16 and its promising emulsification and antifungal activity. *Colloids Surf., B*, 2019, vol. 178, pp. 285–296. doi: 10.1016/j.colsurfb.2019.03.003.

45. Pessione E., Garcia-Contreras R. Non-conventional antimicrobial agents. In: Rezaei N. (Ed.) *Encyclopedia of Infection and Immunity.* Vol. 4. Elsevier, 2022. pp. 586–607. doi: 10.1016/B978-0-12-818731-9.00136-1.

46. Wang F., Fu Y.-H., Sheng H.-J., Topp E., Jiang X., Zhu Y.-G., Tiedje J.M. Antibiotic resistance in the soil ecosystem: A One Health perspective. *Curr. Opin. Environ. Sci. Health*, 2021, vol. 20, art. 100230. doi: 10.1016/j.coesh.2021.100230.

47. Malfanova N., Franzil L., Lugtenberg B., Chebotar V., Ongena M. Cyclic lipopeptide profile of the plant-beneficial endophytic bacterium *Bacillus subtilis* HC8. *Arch. Microbiol.*, 2012, vol. 194, no. 11, pp. 893–899. doi: 10.1007/s00203-012-0823-0.

48. Awasthi N., Kumar A., Makkar R., Cameotra S.S. Biodegradation of soil-applied endosulfan in the presence of a biosurfactant. *J. Environ. Sci. Health, Part B*, 1999, vol. 34, no. 5, pp. 793–803. doi: 10.1080/03601239909373226.

49. Dobrovol'skaya T.G. *Struktura bakterial'nykh soobshchestv pochv* [The Structure of Soil Bacterial Communities]. Moscow, IKTs Akademkniga, 2002. 282 p. (In Russian)

50. Feoktistova N.V., Mardanova A.M., Hadieva G.F., Sharipova M.R. Rhizosphere bacteria. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2016, vol. 158, no. 2, pp. 207–224. (In Russian)

51. Matilla M.A., Espinosa-Urgel M., Rodríguez-Herva J.J., Ramos J.L., Ramos-González M.I. Genomic analysis reveals the major driving forces of bacterial life in the rhizosphere. *Genome Biol.*, 2007, vol. 8, no. 9, art. R179. doi: 10.1186/gb-2007-8-9-r179.

52. Gamalero E., Lingua G., Berta G., Lemanceau P. Methods for studying root colonization by introduced beneficial bacteria. In: Lichtfouse E., Navarrete M., Debaeke P., Véronique S., Alberola C. (Eds.) *Sustainable Agriculture*. Dordrecht, Springer, 2009, pp. 601–615. doi: 10.1007/978-90-481-2666-8_37.

53. Compant S., Clément C., Sessitsch A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biol. Biochem.*, 2010, vol. 42, no. 5, pp. 669–678. doi: 10.1016/j.soilbio.2009.11.024.

54. Jiménez-Bremont J.F., Marina M., Guerrero-González M. de la L., Rossi F.R., Sánchez-Rangel D., Rodríguez-Kessler M., Ruiz O.A., Gárriz A. Physiological and molecular implications of plant polyamine metabolism during biotic interactions. *Front. Plant Sci.*, 2014, vol. 5, art. 95. doi: 10.3389/fpls.2014.00095.

55. Labutova N.M. Interactions between endomycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms. *Mikol. Fitopatol.*, 2009, vol. 43, no. 1, pp. 3–19. (In Russian)

56. Pattnaik S.S., Busi S. Rhizospheric fungi: Diversity and potential biotechnological applications. In: Yadav A., Mishra S., Singh S., Gupta A. (Eds) *Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi.* Vol. 1: Diversity and enzymes perspectives. Ser.: Fungal Biology. Cham, Springer, 2019, pp. 63–84. doi: 10.1007/978-3-030-10480-1_2.

57. Kennedy A.C., de Luna L.Z. Rhizosphere. In: Hillel D. (Ed.) *Encyclopedia of Soils in the Environment*. Vol. 4. Acad. Press, 2005, pp. 399–406. doi: 10.1016/B0-12-348530-4/00163-6.

58. Poveda J., Eugui D., Abril-Urías P., Velasco P. Endophytic fungi as direct plant growth promoters for sustainable agricultural production. *Symbiosis*, 2021, vol. 85, no. 1, pp. 1–19. doi: 10.1007/s13199-021-00789-x.

59. Rajkumar H.G., Seema H.S., Sunil Kumar C.P. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with some medicinal plants in Western Ghats of Karnataka region, India. *World J. Nucl. Sci. Technol.*, 2012, vol. 2, no. 1, pp. 13–20.

60. Coutinho T.A., Bophela K.N. Chapter 7 – Tree leaves as a habitat for phyllobacteria. In: Asiegbu F.O., Kovalchuk A. (Eds.) *Forest Microbiology*. Vol. 1: Tree microbiome: Phyllosphere, endosphere and rhizosphere. Acad. Press, 2021, pp. 133–144. doi: 10.1016/B978-0-12-822542-4.00001-2.

61. Lindow S.E., Brandl M.T. Microbiology of the phyllosphere. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, vol. 69, no. 4, pp. 1875–1883. doi: 10.1128/AEM.69.4.1875-1883.2003.

62. Sundin G.W., Jacobs J.L. Ultraviolet radiation (UVR) sensitivity analysis and UVR survival strategies of a bacterial community from the phyllosphere of field-grown peanut (*Arachis hypogeae* L.). *Microb. Ecol.*, 1999, vol. 38, no. 1, pp. 27–38. doi: 10.1007/s002489900152.

63. Bunster L., Fokkema N.J., Schippers B. Effect of surface-active *Pseudomonas* spp. on leaf wettability. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1989, vol. 55, no. 6, pp. 1340–1345. doi: 10.1128/aem.55.6.1340-1345.1989.

64. Yao H., Sun X., He C., Maitra P., Li X.-C., Guo L.-D. Phyllosphere epiphytic and endophytic fungal community and network structures differ in a tropical mangrove ecosystem. *Microbiome*, 2019, vol. 7, no. 1, art. 57. doi: 10.1186/s40168-019-0671-0.

65. Rodrigo S., García-Latorre C., Santamaria O. Metabolites produced by fungi against fungal phytopathogens: Review, implementation and perspectives. *Plants*, 2022, vol. 11, no. 1, art. 81. doi: 10.3390/plants11010081.

66. Rosenblueth M., Martínez-Romero E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 2006, vol. 19, no. 8, pp. 827–837. doi: 10.1094/MPMI-19-0827.

67. Alam B., Lǐ J., Gě Q., Khan M.A., Gōng J., Mehmood S., Yuán Y., Gǒng W. Endophytic fungi: From symbiosis to secondary metabolite communications or vice versa? *Front. Plant Sci.*, 2021, vol. 12, art. 791033. doi: 10.3389/fpls.2021.791033.

68. Zhang H., Li X., Yang Q., Sun L., Yang X., Zhou M., Deng R., Bi L. Plant growth, antibiotic uptake, and prevalence of antibiotic resistance in an endophytic system of pakchoi under antibiotic exposure. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2017, vol. 14, no. 11, art. 1336. doi: 10.3390/ijerph14111336.

69. Buschart A., Sachs S., Chen X., Herglotz J., Krause A., Reinhold-Hurek B. Flagella mediate endophytic competence rather than act as MAMPS in rice – *Azoarcus* sp. strain BH72 interactions. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 2012, vol. 25, no. 2, pp. 191–199. doi: 10.1094/MPMI-05-11-0138.

70. Vandenkoornhuyse P., Quaiser A., Duhamel M., Le Van A., Dufresne A. The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytol.*, 2015, vol. 206, no. 4, pp. 1196–1206. doi: 10.1111/nph.13312.

71. Zipfel C., Robatzek S., Navarro L., Oakeley E.J., Jones J.D.G., Felix G., Boller T. Bacterial disease resistance in *Arabidopsis* through flagellin perception. *Nature*, 2004, vol. 428, no. 6984, pp. 764 -- 767. doi: 10.1038/nature02485.

72. Khare E., Mishra J., Arora N.K. Multifaceted interactions between endophytes and plant: Developments and prospects. *Front. Microbiol.*, 2018, vol. 9, art. 2732. doi: 10.3389/fmicb.2018.02732.

73. Bhore S.J., Nithya R., Loh C.Y. Screening of endophytic bacteria isolated from leaves of Sambung Nyawa [*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.] for cytokinin-like compounds. *Bioinformation*, 2010, vol. 5, no. 5, pp. 191–197. doi: 10.6026/97320630005191.

74. Shahzad R., Waqas M., Khan A.L., Asaf S., Khan M.A., Kang S.-M., Yun B.-W., Lee I.-J. Seed-borne endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 produces gibberellins and regulates endogenous phytohormones of *Oryza sativa*. *Plant Physiol. Biochem.*, 2016, vol. 106, pp. 236–243. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.05.006.

75. Tian B.-Y., Cao Y., Zhang K.-Q. Metagenomic insights into communities, functions of endophytes and their associates with infection by root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in tomato roots. *Sci. Rep.*, 2015, vol. 5, no. 1, art. 17087. doi: 10.1038/srep17087.

76. Sessitsch A., Hardoim P., Döring J., Weilharter A., Krause A., Woyke T., Mitter B., Hauberg-Lotte L., Friedrich F., Rahalkar M., Hurek T., Sarkar A., Bodrossy L., van Overbeek L., Brar D., van Elsas J.D., Reinhold-Hurek B. Functional characteristics of an endophyte community colonizing rice roots as revealed by metagenomic analysis. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 2012, vol. 25, no. 1, pp. 28–36. doi: 10.1094/MPMI-08-11-0204.

77. Ye W., Murata Y. Microbe associated molecular pattern signaling in guard cells. *Front. Plant Sci.*, 2016, vol. 7, art. 583. doi: 10.3389/fpls.2016.00583.

78. Krause A., Ramakumar A., Bartels D., Battistoni F., Bekel T., Boch J., Böhm M., Friedrich F., Hurek T., Krause L., Linke B., McHardy A.C., Sarkar A., Schneiker S., Syed A.A., Thauer R., Vorhölter F.-J., Weidner S., Pühler A., Reinhold-Hurek B., Kaiser O., Goesmann A. Complete genome of the mutualistic, N_2-fixing grass endophyte *Azoarcus* sp. strain BH72. *Nat. Biotechnol.*, 2006, vol. 24, no. 11, pp. 1384–1391. doi: 10.1038/nbt1243.

79. Frank A.C., Saldierna Guzmán J.P., Shay J.E. Transmission of bacterial endophytes. *Microorganisms*, 2017, vol. 5, no. 4, art. 70. doi: 10.3390/microorganisms5040070.

80. Lòpez-Fernandez S., Mazzoni V., Pedrazzoli F., Pertot I., Campisano A. A phloem-feeding insect transfers bacterial endophytic communities between grapevine plants. *Front. Microbiol.*, 2017, vol. 8, art. 834. doi: 10.3389/fmicb.2017.00834.

81. Puente M.E., Li C.Y., Bashan Y. Endophytic bacteria in cacti seeds can improve the development of cactus seedlings. *Environ. Exp. Bot.*, 2009, vol. 66, no. 3, pp. 402–408. doi: 10.1016/j.envexpbot.2009.04.007.

82. Rout M.E., Chrzanowski T.H., Westlie T.K., DeLuca T.H., Callaway R.M., Holben W.E. Bacterial endophytes enhance competition by invasive plants. *Am. J. Bot.*, 2013, vol. 100, no. 9, pp. 1726 -- 1737. doi: 10.3732/ajb.1200577.

83. Schardl C.L. *Epichloë festucae* and related mutualistic symbionts of grasses. *Fungal Genet. Biol.*, 2001, vol. 33, no. 2, pp. 69–82. doi: 10.1006/fgbi.2001.1275.

84. Cope-Selby N., Cookson A., Squance M., Donnison I., Flavell R., Farrar K. Endophytic bacteria in Miscanthus seed: Implications for germination, vertical inheritance of endophytes, plant evolution and breeding. *GCB Bioenergy*, 2017, vol. 9, no. 1, pp. 57–77. doi: 10.1111/gcbb.12364.

85. Barret M., Briand M., Bonneau S., Préveaux A., Valière S., Bouchez O., Hunault G., Simoneau P., Jacquesa M.-A. Emergence shapes the structure of the seed microbiota. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2015, vol. 81, no. 4, pp. 1257–1266. doi: 10.1128/AEM.03722-14.

86. Truyens S., Weyens N., Cuypers A., Vangronsveld J. Bacterial seed endophytes: Genera, vertical transmission and interaction with plants. *Environ. Microbiol. Rep.*, 2015, vol. 7, no. 1, pp. 40–50. doi: 10.1111/1758-2229.12181.

87. Thomas P., Sahu P.K. Vertical transmission of diverse cultivation-recalcitrant endophytic bacteria elucidated using watermelon seed embryos. *Front. Microbiol.*, 2021, vol. 12, art. 635810. doi: 10.3389/fmicb.2021.635810.

88. Khan A.L., Waqas M., Kang S.-M., Al-Harrasi A., Hussain J., Al-Rawahi A., Al-Khiziri S., Ullah I., Ali L., Jung H.-Y., Lee I.-J. Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. *J. Microbiol.*, 2014, vol. 52, no. 8, pp. 689–695. doi: 10.1007/s12275-014-4002-7.

89. Qin S., Zhang Y.-J., Yuan B., Xu P.-Y., Xing K., Wang J., Jiang J.-H. Isolation of ACC deaminase-producing habitat-adapted symbiotic bacteria associated with halophyte *Limonium sinense* (Girard) Kuntze and evaluating their plant growth-promoting activity under salt stress. *Plant Soil*, 2013, vol. 374, no. 1, pp. 753–766. doi: 10.1007/s11104-013-1918-3.

90. Subramanian P., Mageswari A., Kim K., Lee Y., Sa T. Psychrotolerant endophytic *Pseudomonas* sp. strains OB155 and OS261 induced chilling resistance in tomato plants (*Solanum lycopersicum* Mill.) by activation of their antioxidant capacity. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 2015, vol. 28, no. 10, pp. 1073–1081. doi: 10.1094/MPMI-01-15-0021-R.

91. Su F., Jacquard C., Villaume S., Michel J., Rabenoelina F., Clément C., Barka E.A., Dhondt-Cordelier S., Vaillant-Gaveau N. *Burkholderia phytofirmans* PsJN reduces impact of freezing temperatures on photosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Front. Plant Sci.*, 2015, vol. 6, art. 810. doi: 10.3389/fpls.2015.00810.

92. Yang A., Akhtar S.S., Fu Q., Naveed M., Iqbal S., Roitsch T., Jacobsen S.-E. *Burkholderia phytofirmans* PsJN stimulate growth and yield of quinoa under salinity stress. *Plants*, 2020, vol. 9, no. 6, art. 672. doi: 10.3390/plants9060672.

93. Theocharis A., Bordiec S., Fernandez O., Paquis S., Dhondt-Cordelier S., Baillieul F., Clément C., Barka E.A. *Burkholderia phytofirmans* PsJN primes *Vitis vinifera* L. and confers a better tolerance to low nonfreezing temperatures. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 2012, vol. 25, no. 2, pp. 241–249. doi: 10.1094/MPMI-05-11-0124.

94. Ma Y., Rajkumar M., Zhang C., Freitas H. Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal phytoremediation. *J. Environ. Manage.*, 2016, vol. 174, pp. 14–25. doi: 10.1016/j.jenvman.2016.02.047.

95. Madhaiyan M., Poonguzhali S., Sa T. Metal tolerating methylotrophic bacteria reduces nickel and cadmium toxicity and promotes plant growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Chemosphere*, 2007, vol. 69, no. 2, pp. 220–228. doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.04.017.

96. Lafi F.F., AlBladi M.L., Salem N.M., Al-Banna L., Alam I., Bajic V.B., Hirt H., Saad M.M. Draft genome sequence of the plant growth-promoting *Pseudomonas punonensis* strain D1-6 isolated from the desert plant *Erodium hirtum* in Jordan. *Genome Announce.*, 2017, vol. 5, no. 2, art. e01437-16. doi: 10.1128/genomeA.01437-16.

97. Gourion B., Berrabah F., Ratet P., Stacey G. Rhizobium–legume symbioses: The crucial role of plant immunity. *Trends Plant Sci.*, 2015, vol. 20, no. 3, pp. 186–194. doi: 10.1016/j.tplants.2014.11.008.

98. Straub D., Rothballer M., Hartmann A., Ludewig U. The genome of the endophytic bacterium *H. frisingense* GSF30^{T} identifies diverse strategies in the *Herbaspirillum* genus to interact with plants. *Front. Microbiol.*, 2013, vol. 4, art. 168. doi: 10.3389/fmicb.2013.00168.

99. Moyes A.B., Kueppers L.M., Pett-Ridge J., Carper D.L., Vandehey N., O'Neil J., Frank A.C. Evidence for foliar endophytic nitrogen fixation in a widely distributed subalpine conifer. *New Phytol.*, 2016, vol. 210, no. 2, pp. 657–668. doi: 10.1111/nph.13850.

100. Puri A., Padda K.P., Chanway C.P. Seedling growth promotion and nitrogen fixation by a bacterial endophyte *Paenibacillus polymyxa* P2b-2R and its GFP derivative in corn in a long-term trial. *Symbiosis*, 2016, vol. 69, no. 2, pp. 123–129. doi: 10.1007/s13199-016-0385-z.

101. Schalk I.J., Hannauer M., Braud A. New roles for bacterial siderophores in metal transport and tolerance. *Environ. Microbiol.*, 2011, vol. 13, no. 11, pp. 2844–2854. doi: 10.1111/j.1462-2920.2011.02556.x.

102. Oteino N., Lally R.D., Kiwanuka S., Lloyd A., Ryan D., Germaine K.J., Dowling D.N. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Front. Microbiol.*, 2015, vol. 6, art. 745. doi: 10.3389/fmicb.2015.00745.

103. Bodenhausen N., Somerville V., Desirò A., Walser J.-C., Borghi L., van der Heijden M.G.A., Schlaeppi K. Petunia- and arabidopsis-specific root microbiota responses to phosphate supplementation. *Phytobiomes J.*, 2019, vol. 3, no. 2, pp. 112–124. doi: 10.1094/PBIOMES-12-18-0057-R.

104. Kusari P., Kusari S., Lamshöft M., Sezgin S., Spiteller M., Kayser O. Quorum quenching is an antivirulence strategy employed by endophytic bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2014, vol. 98, no. 16, pp. 7173–7183. doi: 10.1007/s00253-014-5807-3.

105. Carrión V.J. Cordovez V., Tyc O., Etalo D.W., de Bruijn I., de Jager V.C.L., Medema M.H., Eberl L., Raaijmakers J.M. Involvement of Burkholderiaceae and sulfurous volatiles in disease-suppressive soils. *ISME J.*, 2018, vol. 12, no. 9, pp. 2307–2321. doi: 10.1038/s41396-018-0186-x.

106. Weisskopf L., Schulz S., Garbeva P. Microbial volatile organic compounds in intra-kingdom and inter-kingdom interactions. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2021, vol. 19, no. 6, pp. 391–404. doi: 10.1038/s41579-020-00508-1.

107. D'Alessandro M., Erb M., Ton J., Brandenburg A., Karlen D., Zopfi J., Turlings T.C.J. Volatiles produced by soil-borne endophytic bacteria increase plant pathogen resistance and affect tritrophic interactions. *Plant Cell Environ.*, 2014, vol. 37, no. 4, pp. 813–826. doi: 10.1111/pce.12220.

108. De la Cruz-López N., Cruz-López L., Holguín-Meléndez F., Guillén-Navarro G.K., Huerta-Palacios G. Volatile organic compounds produced by cacao endophytic bacteria and their inhibitory activity on *Moniliophthora roreri*. *Curr. Microbiol.*, 2022, vol. 79, no. 2, art. 35. doi: 10.1007/s00284-021-02696-2.

109. Sibanda S., Moleleki L.N., Shyntum D.Y., Coutinho T.A. Quorum sensing in gram-negative plant pathogenic bacteria. In: Kimatu J.N. (Ed.) *Advances in Plant Pathology*. InTech, 2018, pp. 67–89. doi: 0.5772/intechopen.78003.

110. Newman K.L., Chatterjee S., Ho K.A., Lindow S.E. Virulence of plant pathogenic bacteria attenuated by degradation of fatty acid cell-to-cell signaling factors. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 2008, vol. 21, no. 3, pp. 326–334. doi: 10.1094/MPMI-21-3-0326.

111. Martinez-Medina A., Flors V., Heil M., Mauch-Mani B., Pieterse C.M.J., Pozo M.J., Ton J., van Dam N.M., Conrath U. Recognizing plant defense priming. *Trends Plant Sci.*, 2016, vol. 21, no. 10, pp. 818–822. doi: 10.1016/j.tplants.2016.07.009.

112. Glaeser S.P., Imani J., Alabid I., Guo H., Kumar N., Kämpfer P., Hardt M., Blom J., Goesmann A., Rothballer M., Hartmann A., Kogel K.-H. Non-pathogenic *Rhizobium radiobacter* F4 deploys plant beneficial activity independent of its host *Piriformospora indica*. *ISME J.*, 2015, vol. 10, no. 4, pp. 871–884. doi: 10.1038/ismej.2015.163.

113. Roberts E., Lindow S. Loline alkaloid production by fungal endophytes of *Fescue* species select for particular epiphytic bacterial microflora. *ISME J.*, 2013, vol. 8, no. 2, pp. 359–368. doi: 10.1038/ismej.2013.170.

114. Aly A.H., Debbab A., Kjer J., Proksch P. Fungal endophytes from higher plants: A prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. *Fungal Diversity*, 2010, vol. 41, no. 1, pp. 1–16. doi: 10.1007/s13225-010-0034-4.

115. Abdel-Azeem A.M., Abdel-Azeem M.A., Khalil W.F. Chapter 21 – Endophytic fungi as a new source of antirheumatoid metabolites. In: Watson R.R., Preedy V. R. (Eds.) *Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases*. Acad. Press, 2019, pp. 355 -- 384. doi: 10.1016/B978-0-12-813820-5.00021-0.

***Для цитирования*:** *Галиева Г.Ш., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю.* Растительный микробиом: происхождение, состав и функции // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2023. Т. 165, кн. 2. С. 231–262. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.231-262.

***For citation*:** Galieva G.Sh., Galitskaya P.Yu., Selivanovskaya S.Yu. Plant microbiome: Origin, composition, and functions. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2023, vol. 165, no. 2, pp. 231–262. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.231-262. (In Russian)

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ КАЗАНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА.
СЕРИЯ ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

2023, Т. 165, кн. 2
С. 263–280

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 504.422

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.263-280

ПОЛИАРОМАТИЧЕСКИЕ УГЛЕВОДОРОДЫ В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ КАСПИЙСКОГО МОРЯ

Д.Р. Светашева[1], *В.О. Татарников*[1], *М.А. Очеретный*[1], *О.И. Бакун*[2]

[1]*ФГБУ «Каспийский морской научно-исследовательский центр», г. Астрахань, 414024, Россия*

[2]*ООО «ЛУКОЙЛ-Нижневолжскнефть», г. Астрахань, 414000, Россия*

Аннотация

Представлены результаты изучения изменчивости органических соединений – нефтяных и полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) – в донных отложениях Каспийского моря. На основе материалов, собранных в период 2012–2021 гг., определены концентрации и состав компонентов углеводородного загрязнения донных отложений. Исследования проводились по результатам производственного экологического мониторинга в российском секторе недропользования Каспийского моря. Анализ данных производственного экологического мониторинга проводился стандартными статистическими методами. Отмечено, что в Северном Каспии диапазон концентраций ΣПАУ колебался в пределах от аналитического нуля до 186.7 мкг/кг, а в Среднем Каспии – от нуля до 467.8 мкг/кг. В результате работы выявлены преобладающие ПАУ в составе нефтяного загрязнения донных осадков Северного и Среднего Каспия, к которым относятся фенантрен, аценафтен и нафталин. Природа происхождения выявленных компонентов дает представление о возможных источниках поступления загрязнения в окружающую среду. В результате работы выявлены районы геохимического фонового загрязнения донных отложений ПАУ и районы с характерными ПАУ, преимущественно природного и пирогенного происхождения.

Ключевые слова: Каспийское море, нефтяные углеводороды, полиароматические углеводороды, донные отложения, фенантрен, антрацен, нафталин, аценафтен, флуорантен, пирен

Введение

В последние годы полициклическим ароматическим углеводородам (ПАУ) в донных отложениях (ДО) эстуариев уделяется большое внимание, поскольку они отражают текущее состояние окружающей среды и совокупное экологическое воздействие на водную экосистему [1–3].

Главная трудность при интерпретации нефтяного загрязнения моря связана с определением фоновых концентраций нефтяных углеводородов (НУ), другими словами – с воздействием природных источников поступления нефти в морскую акваторию. Значительным недостатком современной системы нормирования НУ в окружающей среде является игнорирование природного углеводородного фона [4].

Углеводороды, близкие или идентичные нефтяным по составу, выделяются в водную среду морскими организмами в результате биосинтеза и распада сложных органических соединений природного происхождения. Эти вещества могут образовываться в результате окисления органического вещества или в результате пиритизации. Они являются биогенными источниками загрязнения углеводородами [2, 3]. Газовые сипы и просачивания нефти со дна моря, подводные миграционные выходы нефтесодержащих подземных флюидов на морском дне являются петрогенными источниками углеводородов. Природные источники формируют углеводородный геохимический фон. Для выявления вышеуказанных источников необходимы данные геохимического мониторинга [5].

Благодаря своим биохимическим свойствам ПАУ занимают особое место в системе мониторинга. Количество ПАУ в нефтяной смеси обычно не превышает 10%, однако именно они чаще всего используются как маркерные соединения [6].

Нафталин, например, может сигнализировать о присутствии свежих, невыветренных НУ. Антрацен и фенантрен могут свидетельствовать о петрогенных процессах или являться продуктами горения, как при сжигании ископаемого топлива, так и при бескислородном окислении органического вещества. Для установления происхождения ПАУ эффективно использование соотношений определенных гомологов, маркирующих их состав. Например, отношение концентраций фенантрена и антрацена > 10 указывает на присутствие петрогенных ПАУ и интенсивный диагенез. Присутствие легкоокисляемого и реакционноспособного нафталина, а также отношение концентраций нафталина и фенантрена > 1 свидетельствуют о новом поступлении НУ в окружающую среду. В продуктах высокотемпературного пиролиза органического сырья доминируют пирен, бенз(а)пирен и другие пери-конденсированные ПАУ. Поэтому отношение концентраций флуорантена и пирена < 1 является маркером поступления пирогенных полиаренов [4–6].

Исследования пространственно-временного распределения и источников ПАУ в урбанизированном полузакрытом заливе Цзяочжоу в Китае показали, что концентрация фенантрена была самой высокой из ПАУ, составляя около 29.4%. Анализ молекулярно-диагностических соотношений показал, что пирогенный источник был основным источником ПАУ в заливе. Используемая авторами модель положительной матричной факторизации показала, что вклад выбросов транспортных средств, сжигания биомассы и угля, а также петрогенных источников в общее содержание ПАУ составляет 41.6%, 20.2%, 20% и 18.2% соответственно [7]. Уменьшение загрязнения ПАУ в поверхностных водах и взвешенных веществах в верховьях реки Хуайхэ было связано с корректировкой энергетической структуры [8]. Анализ уровня содержания ПАУ в поверхностных водах семи речных бассейнов Китая показал, что сжигание угля и биомассы является основным источником образования ПАУ в речных бассейнах [9]. Анализ осаждения ПАУ в ДО вдоль глубоководного канала устья реки Янцзы подтверждает, что высокотемпературное сжигание местных ископаемых видов топлива и пирогенные источники являются основными причинами образования ПАУ [3].

В работах И.А. Немировской представлены результаты изучения изменчивости органических соединений, в том числе ПАУ, в процессе седиментации в водосборе р. Волги. Для аэрозолей в процессе седиментации характерны ПАУ пирогенного происхождения [10].

Содержание многих соединений в ДО определяется их сорбционной способностью, при этом сорбционная емкость осадков возрастает у более мелких фракций [11, 12]. Процессы флокуляции, накопления и растворения органических веществ в море, в свою очередь, зависят от степени минерализации воды [4, 13–16]. Однако в указанных исследованиях различия данных по гранулометрическому составу были нивелированы [15]. Известно [17], что ПАУ легко накапливаются в морских отложениях благодаря своим липофильным свойствам.

Выделение в акватории морей природно-аквальных комплексов и их картирование позволяет охарактеризовать процессы распределения осадочного материала в морском бассейне, установить источники поступления вещества, закономерности его распределения и аккумуляции [18].

Пространственное распределение ПАУ в Филиппинском море определялось главным образом антропогенными факторами, переносом летним муссоном с Филиппинских островов, Североэкваториальным течением, течением Куросио и субтропическим контртечением. Анализ источников показал, что ПАУ в поверхностных водах Филиппинского моря могут также образовываться в результате сжигания угля [19]. Основными источниками растворенных и взвешенных ПАУ в Японском море являются продукты горения. Увеличение уровня растворенных ПАУ в течение июля – октября указывает на то, что на район вокруг южного острова Оки оказывает воздействие насыщенная ПАУ паводковая вода континентального шельфа, переносимая теплым Цусимским течением из Восточно-Китайского моря [20]. Результаты исследований пространственных и временных тенденций ПАУ в осадочных породах Брунейского залива в Восточной Малайзии показали различные источники поступления остатков горения топлива и неразложившихся НУ. Наиболее высокие концентрации могут быть связаны с деятельностью человека в прошлом, а именно с использованием биотоплива и угля в период индустриализации и сельскохозяйственной революции [21].

В функционировании экосистем Каспийского моря ключевую роль играют сообщества донных животных, тесно связанные с другими биотическими и абиотическими факторами. Условия формирования донных экосистем Каспия весьма разнообразны, что определяется нестабильным гидрологическим и солевым режимом на мелководных участках, значительными перепадами глубин в районе Дербентской впадины и другими особенностями ландшафта моря [18].

Донные осадки акватории подразделяются на терригенные (обломочные) и карбонатно-терригенные осадки (осадочные породы, известняк и др.). Области распространения терригенных отложений примыкают к устьям рек, а область распространения карбонатно-терригенных отложений занимает большую часть шельфа, перекрывает борта и котловину Дербентской впадины, образуя мощную осадочную толщу. Режим осадконакопления терригенной зоны находится под влиянием твердого стока р. Волги и волновых процессов. Карбонатный ма-

териал карбонатно-терригенных осадков представлен раковинами, обломками раковин и карбонатом кальция. Для областей распространения карбонатно-терригенных отложений характерен аккумулятивный или транзитно-аккумулятивный режим осадконакопления [18].

Задача исследования состояла в определении содержания и выявлении закономерностей распределения НУ в ДО Северного и Среднего Каспия в целях выявления характерных для указанных акваторий ПАУ.

1. Материалы и методы

Исследования проводились по результатам производственного экологического мониторинга (ПЭМ) в российском секторе Каспийского моря. Отбор проб ДО на станциях ПЭМ в Северном и Среднем Каспии производился дважды в год в течение 10 лет. В Северном Каспии исследованиями было охвачено 34 станции мониторинга, в средней части моря – 25 станций (рис. 1).

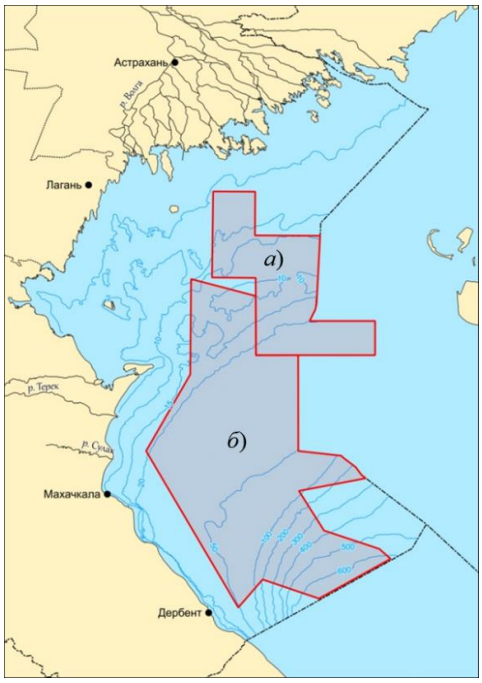

Рис. 1. Карта-схема расположения лицензионных участков «Северный» (*а*) и «Центрально-Каспийский» (*б*)

Таким образом, в результате работы было проанализировано 1180 проб ДО. Массовая доля НУ определялась флуориметрическим методом, в соответствии с ПНД Ф 16.1:2.21-98 [22]. Определение в осадках нафталина, фенантрена, антрацена, аценафтена, флуорантена и пирена проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентным детектированием, согласно ПНД Ф 16.1:2.2:2.3:3.62-09 [23]. Гранулометрический состав ДО определялся по ГОСТ 12536-2014 [24].

Анализ полученных данных проводился с помощью стандартных статистических инструментов Excel. Изменчивость концентраций рассчитывалась

по рекомендациям Федеральной службы по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды как отношение среднеквадратического отклонения к среднеарифметической концентрации [25]. Нахождение функциональных зависимостей между параметрами осуществлялось с помощью регрессионного анализа [26].

2. Результаты исследований

Многолетние геохимические наблюдения показали, что для ДО Северного Каспия наиболее характерна фракция $0.25 \div 0.1$ мм, отнесенная О.К. Леонтьевым [27] к категории «мелкий песок», среднее многолетнее содержание этой фракции составило 32.2%, медиана за 10 лет находилась на уровне 23.3%. Для Среднего Каспия наиболее характерна пелитовая фракция (< 0.05 мм) со средним значением 34.2%, однако по медиане преобладала фракция «мелкая ракуша» (14.7%). Изменчивость гранулометрического состава ДО оценивалась по рассчитанным показателям среднеквадратического отклонения (СКО) и коэффициента вариации (K_v) [27]. В Северном Каспии изменчивость преобладающей фракции (мелкий песок) была «высокой», в Среднем Каспии вариабельность пелитовой фракции и «мелкой ракуши» в ДО характеризовалась как «очень высокая» (табл. 1).

Табл. 1

Гранулометрический состав донных отложений Каспийского моря, %

Показатель	> 10 мм	10÷5 мм	5÷2 мм	2÷1 мм	1÷0.5 мм	0.5÷0.25 мм	0.25÷0.1 мм	0.1÷0.05 мм	< 0.05 мм
Северный Каспий									
Среднее значение	5.1	6.3	17.6	15.3	13.5	11.7	32.2	10.7	5.2
Медиана	3.4	3.6	12.5	8.0	9.3	5.9	23.3	3.2	2.7
СКО	5.2	7.5	15.5	17.7	14.5	14.8	29.6	15.9	7.7
K_v	1.0	1.2	0.9	1.2	1.1	1.3	0.9	1.5	1.5
Минимум	0.0	0.0	0.4	0.1	0.1	0.2	0.4	0.0	0.0
Максимум	47.7	43.5	81.8	90.3	80.6	83.4	89.7	84.9	64.2
Средний Каспий									
Среднее значение	8.3	11.0	23.4	5.4	3.1	4.3	15.9	12.8	34.2
Медиана	3.5	6.0	14.7	3.3	2.2	1.7	1.2	4.2	12.5
СКО	10.1	12.1	24.8	7.3	4.3	9.3	28.0	21.1	38.9
K_v	1.2	1.1	1.1	1.4	1.4	2.2	1.8	1.7	1.1
Минимум	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1
Максимум	48.7	56.4	96.2	54.4	34.8	76.8	90.9	99.9	99.9

Известно, что именно мелкие частицы выступают сорбентом для загрязняющих веществ, в том числе органической природы [11, 12]. В недавних иссле-

дованиях ДО Каспийского моря [28] было подтверждено, что НУ в ДО находятся в определенной зависимости от их гранулометрического состава, их количество увеличивается от менее дисперсных к более дисперсным. Однако в ракушечниках наблюдается возрастание содержания НУ, обусловленное как обогащением ДО живыми формами, так и осаждением более тонкого взвешенного материала, активно извлекаемого биофильтраторами из подвижных вод [29]. Кроме того, известно, что содержание углеводородов связано с органическим веществом [15, 16].

За десятилетний период наблюдений выявлено, что значение медианы концентраций НУ для Северного Каспия составило 6.0 мг/кг, а для Среднего Каспия – 8.0 мг/кг. При этом абсолютные средние концентрации за 10 лет в Северном Каспии оказались незначительно ниже, чем в Среднем Каспии. Максимальное содержание НУ в ДО Северного Каспия было практически в 2 раза ниже максимальных величин в средней части моря. Такое же соотношение сохраняется и для общей суммы ПАУ в ДО (табл. 2).

Табл. 2

Содержание НУ в донных отложениях Каспийского моря

Показатели	НУ, мг/кг	Σ ПАУ, мкг/кг	% ΣПАУ от НУ	Нафталин, мкг/кг	Аценафтен, мкг/кг	Фенантрен, мкг/кг	Антрацен, мкг/кг	Флуорантен, мкг/кг	Пирен, мкг/кг
Северный Каспий									
Среднее значение	11.2	23.1	0.4	3.6	6.2	5.4	2.0	1.0	1.3
Медиана	6.0	15.4	0.1	0.0	6.0	4.6	1.6	0.0	0.0
СКО	12.4	26.9	0.8	10.1	10.1	5.9	2.0	2.7	3.4
K_v	1.1	1.2	2.3	2.8	1.6	1.1	1.0	2.6	2.6
Минимум	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Максимум	53.0	186.7	9.0	62.0	170.0	50.1	17.9	17.8	23.0
Средний Каспий									
Среднее значение	12.6	31.4	0.5	12.2	10.5	8.8	2.3	1.3	2.1
Медиана	8.0	15.4	0.2	6.0	6.0	3.6	1.5	1.0	0.0
СКО	12.4	54.5	1.2	20.1	15.5	13.2	2.7	1.9	5.9
K_v	1.0	1.7	2.3	1.7	1.5	1.5	1.2	1.5	2.8
Минимум	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Максимум	92.0	467.8	19.6	154.0	98.0	78.0	21.0	22.0	36.0

Медианы содержания ПАУ в Северном Каспии и Среднем Каспии находились на одном уровне. Максимальное значение ΣПАУ в ДО Среднего Каспия в 2.5 раза превышало это значение в Северном Каспии. Кроме того, изменчивость по коэффициенту вариации концентрации ΣПАУ в ДО Среднего Каспия (K_v = 1.7) была выше изменчивости в северной части моря (K_v = 1.2) (табл. 2).

Содержание ПАУ в ДО отличалось высокой пространственно-временной неоднородностью. Широкие интервалы колебаний концентрации полиаренов могут говорить о периодических, но не регулярных поступлениях ПАУ в ДО [25].

Максимальная доля ΣПАУ в НУ регистрировалась в Среднем Каспии на уровне 19.6%, в северной части моря этот показатель достигал 9.0%. Средние показатели содержания доли ПАУ в нефтяном загрязнении ДО также были выше в Среднем Каспии, усредненная доля ПАУ в Северном Каспии находилась на уровне 0.4%, в Среднем Каспии она составила 0.5%. Коэффициент вариации данного показателя также был выше в средней части моря (табл. 2).

Рассматривая содержание в ДО некоторых ПАУ, следует отметить, что концентрации нафталина, стремящиеся по медиане к нулю в Северном Каспии, увеличиваются до 6.0 мкг/кг в Среднем Каспии. Среднемноголетнее содержание нафталина в ДО средней части моря было в 3 раза выше, чем в северной. Стабильное присутствие в осадках нафталина может свидетельствовать о регулярных поступлениях НУ.

Для таких ПАУ, как фенантрен и антрацен, в Среднем Каспии наблюдаются более высокие концентрации и показатели изменчивости, чем в Северном Каспии. Концентрация фенантрена как одного из индикаторов высачивания петрогенных ПАУ из земной коры в Среднем Каспии также была выше, чем в Северном Каспии.

Концентрации флуорантена и пирена в Северном Каспии по медиане стремились к аналитическому нулю. Среднее значение содержания в данном районе находилось на уровне 1.0 и 1.3 мкг/л для флуорантена и пирена соответственно. В Среднем Каспии средние значения их концентраций были выше, чем в северной части моря.

Известно, что ПАУ концентрируются в наиболее тонкодисперсной фракции ДО, однако процесс накопления НУ в осадках зависит от целого ряда факторов. В «элементоорганической пробке», имеющей соленость 4–7‰, активируются процессы флокуляции и сорбции, что приводит к повышению уровня накопления НУ. Увеличение солености до 12‰, наоборот, приводит к ослаблению аккумуляции НУ в осадках [13, 15]. Учитывая значительные различия гидрохимических и литологических условий в северной и средней части Каспийского моря, в наших исследованиях был проведен регрессионный анализ между гранулометрическим составом ДО и отдельными фракциями ПАУ, который выявил ряд линейных зависимостей.

В Северном Каспии содержание флуорантена и пирена находится в прямой зависимости от частиц диаметром 0.1–0.05 мм (соответственно $R^2 = 0.4$ и $R^2 = 0.5$, $n = 46$, при уровне значимости $\alpha = 0.01$). В Среднем Каспии обнаружены иные зависимости: значения концентрации флуорантена и пирена в этом районе имеют прямую связь с осадками диаметром менее 0.05 мм (соответственно $R^2 = 0.4$ и $R^2 = 0.7$, $n = 55$, при уровне значимости $\alpha = 0.01$) и обратную с отложениями размером 5–2 мм (соответственно $R^2 = 0.5$ и $R^2 = 0.7$, $n = 55$, при уровне значимости $\alpha = 0.01$) [20] (рис. 2, 3). Функциональных зависимостей между гранулометрическим составом и другими исследуемыми фракциями ПАУ в ДО Каспийского моря выявлено не было.

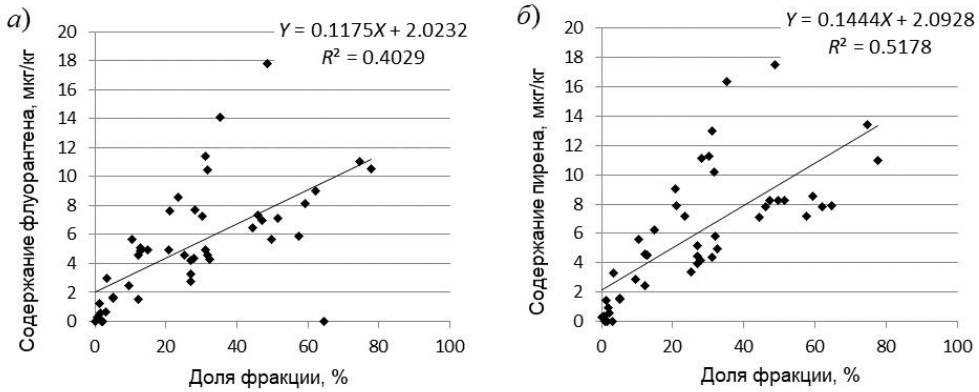

Рис. 2. Содержание флуорантена (а) и пирена (б) в ДО Северного Каспия в зависимости от процентного содержания фракции диаметром 0.1–0.05 мм

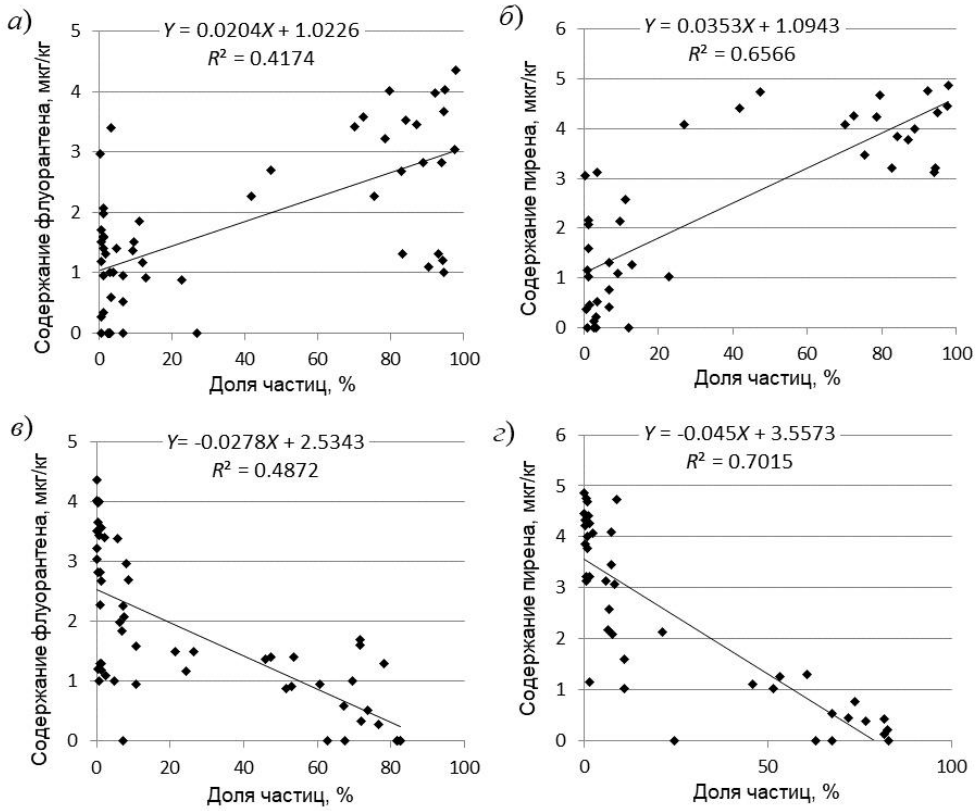

Рис. 3. Графики функциональных зависимостей: *а*) содержания флуорантена от доли частиц ДО диаметром < 0.05 мм; *б*) содержания пирена от доли частиц ДО диаметром < 0.05 мм; *в*) содержания флуорантена от доли частиц ДО диаметром 5–2 мм; *г*) содержания пирена от доли частиц ДО диаметром 5–2 мм в Среднем Каспии

Известно, что в Северном Каспии основным источником НУ является поступление загрязняющих веществ с волжским стоком [12, 16]. Ранее проведен-

ные исследования [15] свидетельствовали о хроническом поступлении аллохтонных НУ и высокой степени их трансформации в Северном Каспии. Однако южнее изогалины 8–10‰ влияние стока р. Волги практически не распространяется, поэтому для ДО Среднего Каспия существуют иные источники загрязнения углеводородами.

Наблюдения показали, что в Северном Каспии за 10 лет соотношение фенантрен/антрацен было выше десяти лишь в 3% исследуемых проб, в основном у юго-восточной границы российской части недропользования в Северном Каспии. Однако нафталина в этих районах обнаружено не было, а процент ПАУ от НУ при этом не превышал средних значений. Установлено, что в Среднем Каспии в 27% проб соотношение фенантрен/антрацен больше десяти и соотношение нафталин/фенантрен больше единицы. Все эти случаи регистрировались южнее изобаты 50 м. При этом доля ПАУ от НУ в 2–6 раз превышала среднемноголетнее значение (0.5%), а абсолютное значение суммы ПАУ стремилось к максимальным значениям.

Среднее значение соотношения флуорантен/пирен как в северной, так и в средней части моря за 10 лет наблюдений не превышало единицы, что свидетельствует о преобладании пирогенных ПАУ над ПАУ биологического происхождения. За весь период исследования в Северном Каспии лишь в 22% проб флуорантен преобладал над пиреном, а в Среднем Каспии – в 9.5%. Погрешность средних значений в Северном Каспии и Среднем Каспии не превышала ±0.59 (рис. 4).

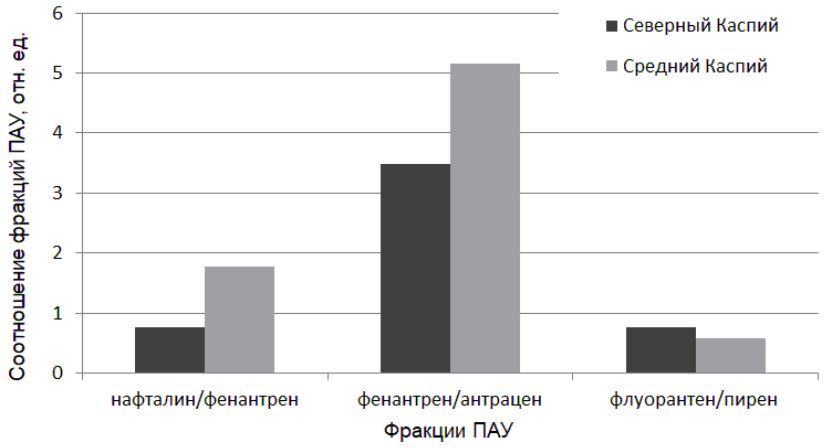

Рис. 4. Среднемноголетние значения соотношений фракций ПАУ

Совокупность данных факторов может говорить о смешанном происхождении ПАУ в ДО Каспийского моря, однако можно выделить особую роль как пирогенных источников загрязнения ПАУ, так и процессов окисления и разложения органических компонентов.

Кроме того, для ДО средней части Каспийского моря установлена прямая зависимость между процентным содержанием ПАУ и соотношением фенантрен/антрацен (рис. 5). На графике линейного тренда видно, что между долей ПАУ в НУ и соотношением фенантрен/антрацен сохраняется функциональная

зависимость (R^2 = 0.84, при n = 296 и уровне значимости α = 0.001) до достижения долей ПАУ в НУ отметки 2% (рис. 5, *а*). Затем происходит ослабление связи между процентным содержанием ПАУ и соотношением фенантрен/антрацен (рис. 5, *б*). Предполагается, что это может быть связано с особенностями аккумуляции ПАУ в ДО и низким содержанием тонких фракций в ДО Среднего Каспия. Подобной зависимости не выявлено между долей ПАУ и соотношениями других компонентов. В Северном Каспии подобные зависимости не обнаружены.

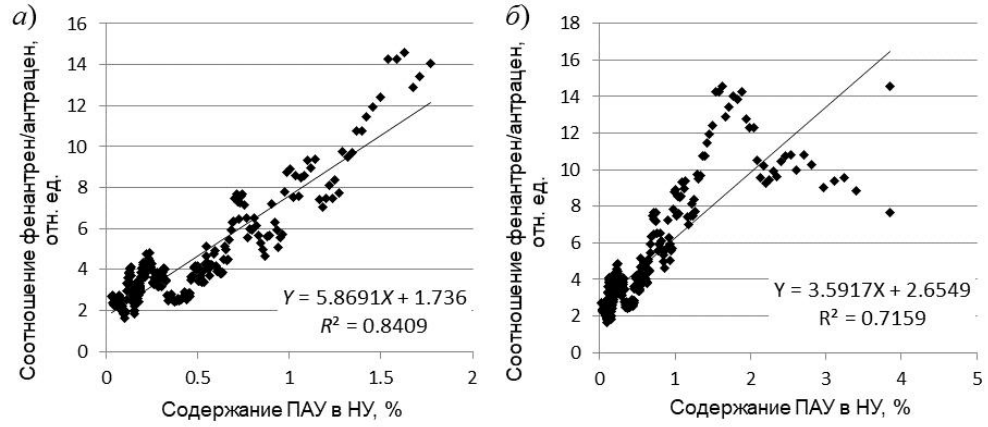

Рис. 5. Взаимосвязь между содержанием ПАУ в НУ (в диапазоне до 2% (*а*) и 5% (*б*)) и соотношением фенантрен/антрацен в ДО Среднего Каспия

Таким образом, в формировании полиароматической составляющей углеводородного загрязнения ДО Среднего Каспия значительную роль играют пирогенные и природные источники, которые могут свидетельствовать как об интенсивном разложении органической составляющей природного происхождения, так и об активизации высачиваний НУ из недр.

Для оценки загрязненности ДО Каспийского моря ПАУ проведено сравнение многолетних уровней содержания этих веществ с нормативами их содержания, принятыми в других странах (Нидерланды, Канада) [30, 31]. Среднемноголетние концентрации исследуемых загрязняющих веществ не превышали допустимой концентрации, содержание ПАУ в ДО колебалось в широком диапазоне и характеризовалось высокой изменчивостью. В Северном и Среднем Каспии были зафиксированы превышения допустимой концентрации (ДК) по НУ, нафталину и аценафтену. Максимум НУ в северной части моря был зарегистрирован осенью 2016 г. и превысил ДК в 1.3 раза, в средней части моря максимальное значение НУ составило 1.8 ДК в 2012 г. Концентрация нафталина в Северном Каспии достигала уровня 1.8 ДК осенью 2020 г., в Среднем Каспии самое высокое содержание нафталина зафиксировано осенью 2019 г. (4.5 ДК). Максимальное значение аценафтена в ДО северной части моря составило 25.4 ДК осенью 2019 г., а в средней – 16.7 ДК весной 2021 г.

Анализ пространственного распределения показал, что в Северном Каспии более высокое содержание флуорантена регистрируется в немногочисленных районах с преобладанием флуорантена над пиреном, где были зарегистрирова-

ны и высокие концентрации нафталина. Наиболее показательным было распределение данных значений весной 2016 г. во время высокого половодья, что косвенно указывает на привнесение аллохтонной органики в море. В Среднем Каспии за 10 лет наблюдений все максимальные концентрации ПАУ были зафиксированы в районе южной и восточной границ российского сектора Каспийского моря, южнее изобаты 50 м, с обеспеченным условием фенантрен/антрацен ≥ 10.

По результатам исследований на карте Каспийского моря можно выделить районы с характерными ПАУ. Наиболее показательные результаты последних лет представлены на рис. 6 и 7.

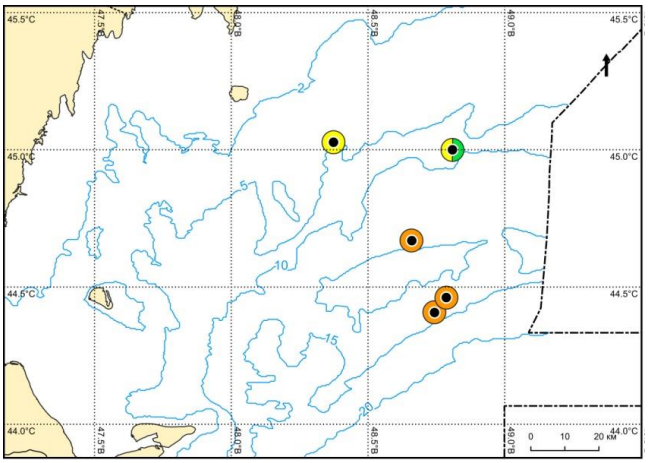

Рис. 6. Районы в Северном Каспии с высокими содержаниями флуорантена (зеленый), нафталина (желтый) и пирена (оранжевый) в 2012–2021 гг.

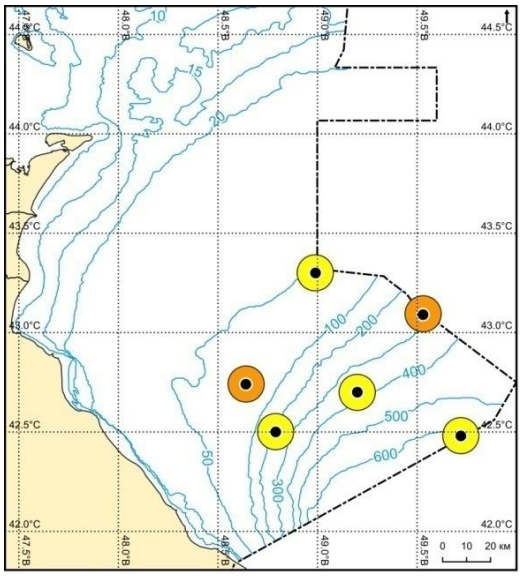

Рис. 7. Районы в Среднем Каспии с высокими содержаниями нафталина (желтый) и фенантрена (оранжевый), с условием фенантрен/антрацен > 10, в 2012–2021 гг.

Заключение

В результате проведенных исследований выявлены основные ПАУ в составе нефтяного загрязнения ДО Каспийского моря, формирующие углеводородный геохимический фон. За десятилетний период (2012–2021 гг.) основным компонентом загрязнения ДО Северного Каспия с незначительным преобладанием выступал антрацен. В Среднем Каспии среди ПАУ преобладал фенантрен.

Установлено, что в Каспийском море частицы ДО диаметром < 0.05 мм обуславливают накопление только флуорантена и пирена.

Расчет соотношений фенантрен/антрацен и флуорантен/пирен показал, что происхождение нефтяного загрязнения в Каспийском море носит смешанный характер. Основными источниками ПАУ в море являются окисление органического вещества, разложение растительной органики, продукты высокотемпературного пиролиза. Согласно полученным результатам, долю ПАУ в НУ определяет фенантрен, больший вклад в загрязнение ДО ПАУ вносят источники природного происхождения.

На основании геохимического состояния ДО выделены районы с характерными ПАУ, преимущественно природного происхождения, которые располагаются в Северном Каспии южнее изобаты 10 м и в Среднем Каспии южнее изобаты 50 м. В средней части моря фенантрен является преобладающим фоновым компонентом углеводородного загрязнения ДО.

Оценка загрязненности ДО Каспийского моря ПАУ показала, что среднемноголетние концентрации исследуемых загрязняющих веществ не превышают ДК. В Северном и Среднем Каспии были зафиксированы единичные случаи превышения ДК НУ, в частности, нафталина и аценафтена.

Литература

1. *Guzzella L., Roscioli C., Viganò L., Saha M., Sarkar S.K., Bhattacharya A.* Evaluation of the concentration of HCH, DDT, HCB, PCB and PAH in the sediments along the lower stretch of Hugli estuary, West Bengal, northeast India // Environ. Int. 2005. V. 31, No 4. P. 523–534. doi: 10.1016/j.envint.2004.10.014.
2. *Culotta L., De Stefano C., Gianguzza A., Mannino M.R., Orecchio S.* The PAH composition of surface sediments from Stagnone coastal lagoon, Marsala (Italy) // Mar. Chem. 2006. V. 99, No 1–4. P. 117–127. doi: 10.1016/j.marchem.2005.05.010.
3. *Liu X., Chen Z., Xia C., Wu J., Ding Y.* Characteristics, distribution, source and ecological risk of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments along the Yangtze River Estuary Deepwater Channel // Mar. Pollut. Bull. 2019. V. 150. art. 110765. doi: 10.1016/j.marpolbul.2019.110765.
4. *Островская Е.В., Немировская И.А., Колмыков Е.В.* Идентификация источников нефтяного загрязнения акватории Северного Каспия. Комплексный подход // Астраханский вестник экологического образования. 2018. № 4. С. 50–59.
5. *Немировская И.А.* Нефть в океане. Загрязнение и природные потоки. М.: Научный мир, 2013. 456 с.
6. *Немировская И.А., Онегина В.Д., Коновалов Б.В.* Углеводороды во взвеси и осадках различных районов российского сектора Черного моря // Морской гидрофизический журнал. 2017. № 4. С. 48–59. doi: 10.22449/0233-7584-2017-4-48-60.

7. *Cao Y., Xin M., Wang B., Lin C., Liu X., He M., Lei K., Xu L., Zhang X., Lu S.* Spatiotemporal distribution, source, and ecological risk of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the urbanized semi-enclosed Jiaozhou Bay, China // Sci. Total Environ. 2020. V. 717. art. 137224. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.137224.

8. *Liu M., Feng J., Hu P., Tan L., Zhang X., Sun J.* Spatial-temporal distributions, sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface water and suspended particular matter from the upper reach of Huaihe River, China // Ecol. Eng. 2016. V. 95. P. 143–151. doi: 10.1016/j.ecoleng.2016.06.045.

9. *Yu H., Liu Y., Han C., Fang H., Weng J., Shu X., Pan Y., Ma L.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface waters from the seven main river basins of China: Spatial distribution, source apportionment, and potential risk assessment // Sci. Total Environ. 2021. V. 752. art. 141764. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141764.

10. *Немировская И.А., Боев А.Г., Титова А.М., Храмцова А.В.* Органические соединения в процессе седиментации водосбора Волги во время позднего паводка // Труды ИБВВ РАН. 2018. Вып. 81. С. 16–26. doi: 10.24411/0320-3557-2018-1-0002.

11. *Островская Е.В., Колмыков Е.В., Холина О.И., Пронина Т.С., Войнова М.В.* Углеводородное загрязнение северо-западной части Каспийского моря // Юг России: экология, развитие. 2016. Т. 11, № 1. С. 137–146. doi: 10.18470/1992-1098-2016-1-137-148.

12. Загрязняющие вещества в водах Волжско-Каспийского бассейна / отв. ред. В.Ф. Бреховских, Е.В. Островская. Астрахань: Сорокин Роман Васильевич, 2017. 406 с.

13. *Романкевич Е.А.* Геохимия органического вещества в океане. М.: Наука, 1977. 256 с.

14. *Лисицын А.П.* Маргинальный фильтр океанов // Океанология. 1994. Т. 34, № 5. С. 735–747.

15. *Карыгина Н.В., Дегтярева Л.В., Лардыгина Е.В.* Накопление органических соединений в донных отложениях маргинального фильтра Каспийского моря // Проблемы сохранения экосистемы Каспия в условиях освоения нефтегазовых месторождений: Материалы V междунар. науч.-практ. конф. (Астрахань, 26–27 сент. 2013 г.). Астрахань: Изд-во КаспНИРХ, 2013. С. 100–103.

16. *Дегтярева Л.В. Карыгина Н.В.* О гранулометрическом составе и содержании органических веществ в донных отложениях дельты р. Волги // Научный потенциал регионов на службу модернизации. 2013. № 2. С. 57–61.

17. *Lakhmanov D.E., Kozhevnikov A.Yu., Pokryshkin S.A., Semiletov I.P., Kosyakov D.S.* Data of polycyclic aromatic hydrocarbons concentration in the Siberian Arctic seas sediments // Data Brief. 2022. V. 45. art. 108606. doi: 10.1016/j.dib.2022.108606.

18. *Буркацкий О.Н., Шельтинг С.К., Шейков А.А., Курганская В.В., Кузнецова Т.Н., Чаленко В.А.* Использование ландшафтного картирования для морских экологических исследований // Проблемы сохранения экосистемы Каспия в условиях освоения нефтегазовых месторождений: Материалы I междунар. науч.-практ. конф. (Астрахань, 16–18 февр. 2005 г.). Астрахань: Изд-во КаспНИРХ, 2005. С. 37–45.

19. *Zhang L., Sun D., Zhang L., Zhou S.* Spatial distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Philippine Sea, Western Pacific and the impact factors analysis // Mar. Pollut. Bull. 2021. V. 173, Part B. art. 113083. doi: 10.1016/j.marpolbul.2021.113083.

20. *Matsunaka T., Nagao S., Inoue M., Mundo R., Tanaka S., Tang N., Yoshida M., Nishizaki M., Morita M., Takikawa T., Suzuki N., Ogiso S., Hayakawa K.* Seasonal variations in

marine polycyclic aromatic hydrocarbons off Oki Island, Sea of Japan, during 2015–2019 // Mar. Pollut. Bull. 2022. V. 180. art. 113749. doi: 10.1016/j.marpolbul.2022.113749.

21. *Pang S.Y., Suratman S., Tay J.H., Tan H.S., Tahir N.M.* Spatial and temporal trends of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment cores of Brunei Bay, East Malaysia // Mar. Pollut. Bull. 2022. V. 179. art. 113670. doi: 10.1016/j.marpolbul.2022.113670.
22. ПНД Ф 16.1:2.21-98. Количественный химический анализ почв. Методика выполнения измерений массовой доли нефтепродуктов в пробах почв и грунтов флуориметрическим методом с использованием анализатора жидкости «Флюорат-02». Москва, 1998. 26 с.
23. ПНД Ф 16.1:2.2:2.3:3.62-09. Количественный химический анализ почв. Методика выполнения измерений массовых долей полициклических ароматических углеводородов в почвах, донных отложениях, осадках сточных вод и отходах производства и потребления методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Москва, 2009. 23 с.
24. ГОСТ 12536-2014. Методы лабораторного определения гранулометрического (зернового) и микроагрегатного состава. М.: Госстандартинформ, 2019. 23 с.
25. РД 52.15.880-2019. Руководство по организации и проведению наблюдений, оценке состояния и загрязнения морской среды в районах разведки и разработки морских нефтегазовых месторождений. Астрахань: ФГБУ «КаспМНИЦ», 2019. 62 с.
26. *Смагунова А.Н., Карпукова О.М.* Методы математической статистики в аналитической химии. Ростов н/Д.: Феникс, 2012. 347 с.
27. *Леонтьев О.К.* Физическая география Мирового океана. М.: Издательство Московского государственного университета, 1982. 200 с.
28. *Светашева Д.Р., Колмыков Е.В., Зубанов С.А.* Динамика нефтяных углеводородов в донных отложениях Каспийского моря // Астраханский вестник экологического образования. 2022. № 6. С. 33–39. doi: 10.36698/2304-5957-2022-6-33-39.
29. *Бордовский О.К., Тах Н.И.* Органическое вещество современных карбонатных осадков Каспийского моря // Океанология. 1978. Т. XVIII, № 6. С. 1028–1035.
30. CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment). Canadian Sediment Quality Guidelines. 1999. URL: http://www.ec.gc.ca/ceqg-rcqe/sediment.htm
31. *Warner H., van Dokkum R.* Water pollution control in the Netherlands. Policy and practice 2001. Lelystad: Minist. Transp., Public Works Water Manage., 2002. 77 p.

Поступила в редакцию 12.09.2022
Принята к публикации 15.03.2023

Светашева Диана Рафаилевна – младший научный сотрудник

ФГБУ «Каспийский морской научно-исследовательский центр»
ул. Ширяева, 14, г. Астрахань, 414024, Россия
E-mail: *svetashevadr@yandex.ru*

Татарников Виталий Олегович – старший научный сотрудник

ФГБУ «Каспийский морской научно-исследовательский центр»
ул. Ширяева, 14, г. Астрахань, 414024, Россия
E-mail: *tatarnikov@caspianmonitoring.ru*

Очеретный Максим Александрович – научный сотрудник

ФГБУ «Каспийский морской научно-исследовательский центр»
ул. Ширяева, 14, г. Астрахань, 414024, Россия
E-mail: *netstormmakttis@gmail.com*

Бакун Ольга Ивановна – ведущий инженер по охране окружающей среды
ООО «ЛУКОЙЛ-Нижневолжскнефть»
ул. Адмиралтейская, 1, корп. 2, г. Астрахань, 414000, Россия
E-mail: *olga.bakun@lukoil.com*

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2023, vol. 165, no. 2, pp. 263–280

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.263-280

Polyaromatic Hydrocarbons in the Bottom Sediments of the Caspian Sea

D.R. Svetasheva [a*], *V.O. Tatarnikov* [a**], *M.A. Ocheretny* [a***], *O.I. Bakun* [b****]

[a]*Caspian Marine Scientific Research Center, Astrakhan, 414024 Russia*

[b]*LUKOIL-Nizhnevolzhskneft, Astrakhan, 414000 Russia*

E-mail: [*]*svetashevadr@yandex.ru*, [**]*tatarnikov@caspianmonitoring.ru*,
[***]*netstormmakttis@gmail.com*, [****]*olga.bakun@lukoil.com*
Received September 12, 2022; Accepted March 15, 2023

Abstract

In this study, variations in the levels of oil hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), which are persistent organic pollutants generated by human activities, were assessed in the bottom sediments of the Caspian Sea (Russia) sampled from 2012 to 2021. The samples were analyzed for their chemical composition. The concentrations of the identified compounds responsible for hydrocarbon pollution were established. The quantitative results of the industrial environmental monitoring in the Russian sector of the Caspian Sea for subsoil use were also reviewed and processed by standard statistical methods. It was revealed that ΣPAH concentrations in the Northern and Middle Caspian Sea regions vary from analytical zero to 186.7 μg/kg and from zero to 467.8 μg/kg, respectively. The scale of oil pollution in these two regions was found to be determined by the following PAHs: phenanthrene, acenaphthene, and naphthalene. The origin of the listed PAHs provides vital information on the main sources of pollution of the Caspian Sea bottom sediments with hazardous organic substances. Based on the obtained data, the areas with background PAH pollution of the bottom sediments and those with the characteristic PAH of mainly natural and pyrogenic origin were located.

Keywords: Caspian Sea, oil hydrocarbons, polyaromatic hydrocarbons, bottom sediments, phenanthrene, anthracene, naphthalene, acenaphthene, fluoranthene, pyrene

Figure Captions

Fig. 1. Map showing the location of the Northern (a) and Central Caspian (b) license blocks.

Fig. 2. Fluoranthene (a) and pyrene (b) contents in the bottom sediments of the Northern Caspian Sea region, depending on the percentage of the 0.1–0.05 mm diameter fraction.

Fig. 3. Functional dependency graphs: *a*) dependence of the fluoranthene content on the percentage of bottom sediment particles < 0.05 mm in diameter; *b*) dependence of the pyrene content on the percentage of bottom sediment particles < 0.05 mm in diameter; *c*) dependence of the fluoranthene content on the percentage of bottom sediment particles 5–2 mm in diameter; *d*) dependence of the pyrene content on the percentage of bottom sediment particles 5–2 mm in diameter in the Middle Caspian Sea region.

Fig. 4. Long-term average annual values of the ratios of PAH fractions.

Fig 5. Relationship between the PAH content in oil hydrocarbons (up to 2% (*a*) and 5% (*b*)) and the phenanthrene/anthracene ratio in the bottom sediments of the Middle Caspian Sea region.

Fig. 6. Areas in the Northern Caspian Sea region with the high contents of fluoranthene (green), naphthalene (yellow), and pyrene (orange) that were registered from 2012 to 2021.

Fig. 7. Areas in the Middle Caspian Sea region with the high contents of naphthalene (yellow) and phenanthrene (orange), provided that the phenanthrene/anthracene ratio > 10, that were registered from 2012 to 2021.

References

1. Guzzella L., Roscioli C., Viganò L., Saha M., Sarkar S.K., Bhattacharya A. Evaluation of the concentration of HCH, DDT, HCB, PCB and PAH in the sediments along the lower stretch of Hugli estuary, West Bengal, northeast India. *Environ. Int.*, 2005, vol. 31, no. 4, pp. 523–534. doi: 10.1016/j.envint.2004.10.014.
2. Culotta L., De Stefano C., Gianguzza A., Mannino M.R., Orecchio S. The PAH composition of surface sediments from Stagnone coastal lagoon, Marsala (Italy). *Mar. Chem.*, 2006, vol. 99, nos. 1–4, pp. 117–127. doi: 10.1016/j.marchem.2005.05.010.
3. Liu X., Chen Z., Xia C., Wu J., Ding Y. Characteristics, distribution, source and ecological risk of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments along the Yangtze River Estuary Deepwater Channel. *Mar. Pollut. Bull.*, 2019, vol. 150, art. 110765. doi: 10.1016/j.marpolbul.2019.110765.
4. Ostrovskaya E.V., Nemirovskaya I.A., Kolmykov E.V. Identification of oil pollution sources in the waters of the Northern Caspian
5. Nemirovskaya I.A. *Neft' v okeane. Zagryaznenie i prirodnye potoki* [Oil in the Ocean. Pollution and Natural Flows]. Moscow, Nauchn. Mir, 2013. 456 p. (In Russian)
6. Nemirovskaya I.A., Onegina V.D., Konovalov B.V. Hydrocarbons in the suspended matter and the bottom sediments in different regions of the Black Sea Russian sector. *Phys. Oceanogr.*, 2017, no. 4, pp. 46–58. doi: 10.22449/1573-160X-2017-4-46-58.
7. Cao Y., Xin M., Wang B., Lin C., Liu X., He M., Lei K., Xu L., Zhang X., Lu S. Spatiotemporal distribution, source, and ecological risk of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the urbanized semi-enclosed Jiaozhou Bay, China. *Sci. Total Environ.*, 2020, vol. 717, art. 137224. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.137224.
8. Liu M., Feng J., Hu P., Tan L., Zhang X., Sun J. Spatial-temporal distributions, sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface water and suspended particular matter from the upper reach of Huaihe River, China. *Ecol. Eng.*, 2016, vol. 95, pp. 143–151. doi: 10.1016/j.ecoleng.2016.06.045.
9. Yu H., Liu Y., Han C., Fang H., Weng J., Shu X., Pan Y., Ma L. Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface waters from the seven main river basins of China: Spatial distribution, source apportionment, and potential risk assessment. *Sci. Total Environ.*, 2021, vol. 752, art. 141764. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141764.
10. Nemirovskaya I.A., Boev A.G., Titova A.M., Khramtsova A.V. Organic compounds in the process of sedimentation of the Volga catchment area during the late flood season. *Tr. IBVV Ross. Akad. Nauk*, 2018, no. 81, pp. 16–26. (In Russian)
11. Ostrovskaya E.V., Kolmykov E.V., Kholina O.I., Pronina T.S., Voinova M.V. Hydrocarbon pollution in the northwestern part of the Caspian Sea. *Yug Ross.: Ekol., Razvit.*, 2016, vol. 11, no. 1, pp. 137–146. doi: 10.18470/1992-1098-2016-1-137-148. (In Russian)
12. Brekhovskikh V.F., Ostrovskaya E.V. (Eds.) *Zagryaznyayushchie veshchestva v vodakh Volzhsko-Kaspiiskogo basseina* [Pollutants in the Waters of the Volga-Caspian Basin]. Astrakhan, Sorokin Roman Vasil'evich, 2017. 406 p. (In Russian)
13. Romankevich E.A. *Geokhimiya organicheskogo veshchestva v okeane* [Geochemistry of Organic Matter in the Ocean]. Moscow, Nauka, 1977. 256 p. (In Russian)
14. Lisitzyn A.P. The marginal filter of the ocean. *Oceanology*, 1995, vol. 34, no. 5, pp. 671–682.
15. Karygina N.V., Degtyareva L.V., Lardygina E.V. Accumulation of organic compounds in the bottom sediments of the marginal filter of the Caspian Sea. *Problemy sokhraneniya ekosistemy*

Kaspiya v usloviyakh osvoeniya neftegazovykh mestorozhdenii: Materialy V Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. (Astrakhan', 26–27 sent. 2013 g.) [Problems of the Caspian Sea Ecosystem Conservation in the Conditions of Oil and Gas Field Development: Proc. V Int. Sci.-Pract. Conf. (Astrakhan, Sept. 26– 27, 2013)]. Astrakhan, Izd. KaspNIRKh, 2013, pp. 100–103. (In Russian)

16. Degtyareva L.V., Karygina N.V. On the granulometric composition and content of organic substances in the bottom sediments of the Volga River delta. *Nauchn. Potentsial Reg. Sluzhbu Modern.*, 2013, no. 2, pp. 57–61. (In Russian)
17. Lakhmanov D.E., Kozhevnikov A.Yu., Pokryshkin S.A., Semiletov I.P., Kosyakov D.S. Data of polycyclic aromatic hydrocarbons concentration in the Siberian Arctic seas sediments. *Data Brief*, 2022, vol. 45, art. 108606. doi: 10.1016/j.dib.2022.108606.
18. Burkatskii O.N., Shel'ting S.K., Sheikov A.A., Kurganskaya V.V., Kuznetsova T.N., Chalenko V.A. Using landscape mapping for marine environmental research. *Problemy sokhraneniya ekosistemy Kaspiya v usloviyakh osvoeniya neftegazovykh mestorozhdenii: Materialy I mezhdunar. nauch.-prakt. konf. (Astrakhan', 16–18 fevr. 2005 g.)* [Problems of the Caspian Sea Ecosystem Conservation in the Conditions of Oil and Gas Field Development: Proc. I Int. Sci.-Pract. Conf. (Astrakhan, Feb. 16–18, 2005)]. Astrakhan, Izd. KaspNIRKh, 2005, pp. 37–45. (In Russian)
19. Zhang L., Sun D., Zhang L., Zhou S. Spatial distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Philippine Sea, Western Pacific and the impact factors analysis. *Mar. Pollut. Bull.*, 2021, vol. 173, part B, art. 113083. doi: 10.1016/j.marpolbul.2021.113083.
20. Matsunaka T., Nagao S., Inoue M., Mundo R., Tanaka S., Tang N., Yoshida M., Nishizaki M., Morita M., Takikawa T., Suzuki N., Ogiso S., Hayakawa K. Seasonal variations in marine polycyclic aromatic hydrocarbons off Oki Island, Sea of Japan, during 2015–2019. *Mar. Pollut. Bull.*, 2022, vol. 180, art. 113749. doi: 10.1016/j.marpolbul.2022.113749.
21. Pang S.Y., Suratman S., Tay J.H., Tan H.S., Tahir N.M. Spatial and temporal trends of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment cores of Brunei Bay, East Malaysia. *Mar. Pollut. Bull.*, 2022, vol. 179, art. 113670. doi: 10.1016/j.marpolbul.2022.113670.
22. Federal Environmental Regulation 16.1:2.21-98. Quantitative chemical analysis of soils. A method for measuring the mass fractions of oil products in soil samples by fluorometry with a Fluoarat-02 liquid analyzer. Moscow, 1998. 26 p. (In Russian)
23. Federal Environmental Regulation 16.1:2.2:2.3:3.62-09. Quantitative chemical analysis of soils. A method for measuring the mass fractions of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils, bottom sediments, sediments of waste waters, and industrial wastes by high performance liquid chromatography. Moscow, 2009. 23 p. (In Russian)
24. State Standard 12536-2014. Soils. Methods for laboratory determination of granulometric (grain-size) and microaggregate composition. Moscow, Gosstandartinform, 2019. 23 p. (In Russian)
25. Guiding Document 52.15.880-2019. Guidelines for the organization and conduct of observations, assessment of the state and pollution of the marine environment in the areas of exploration and development of offshore oil and gas fields. Astrakhan, FGBU "KaspMNITs", 2019. 62 p. (In Russian)
26. Smagunova A.N., Karpukova O.M. *Metody matematicheskoi statistiki v analiticheskoi khimii* [Statistical Methods in Analytical Chemistry]. Rostov-on-Don, Feniks, 2012. 347 p. (In Russian)
27. Leont'ev O.K. *Fizicheskaya geografiya Mirovogo okeana* [Physical Geography of the World Ocean]. Moscow, Izd. Mosk. Gos. Univ., 1982. 200 p. (In Russian)
28. Svetasheva D.R., Kolmykov E.V., Zubanov S.A. Dynamics of oil hydrocarbons in the sediments of the Caspian Sea. *Astrakh. Vestn. Ekol. Obraz.*, 2022, no. 6, pp. 33–39. doi: 10.36698/2304-5957-2022-6-33-39. (In Russian)
29. Bordovskii O.K., Takh N.I. Organic matter in modern carbonate sediments of the Caspian Sea. *Okeanologiya*, 1978, vol. XVIII, no. 6, pp. 1028–1035. (In Russian)
30. CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment). Canadian Sediment Quality Guidelines. 1999. Available at: http://www.ec.gc.ca/ceqg-rcqe/sediment.htm.
31. Warner H., van Dokkum R. *Water Pollution Control in the Netherlands. Policy and Practice 2001*. Lelystad, Minist. Transp., Public Works Water Manage., 2002. 77 p.

***Для цитирования*:** *Светашева Д.Р., Татарников В.О., Очеретный М.А., Бакун О.И.* Полиароматические углеводороды в донных отложениях Каспийского моря // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2023. Т. 165, кн. 2. С. 263–280. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.263-280.

***For citation*:** Svetasheva D.R., Tatarnikov V.O., Ocheretny M.A., Bakun O.I. Polyaromatic hydrocarbons in the bottom sediments of the Caspian Sea. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2023, vol. 165, no. 2, pp. 263–280. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.263-280. (In Russian)

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ КАЗАНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА.
СЕРИЯ ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

2023, Т. 165, кн. 2
С. 281–294

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 504.064.2.001.18

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.281-294

ЭНТРОПИЙНАЯ МОДЕЛЬ ДИНАМИЧЕСКОГО ХАОСА ГЕОЭКОЛОГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

О.В. Базарский[1], *Ж.Ю. Кочетова*[1], *В.В. Кульнев*[2], *Д.А. Пантелеев*[1]

[1]*ВУНЦ ВВС «Военно-воздушная академия имени профессора Н.Е. Жуковского и Ю.А. Гагарина», г. Воронеж, 394004, Россия*

[2]*Центрально-Черноземное межрегиональное управление Федеральной службы по надзору в сфере природопользования, г. Воронеж, 394087, Россия*

Аннотация

Системы динамического хаоса описываются нелинейным циклическим соотношением Ферхюльста. Цель работы – актуализация этого соотношения для описания деградации геоэкологических систем, находящихся на различных стадиях развития. Введено новое понятие – геохимическая энтропия экологических систем, которая изменяется в интервале [0, 4] и определяет уровень их устойчивости в интервале [0, 1]. Модель верифицирована на примере оценки загрязнения почв в г. Липецк. Показано, что, несмотря на высокий уровень загрязнения почв города в отдельных точках, в целом экологическая ситуация соответствует рангу «норма» с высоким уровнем устойчивости (0.98). Сделаны прогнозы развития экологической ситуации в г. Липецк при изменении техногенной нагрузки. При сохранении текущей антропогенной нагрузки устойчивость экологической системы останется практически неизменной. При повышении загрязнения почв устойчивость может уменьшаться с различной скоростью в зависимости от энтропии системы. Предложенная модель позволяет оценить текущее геоэкологическое состояние масштабных антропогенно нагруженных территорий с высокими уровнями вариации загрязнения на различных участках, прогнозировать уровень комфортности проживания населения в городских агломерациях и управлять геоэкологическими системами.

Ключевые слова: модель Ферхюльста, динамический хаос, энтропия, устойчивость экологической системы, прогноз экологической ситуации, загрязнение почв, тяжелые металлы

Введение

В классической науке известны два подхода к описанию структуры материи – динамический и статистический. Первый применяют, когда причина и следствие событий связаны однозначно с точностью до ошибок измерений, а результатом события является один исход. Такой подход справедлив при малом числе состояний (тел) системы, например, в механике. Математическое описание заключается в составлении и решении системы уравнений, дающей однозначное решение. Статистический подход используют, когда на систему воздействует множество случайных факторов, измерить и предсказать которые невозможно. Результатом события в этом случае является ряд исходов с

различной вероятностью. Математическое описание подчиняется теории вероятностей и математической статистике.

Однако существуют промежуточные системы – так называемые «системы динамического хаоса», в которых сочетаются случайные и детерминированные процессы. В таких системах с течением времени наблюдается переход от простых однозначных упорядоченных состояний к случайным беспорядочным [1, 2]. Теория динамического хаоса впервые начала развиваться в трудах физика Эдварда Лоренца и математика Митчела Фейгенбаума [3] во второй половине прошлого века. Лоренц изучал гидродинамические процессы перехода динамического ламинарного течения жидкости и газа к хаотическому турбулентному и аналогичные метеорологические процессы. Было показано, что такие процессы неустойчивы к незначительным изменениям начальных условий на больших рядах наблюдений, и существует «горизонт прогноза», когда динамическое развитие системы сменяется хаотическим и предсказать ее поведение становится невозможным. На русском языке теория динамического хаоса впервые опубликована в работе [5].

Аналогичные закономерности возникновения динамического хаоса наблюдаются при изучении колебательных процессов, в частности радиотехнических, когда периодические колебательные процессы скачкообразно меняются на апериодические с потерей синхронизации [6, 7]. Математическое описание систем динамического хаоса основана на системах дифференциальных уравнений.

Митчел Фейгенбаум ввел понятие «странный аттрактор» и дал математические представления о динамическом хаосе, характеризуемом странными аттракторами, а Пьер Франсуа Ферхюльст предложил простое нелинейное уравнение, описывающее подобные процессы, состоящие из последовательности циклов, когда выходные параметры n цикла являлись входными для $n + 1$. Это математическая модель, когда малые ошибки предыдущих детерминированных циклов накапливаются и приводят к скачку перехода от динамического развития системы к хаотическому.

С нашей точки зрения, уравнение П.Ф. Ферхюльста способно описать геоэкологические процессы перехода от динамического развития при достаточно малых антропогенных нагрузках к хаотическим [8–10]. Для этого необходимо придать экологический смысл обобщенным параметрам, входящим в уравнение П.Ф. Ферхюльста. С точки зрения динамического хаоса экологические процессы изучены мало, но многими авторами отмечаются перспективность и актуальность развития этого нового направления в экологии [10, 11].

Цель работы – построение модели динамического хаоса для геоэкологической системы и ее верификация на примере загрязнения почв г. Липецк.

2. Энтропийная модель динамического хаоса

Математическая модель циклических процессов, приводящих к динамическому хаосу, описывается уравнением П.Ф. Ферхюльста [12]:

$$X_{n+1} = KX_n(1 - X_n); \qquad n = 0, 1, 2, \ldots, \gamma, \tag{1}$$

где X_n – выходной параметр системы после n-го цикла, являющийся входным для $(n + 1)$ цикла; K – управляющий параметр; n – число циклов (лет).

В экологии естественно предположить, что длительность каждого цикла равна одному году. Число циклов $n = \gamma$ определяет накопленные ошибки, характеризующие степень деградации системы.

Степень экологической деградации системы ограничена областью [0; 1]. При малых значениях X степень деградации минимальна, система пребывает в динамическом состоянии. При $X = 1$ система находится в абсолютно хаотическом состоянии. При промежуточных значениях X наблюдается переход от динамического развития системы к хаотическому.

Управляющий параметр K должен быть аддитивной величиной, так как характеризует степень беспорядка, приобретаемого системой за счет всего разнообразия антропогенного воздействия. Фактически, K – это энтропия экологической системы, а степень деградации системы X можно описать как уровень ее неустойчивости к антропогенным факторам [13]. Если неустойчивость системы находится в интервале $P \in [0; 1]$, то энтропийный управляющий параметр $S \in [0; 4]$. Таким образом, в этой модели все параметры развития системы ограничены как снизу, так и сверху.

Запишем уравнение (1) для геоэкологической системы следующим образом:

$$P_{n+1} = SP_n(1 - P_n); \qquad n = 0, 1, 2, \ldots, \gamma. \tag{2}$$

Слагаемое SP_n характеризует линейное приращение неустойчивости экологической системы на n-ной итерации, второе слагаемое $(-SP_n^2)$ – нелинейный сдерживающий фактор, накладывающий ограничения на бесконечный рост неустойчивости. Если начальное состояние экологической системы – природный фон ($P_0 = 0$), то система имеет одно состояние, ее энтропия $S_0 = 0$. В состоянии абсолютного хаоса $P = 1$ и, в соответствии с моделью, максимальное значение геохимической энтропии $S = 4$.

Принципиальным является вопрос математической записи геоэкологической энтропии, в частности геохимической. Поскольку используется модель динамического хаоса, сочетающая переход от динамического развития геоэкологической ситуации к хаотическому, необходимо ввести новое понятие «геоэкологическая энтропия». Но в целом подход должен быть статистическим, основанным на законах распределения случайной величины, определяющей энтропию процесса.

Уровень энтропии любой системы определяется числом ее возможных состояний относительно начального. В геоэкологии начальным состоянием является природное фоновое состояние системы, когда человек находится в равновесии с окружающей средой. В этом случае число состояний системы равно единице. Поскольку энтропия должна быть аддитивной величиной, то $\ln 1 = 0$, и это начало отсчета величины геоэкологической энтропии. Геоэкологическая энтропия определяется законом распределения измеряемой случайной величины, например концентрациями загрязняющих веществ, от

которых зависит число состояний. Закон распределения определяет вероятности этих состояний. Тогда геоэкологическую энтропию можно записать следующим образом:

$$S = \sum_{i=1}^{N} P_i \ln \bar{K}_i. \quad (3)$$

Расчет геохимической энтропии включает пять этапов.

1. Сбор базы данных по уровню загрязнения изучаемой территории в точках отбора проб.

2. Расчет числа состояний экологической системы в каждой точке пробоотбора [14]:

$$K_i = C_i \,/\, \text{ПДК(ОДК)}_i, \quad (4)$$

где C_i – фактическая концентрация загрязняющего вещества в точке пробоотбора, ПДК(ОДК)$_i$ – предельно (ориентировочно) допустимая концентрации этого загрязнителя окружающей среды; K_i – число состояний или коэффициент опасности i-того загрязнителя.

Если уровень загрязнения $C_i \le$ ПДК, то $K_i \le 1$. В этом случае загрязнение не опасно для человека. Случаи $K_i \ge 1$ являются опасными и ранжируются в соответствии с требованиями СанПиН [15]. Пороговое безопасное значение числа состояний геоэкологической системы $K_i = 1$. Тогда, в соответствии с моделью, безопасный уровень геоэкологической энтропии ln1 = 0.

3. Разбиение базы данных на N градаций. В соответствии со статистической теорией максимальное число градаций $N_{\max} = \lg \zeta$, где ζ – число измерений (точек пробоотбора) на исследуемой территории. В этом случае все градации являются репрезентативными. Усреднение близких значений K_i в каждой градации позволяет рассчитать средние значения состояний экологической системы в каждой градации $\bar{K}_i$. Повторяемость в каждой градации P_i рассчитывается по формуле:

$$P_i = m_i \,/\, m, \quad (5)$$

где m_i и m – число измерений в i-той градации и общее число измерений.

4. Построение гистограммы по закону распределения случайной величины и расчет математического ожидания M:

$$M = \sum_{i=1}^{N} P_i \bar{K}_i. \quad (6)$$

Математическое ожидание – это средневзвешенное значение уровня загрязнения исследуемой территории. Однако оно не является аддитивной величиной.

5. Геохимическая энтропия, как мера неупорядоченности системы, пропорциональна числу ее состояний или, в нашем случае, числу опасных состояний. Однако из уравнения (6) следует, что число опасных состояний имеет различные вероятности для каждой градации закона распределения. Для придания аддитивности геохимической энтропии системы число ее состояний

$\bar{K}_i$ логарифмируют. Тогда геохимическая энтропия экологической системы определяется выражением (3).

Полная энтропия антропогенно нагруженной территории для q числа загрязняющих веществ определяется выражением:

$$S_q = \sum_{j=1}^{q} S_j, \tag{7}$$

где S_j – энтропия j-того загрязняющего вещества.

Последнее выражение определяет одним числом уровень загрязнения значительной географической территории рядом загрязняющих веществ, в то время как классический суммарный показатель загрязнения (СПЗ) – только в отдельных точках [14].

$$\text{СПЗ}_i = \sum_{i=1}^{q} \frac{c_i}{\text{ПДК}_i} - (q-1). \tag{8}$$

На рис. 1 показана диаграмма деградации экологической системы от динамического состояния к хаотическому, построенная в соответствии с (2). Такой подход позволяет при измеренных начальных условиях S_0 и P_0 сделать прогноз состояния системы при числе циклов ее развития n до 100 лет.

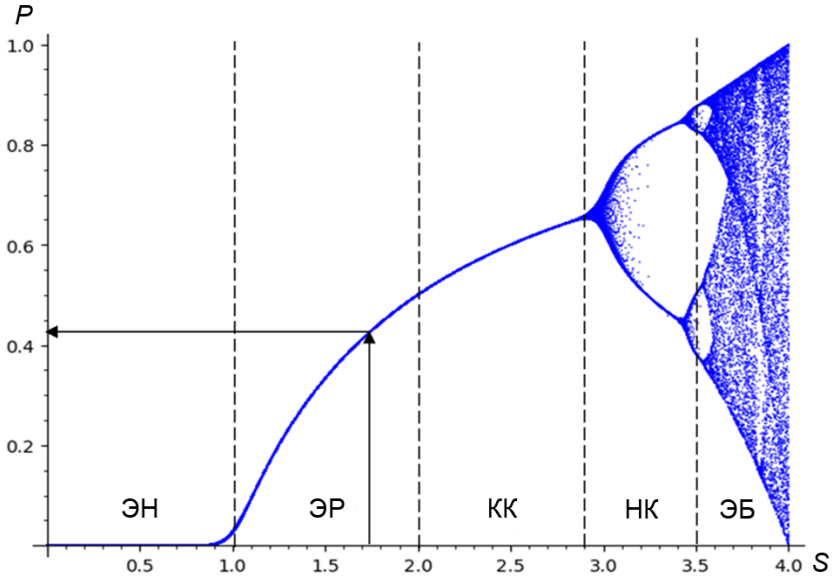

Рис. 1. Диаграмма развития системы динамического хаоса (ЭН – экологическая норма, ЭР – экологический риск, КК – компенсируемый кризис, НК – некомпенсируемый кризис, ЭБ – экологическое бедствие)

Оценка устойчивости $P^* = (1\text{-}P)$ развитой модели по Ляпунову [16] показывает, что первая точка неустойчивости модели возникает при $S = 0.89$ ($n = 30$) и $S = 1.0$ для $n = 100$. Далее разница в числе итераций нивелируется, возрастание неустойчивости замедляется при $S = 2$. Шкала экологического состояния системы при ограниченном цикле ее развития ($n \leq 100$) представлена

в таблице 1. В основу названия рангов положена шкала, предложенная А.П. Виноградовым и развитая В.Т. Трофимовым в работе [14]. Но численные значения рангов получены в соответствии с разработанной моделью.

Табл. 1

Ранжирование системы по уровням ее геоэкологической неустойчивости

S	P	Ранг	Характеристика ранга
$0 \le S < 1$	$0 \le P < 0.1$	Экологическая норма	Техногенное воздействие по каждому загрязняющему веществу не превышает ПДК. Устойчивость экологической системы $P^* \ge (1\text{-}P) \ge 0.9$
$1 \le S < 2$	$0.1 \le P < 0.5$	Экологический риск	Уровень техногенного воздействия приводит к превышению ПДК, но протекционные системы среднестатистического человека справляются с этой нагрузкой. Система находится в неустойчивом равновесии $0.5 \le P^* < 0.9$
$2.0 \le S < 2.9$	$0.5 \le P < 0.7$	Компенсируемый экологический кризис	Переходный процесс из неустойчивого равновесия в стационарный колебательный процесс. Интенсивное накопление загрязняющих веществ в организме человека с периодическим их выводом $0.3 \le P^* < 0.5$
$2.9 \le S < 3.5$	$0.7 \le P < 0.88$ $0.4 \le P < 0.7$	Некомпенси-руемый экологический кризис	За счет первой бифуркации система переходит в состояние колебательного динамического хаоса, возможны два непредсказуемых пути ее развития, со случайным увеличением или уменьшением устойчивости
$3.5 \le S \le 4.0$	$0.88 \le P \le 1.0$	Экологическое бедствие	Множественные бифуркации. Система находится в состоянии абсолютного хаоса. Старая популяция погибает. Однако при $S = 3.77$ существует «окно», в котором возможно выживание приспособившейся части старой популяции и зарождение новой.

При $S = 2.9$ происходит переход от динамического к хаотическому состоянию системы, связанный с первой бифуркацией, когда система самопроизвольно выбирает один из двух возможных путей развития с увеличением или уменьшением ее устойчивости. При этом неустойчивость системы возрастает до 0.88, затем она может продолжить увеличиваться или будет уменьшаться до уровня 0.4. Состояние системы при этом еще можно стабилизировать, например, за счет проведения природоохранных мероприятий. Далее бифуркации циклически повторяются. При $S \ge 3.5$ система переходит к абсолютному хаосу.

3. Верификация энтропийной модели

Объектом для верификации модели динамического хаоса выбран г. Липецк – крупный промышленный центр со специализацией в сфере черной металлургии. Сопоставлялись результаты оценки загрязнения почв города по стандартной и энтропийной модели. В 79 точках [17] отбирались пробы почв по неравномерной сети опробования с привязкой к основным источникам загрязнения. Определение концентрации никеля, цинка, свинца, меди, марганца, кадмия, мышьяка в пробах проводилось в лаборатории комплексных исследований на базе Воронежского государственного университета методом рентгеновской спектрометрии с применением РФА S8 TIGER (Методика определения трейсовых содержаний элементов в почвах, горных породах фирмы Bruker, Германия, зарегистрирована в РФ, Методика № 451-РС).

Единичные превышения нормативов по мышьяку и свинцу были незначительны. Статистически достоверное превышение ОДК наблюдалось по никелю и цинку. ОДК этих элементов для суглинистых и глинистых почв с близким к нейтральному pH составляют 80 и 220 мг/кг соответственно [15]. Максимальные концентрации никеля и цинка зафиксированы только вблизи Новолипецкого металлургического комбината. Поэтому верификацию модели целесообразно проводить именно по этим элементам.

По полученным данным в каждой точке пробоотбора вычислялся СПЗ. Далее с использованием программы Surfer строилась карта загрязнения территории. Полученная карта с нанесенными на ней точками пробоотбора представлена на рис. 2.

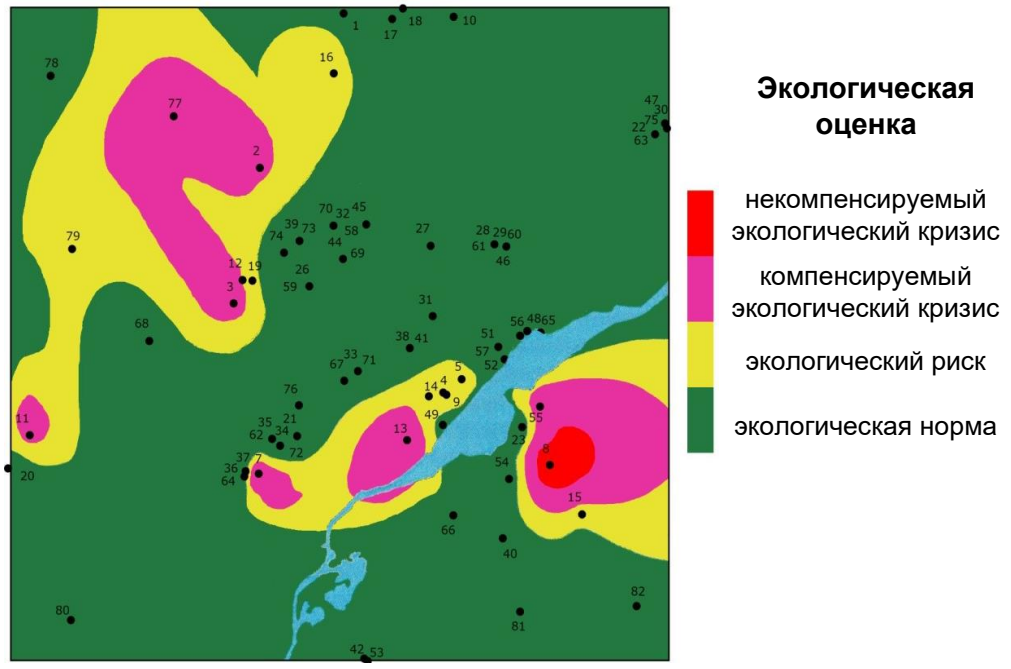

Рис. 2. Карта пространственного загрязнения почв на территории г. Липецка. Точками на карте обозначены места пробоотбора. Цвет определяет уровень загрязнения почв города.

По результатам этих же измерений построены гистограммы концентрационного распределения никеля и цинка на территории города для расчета геоэкологической энтропии территории (рис. 3).

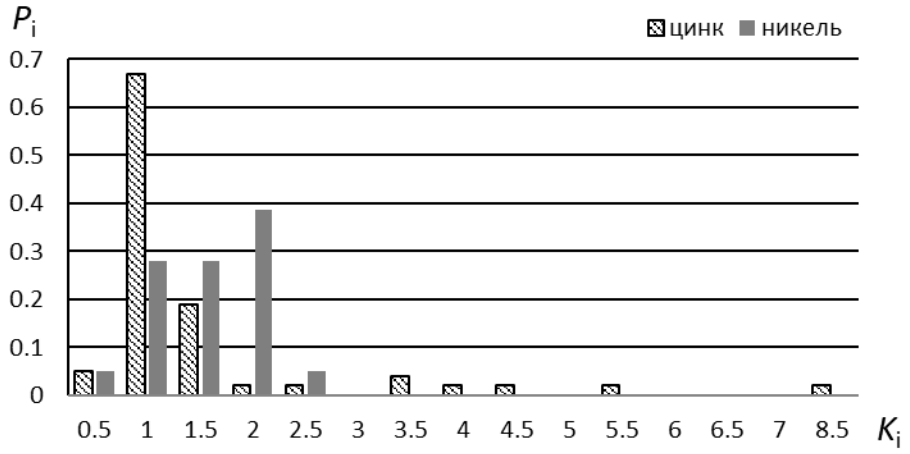

Рис. 3. Гистограммы коэффициентов опасности загрязнителей почв в г. Липецк

Проанализируем результаты, полученные с помощью энтропийной модели.

1. Полученные законы распределения случайных величин не позволяют их аппроксимировать ни одним из известных статистических законов. Это говорит о том, что загрязнение почв мегаполисов не является случайным процессом, на него накладывается упорядоченная деятельность человека по созданию внутри городских территорий технологических кластеров.

2. Загрязнение почв никелем на территории города достаточно равномерное, что свидетельствует о наличии нескольких источников выбросов никеля и его высоких миграционных свойствах.

3. Загрязнение почв цинком, напротив, характеризуется крайне неравномерным распределением по городу. Наиболее часто значительное превышение ОДК цинка (до 8.5 раз) зафиксировано вблизи металлургического комбината, где производится оцинкованный прокат. В это же время основная часть города им не загрязнена или загрязнена незначительно.

4. Вычисления геохимической энтропии по выражению (6) дали следующие результаты: $S_{Ni} = 0.44$; $S_{Zn} = 0.37$. Тогда суммарное загрязнение территории города Липецка (7): $S = S_{Ni} + S_{Zn} = 0.44+0.37 = 0.81$. Экологическая ситуация соответствует рангу экологической нормы при низкой степени неустойчивости экологической системы $P = 0.02$ (рис. 1).

5. По новой энтропийной модели рассчитывается уровень загрязнения почв всего города, без выделения опасных очагов, что является ее недостатком.

6. Результаты, полученные с помощью энтропийной модели, показывают, что экологический потенциал современных мегаполисов далеко не исчерпан, несмотря на высокий уровень загрязнения почв в отдельных точках пробоотбора, близких к источникам выбросов. Эти почвы при соответствующих материальных затратах могут быть очищены.

Обратимся к анализу результатов, полученных с помощью стандартной модели.

1. Стандартная модель, основанная на расчете СПЗ почв, не может дать объективную картину загрязнения всей территории в целом. Расчеты позволяют установить отдельные точки пробоотбора, где наблюдается то или иное превышение ПДК (ОДК) загрязнителей. Для остальных точек проводят аппроксимацию с усреднением суммарного показателя загрязнения. При этом под неблагоприятное «усреднение» попадает территория, которая может быть условно чистой.

2. По стандартной модели надежно выделяются участки повышенного загрязнения и чистые. Между ними формируются области промежуточного загрязнения, достоверность определения границ которых сомнительна. Численно уровень загрязнения почв всего города на этой модели рассчитать нельзя.

3. Анализируя карту загрязнений, построенную по стандартной модели, видим, что большая часть территории города чистая, т. е. безопасная. Это качественно подтверждает достоверность энтропийной модели.

Сравнение результатов анализа загрязненности почв Липецка с помощью стандартной модели и новой энтропийной показывает, что полную информацию о геоэкологическом состоянии почв можно получить, используя сочетание этих моделей, поскольку они дополняют друг друга.

4. Прогноз путей развития экологической ситуации в г. Липецк

Для сохранения геоэкологического состояния техногенно нагруженных мегаполисов необходимо проводить мониторинг состояния их территорий и по развитой энтропийной модели прогнозировать развитие системы. Для этого в математическую модель (2) подставляем текущий уровень неустойчивости геоэкологической системы P_0, задаем прогнозируемый уровень энтропии системы S и оцениваем ее состояние через n лет.

При проведении природоохранных мероприятий и уменьшении энтропии городской агломерации от текущей энтропии системы 0.81 до 0.7, уровень неустойчивости экологической системы снизится за 10 лет до фоновых значений (рис. 4). При $S = 0.7$ уровень неустойчивости системы снижается до 0.005, т. е. она возвращается к первоначальному устойчивому состоянию.

При сохранении текущей экологической ситуации, $S = 0.81$, уровень неустойчивости не изменится.

При повышении уровня антропогенной нагрузки в городе до $S_2 = 1.2$ в течение тридцати пяти лет неустойчивость увеличится и стабилизируется на уровне 0.17, переходя в область экологического риска.

Чтобы достичь хаотического состояния геоэкологической системы Липецка, потребуется огромное увеличение геохимической энтропии территории в ближайшие сто лет. Это время ограничивает горизонт прогноза модели. И даже на стадии перехода от динамической деградации подавляющего большинства существующих геоэкологических систем к хаосу возможно удержать их экологическое состояние в рамках экологического риска

за счет проведения природоохранных мероприятий, не требующих значительных экономических затрат.

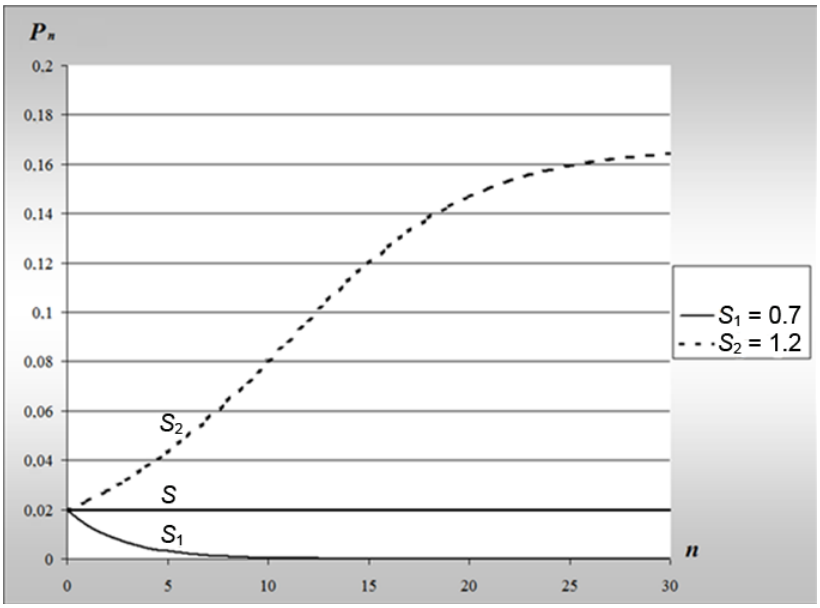

Рис. 4. Прогноз развития экологической ситуации в г. Липецк в течение ближайших 30 лет при различных тенденциях экологической политики

Заключение

Промышленно развитый г. Липецк по результатам измерений концентраций отдельных загрязняющих веществ в почве считается проблемной с экологической точки зрения агломерацией. Однако оценка неустойчивости его экологической системы в целом, по разработанной энтропийной модели, дала, на первый взгляд, достаточно неожиданный результат: текущий уровень неустойчивости $P_0 = 0.02$. Этот говорит о том, что уровень устойчивости экологической системы, определяющий комфортность проживания населения на данной территории, не может быть оценен по результатам измерений в отдельных точках, привязанных к источникам загрязнения. В этом случае практически не учитывается высокий потенциал самовосстановления экологической системы за счет рассеяния и естественной трансформации опасных загрязнителей.

Энтропийная модель динамического хаоса для оценки экологической ситуации техногенно нагруженных территорий, представляющих собой открытые системы, позволяет учитывать, с одной стороны, рост ее неупорядоченности из-за антропогенного воздействия, а с другой – упорядочивание за счет естественных процессов и природоохранных мероприятий.

В целом г. Липецк по комфортности проживания населения на всей его территории находится в ранге экологической нормы, имея текущий уровень геохимической энтропии $S = 0.81$ при уровне неустойчивости $P \leq 0.1$. Прогнозируемо комфортность проживания населения ухудшится при $S > 1$, что

соответствует рангу «экологический риск». При этом у части населения из-за накопления вредных веществ в организме будут появляться экологически обусловленные заболевания.

Разработанная модель позволяет сделать прогноз развития экологической ситуации городской агломерации при различных тенденциях ее экологического развития. Экологический потенциал российских промышленных агломераций далеко не исчерпан. Энтропия агломерации может возрастать в динамическом режиме до уровня $S = 0.5$ при уровне неустойчивости $P = 0.5$. При этом произойдет значительное ухудшение экологической ситуации, но еще можно будет однозначно прогнозировать ее развитие и управлять происходящими геоэкологическими процессами.

Предложенная модель позволяет оценить текущее геоэкологическое состояние масштабных антропогенно нагруженных территорий с высокими уровнями вариации загрязнения на различных участках, прогнозировать уровень комфортности проживания населения в городских агломерациях и реализовывать управление геоэкологическими системами.

Литература

1. *Берже П., Помо И., Видаль К.* Порядок в хаосе. М.: Мир, 1991. 231 с.
2. *Рюэль Д.* Случайность и хаос. Ижевск: РХД, 2001. 192 с.
3. *Lorenz E.N.* Deterministic nonperriodic flow // J. Atmos. Sci. 1963. V. 20, No 2. P. 130 141. doi: 10.1175/1520-0469(1963)020<0130:DNF>2.0.CO;2.
4. *Feigenbaum M.* Quantitative universality for a class of nonlinear transformations // J. Stat. Phys. 1978. V. 19, No 1. P. 25–52. doi: 10.1007/BF01020332.
5. *Лоренц Э.* Детерминированное непериодическое течение. Странные аттракторы. М.: Мир, 1981. С. 88–117.
6. *Самарский А.А.* Компьютеры и нелинейные явления: информатика и современное естествознание. М.: Наука, 1988. 192 с.
7. *Гукенхеймер Дж., Холмс Ф.* Нелинейные колебания, динамические системы и бифуркации векторных полей. Москва-Ижевск: Ин-т компьютер. исслед., 2002. 559 с.
8. *Базарский О.В., Пантелеев Д.А., Кочетова Ж.Ю.* Геоэкологическая модель для прогнозирования деградации и восстановления рельефа военных полигонов // Региональные геосистемы. 2022. Т. 46, № 1. С. 119–131. doi: 10.52575/2712-7443-2022-46-1-119-131.
9. *Базарский О.В., Кочетова Ж.Ю.* Энтропия абиотических геосфер и модель для оценки и прогноза их состояния // Биосфера. 2021. Т. 13, № 1–2. С. 9–14. doi: 10.24855/biosfera.v13i1.572.
10. *Розенберг Г.С.* Экология и кибернетика: по следам Маргалефа // Биосфера. 2011. Т. 3, № 4. С. 445–454.
11. *Сугак Е.В.* Современные методы оценки экологических рисков // Европейский журнал социальных наук. 2014. № 5–2 (44). С. 427–433.
12. *Шустер Г.* Детерминированный хаос. М.: Мир, 1988. 240 с.
13. *Йосс Ж., Джозеф Д.* Элементарная теория устойчивости и бифуркаций. М.: Мир, 1983. 300 с.

14. *Трофимов В.Т., Зилинг Д.Г.* Инженерная геология и экологическая экология: теоретико-методологические основы и взаимоотношение. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1999. 119 с.

15. СанПиН 1.2.3685-21. Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания. Постановление главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 2. 635 с.

16. *Ла-Салль Ж., Лефшиц С.* Исследование устойчивости прямым методом Ляпунова. М.: Мир, 1964. 168 с.

17. *Косинова И.И., Фонова С.И., Базарский О.В., Плаксицкая И.П.* Комплексная оценка геосферы жизнедеятельности населения территории Липецкого промрайона. Воронеж: ВГАСУ, 2014. 175 с.

Поступила в редакцию 08.08.2022
Принята к публикации 21.10.2022

Базарский Олег Владимирович – доктор физико-математических наук, профессор, профессор кафедры физики и химии

ВУНЦ ВВС «Военно-воздушная академия имени профессора Н.Е. Жуковского и Ю.А. Гагарина»
ул. Старых Большевиков, д. 54А, г. Воронеж, 394064, Россия
E-mail: *arhangelskaya49@mail.ru*

Кочетова Жанна Юрьевна – доктор географических наук, доцент, доцент кафедры эксплуатации и ремонта САТОП

ВУНЦ ВВС «Военно-воздушная академия имени профессора Н.Е. Жуковского и Ю.А. Гагарина»
ул. Старых Большевиков, д. 54А, г. Воронеж, 394064, Россия
E-mail: *zk_vva@mail.ru*

Кульнев Вадим Вячеславович – кандидат географических наук, ведущий специалист-эксперт отдела государственного экологического надзора по Воронежской области

Центрально-Черноземное межрегиональное управление Федеральной службы по надзору в сфере природопользования
ул. Ломоносова, д. 105, г. Воронеж, 394087, Россия
E-mail: *kulneff.vadim@yandex.ru*

Пантелеев Дмитрий Александрович – соискатель ученой степени кандидата географических наук кафедры эксплуатации и ремонта САТОП

ВУНЦ ВВС «Военно-воздушная академия имени профессора Н.Е. Жуковского и Ю.А. Гагарина»
ул. Старых Большевиков, д. 54А, г. Воронеж, 394064, Россия
E-mail: *dmitryipanteleev@mail.ru*

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI

(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2023, vol. 165, no. 2, pp. 281–294

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.281-294

Entropy Model of Dynamic Chaos of an Abiotic System

O.V. Bazarsky [a*], *Zh.Yu. Kochetova* [a **], *V.V. Kul'nev* [b***], *D.A. Panteleev* [a****]

[a]*Zhukovsky and Gagarin Air Force Academy, Voronezh, 394004 Russia*
[b]*Central Chernozem Interregional Department of the Federal Service for Supervision of Nature Management, Voronezh, 394087 Russia*

E-mail: [*]*arhangelskaya49@mail.ru*, [**]*zk_vva@mail.ru*, [***]*kulneff.vadim@yandex.ru*, [****]*dmitryipanteleev@mail.ru*

Received August 8, 2022; Accepted October 21, 2022

Abstract

Dynamic chaos systems are commonly described by the nonlinear cyclic Verhulst relation. In this study, its use was extended to track the degradation of ecological systems at different stages of their development. A new concept was introduced: the geochemical entropy of abiotic ecological systems, which varies in the interval [0, 4] and determines the level of their stability in the interval [0, 1]. The model was verified by assessing soil pollution in Lipetsk (Russia). Despite the high level of soil pollution in certain areas of the city, the overall ecological situation turned out to be "normal" with a high level of stability (0.98). Forecasts were made of how the ecological situation in Lipetsk might develop with a change in the anthropogenic load. If it remains unchanged, the sustainability of the ecological system will be virtually the same. With heavier soil pollution, the stability may be lost at different rates, depending on the entropy of the system. The proposed model is helpful for assessing the current geo-ecological state of large territories with high anthropogenic load and pollution levels varying considerably between different areas of these territories, as well as for predicting the level of living comfort in urban agglomerations and managing ecological systems.

Keywords: Verhulst model, dynamic chaos, entropy, sustainability of the ecological system, forecast of the ecological situation, soil pollution, heavy metals

Figure Captions

Fig. 1. Diagram showing the development of a dynamic chaos system.

Fig. 2. Soil pollution map of Lipetsk.

Fig. 3. Histograms of the hazard quotients of major soil pollutants in Lipetsk.

Fig. 4. Forecast of the development of the ecological situation in Lipetsk for the next 30 years with different trends in the environmental policy.

References

1. Berge P., Pomeau Y., Vidal C. *Poryadok v khaose* [Order within Chaos]. Moscow, Mir, 1991. 231 p. (In Russian)
2. Ruelle D. *Sluchainost' i khaos* [Chance and Chaos]. Izhevsk, RKhD, 2001. 192 p. (In Russian)
3. Lorenz E.N. Deterministic nonperriodic flow. *J. Atmos. Sci*., 1963. vol. 20, no 2, pp. 130–141. doi: 10.1175/1520-0469(1963)020<0130:DNF>2.0.CO;2.
4. Feigenbaum M. Quantitative universality for a class of nonlinear transformations. *J. Stat. Phys.*, 1978. vol. 19, no 1, pp. 25–52. doi: 10.1007/BF01020332.

5. Lorenz E. *Determinirovannoe neperiodicheskoe techenie. Strannye attraktory* [Deterministic Nonperiodic Flow. Strange Attractors]. Moscow, Mir, 1981. pp. 88–117. (In Russian)

6. Samarskii A.A. *Komp'yutery i nelineinye yavleniya: informatika i sovremennoe estestvoznanie* [Computers and Nonlinear Phenomena: Computer Science and Modern Natural Sciences]. Moscow, Nauka, 1988. 192 p. (In Russian)

7. Guckenheimer J., Holmes P. *Nelineinye kolebaniya, dinamicheskie sistemy i bifurkatsii vektornykh polei* [Nonlinear Oscillations, Dynamical Systems, and Bifurcations of Vector Fields]. Moscow, Izhevsk, Inst. Komp'yut. Issled., 2002. 559 p. (In Russian)

8. Bazarsky O.V., Panteleev D.A., Kochetova Zh.Yu. Geoecological model for predicting degradation and restoration of the relief of military landfills. *Reg. Geosist.*, 2022, vol. 46, no. 1, pp. 119–131. doi: 10.52575/2712-7443-2022-46-1-119-131. (In Russian)

9. Bazarsky O.V., Kochetova Zh.Yu. Entropy of abiotic geospheres and a model for assessing and predicting their states. *Biosfera*, 2021, vol. 13, nos. 1–2, pp. 9–14. doi: 10.24855/biosfera.v13i1.572. (In Russian)

10. Rosenberg G.S. Ecology and cybernetics: In the footsteps of Margalef. *Biosfera*, 2011, vol. 3, no. 4, pp. 445–454. (In Russian)

11. Sugak E.V. Modern methods of environmental risk assessment. *Evr. Zh. Sots. Nauk*, 2014, no. 5-2 (44), pp. 427–433. (In Russian)

12. Schuster H.G. *Determinirovannyi khaos* [Deterministic Chaos]. Moscow, Mir, 1988. 240 p. (In Russian)

13. Iooss G., Joseph D.D. *Elementarnaya teoriya ustoychivosti i bifurkatsii* [Elementary Stability and Bifurcation Theory]. Moscow, Mir, 1983. 300 p. (In Russian)

14. Trofimov V.T., Ziling D.G. *Inzhenernaya geologiya i ekologicheskaya ekologiya: teoretiko-metodologicheskie osnovy i vzaimootnoshenie* [Engineering Geology and Environmental Ecology: Theoretical and Methodological Framework and Relationship]. Moscow, Izd. Mosk. Univ., 1999. 119 p. (In Russian)

15. Sanitary Rules and Norms 1.2.3685-21. Hygienic standards and requirements for ensuring the safety and (or) harmlessness of environmental factors for humans. *Resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation of January 28, 2021*, no. 2. 635 p. (In Russian)

16. LaSalle J., Lefschetz S. *Issledovanie ustoichivosti pryamym metodom Lyapunova* [Stability by Liapunov's Direct Method]. Moscow, Mir, 1964. 168 p. (In Russian)

17. Kosinova I.I., Fonova S.I., Bazarsky O.V., Plaksitskaya I.P. *Kompleksnaya otsenka geosfery zhiznedeyatel'nosti naseleniya territorii Lipetskogo promrayona* [Comprehensive Assessment of the Geosphere of Life Activity of the Population of the Lipetsk Industrial District]. Voronezh, VGASU, 2014. 175 p. (In Russian)

***Для цитирования*:** *Базарский О.В., Кочетова Ж.Ю., Кульнев В.В., Пантелеев Д.А.* Энтропийная модель динамического хаоса геоэкологической системы // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2023. Т. 165, кн. 2. С. 281–294. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.281-294.

***For citation*:** Bazarsky O.V., Kochetova Zh.Yu., Kul'nev V.V., Panteleev D.A. Entropy model of dynamic chaos of an abiotic system. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2023, vol. 165, no. 2, pp. 281–294. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.281-294. (In Russian)

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ КАЗАНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА.
СЕРИЯ ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

2023, Т. 165, кн. 2
С. 295–307

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 553.623+552.331+551.781.3

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.295-307

МИКРОСТРУКТУРЫ НА ПОВЕРХНОСТИ ЗЕРЕН КВАРЦА И ПРОИСХОЖДЕНИЕ ПАЛЕОГЕНОВЫХ ПЕСКОВ УЛЬЯНОВСКО-СЫЗРАНСКОГО ПОВОЛЖЬЯ

С.О. Зорина, К.И. Никашин, Н.И. Афанасьева, Н. Хамада

Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

Аннотация

В статье приведены результаты изучения поверхностных микроструктур зерен кварца, слагающих пески верхней части сосновской толщи палеогена Ульяновско-Сызранского Поволжья. Изучение зерен кварца с применением оптического и электронного микроскопов показало, что они несут признаки многостадийной обработки в условиях субаквальной (зона пляжа), смешанной субаквально-эоловой (прибрежные дюны), инжектной и континентальной педологической обстановок. Впервые описан комплекс микроструктур, характерных для выдавливания зерен из глубоких горизонтов, свойственных инжектному механизму образования песков: ротационные микроструктуры, микротроги с зазубринами и деформированные флюидные включения. Учитывая достаточно свежий облик инжектных микроструктур, сделан вывод об их наложении на прибрежно-морской и эоловый этап эволюции песков. Заключительным этапом в геологической истории рассматриваемых песков следует считать этап обработки зерен в континентальных педологических условиях. По результатам исследования составлена интерпретационная схема, содержащая микроструктурные признаки реконструированных палеообстановок и стадии преобразования песчаного материала сосновской толщи.

Ключевые слова: микроструктуры, обломочные зерна, кварц, пески, сосновская толща, палеоген, Ульяновско-Сызранское Поволжье, Русская плита

Введение

Микроструктуры, встречающиеся на поверхности кварцевых зерен, дают представление об осадочной истории обломочных отложений и позволяют реконструировать разнообразные палеообстановки, в которых происходила обработка и транспортировка обломочного материала. Многочисленными исследованиями установлены микроструктуры кварцевых зерен самой разнообразной фациальной приуроченности и построены интерпретационные схемы, позволяющие дифференцировать речные, морские, эоловые, ледниковые, педологические и смешанные обстановки [1–4].

При изучении песчаного материала верхней части сосновской толщи палеогена Ульяновско-Сызранского Поволжья (УСП) (восток Русской плиты) на поверхности кварцевых зерен нами были обнаружены микроструктуры, свидетельствующие о прибрежно-морском, континентальном и, возможно, инжектном происхождении песчаного материала. Образование инжектитов, как

известно, происходит при выжимании флюидизированных песков под давлением из глубоких горизонтов на поверхность или внедрении в слоистую последовательность. В настоящем сообщении изложены первые результаты, содержащие описание диагностических признаков поверхностных микроструктур зерен кварца. Данные микроструктуры позволяют реконструировать прибрежно-морские, континентальные и инжектные обстановки, в которых происходила обработка и транспортировка песчаных зерен сосновской толщи УСП.

1. Геологическое строение и происхождение кварцевых песков сосновской толщи палеогена

Объектом настоящего исследования выбраны кварцевые пески верхней части сосновской толщи палеогена, вскрывающиеся в карьерах Кучуровского и Восточно-Ташлинского месторождений песков, расположенных в Сенгилеевском районе Ульяновской области (рис. 1, *а*, *б*).

Сосновская толща, мощностью до 180 м, распространена в УСП и представлена белыми, буровато-, розовато-белыми тонко-мелкозернистыми кварцевыми песками с неравномерными прослоями конкреционных песчаников (рис. 1, *в*, *г*). Участками пески залегают на маастрихтском мелу, но в основном подстилаются и перекрываются палеоценовыми нижнесызранскими опоками и диатомитами [5].

Вопрос о происхождении сосновских песков вызывает многолетние дискуссии в связи с их востребованностью в качестве стекольного и строительного сырья и необходимостью расширения минерально-сырьевой базы. До последнего времени считалось, что пески и песчаники сосновской толщи сформировались во время регрессий морского бассейна [6]. Некоторые исследователи придерживаются точки зрения об образовании рассматриваемых песков в условиях авандельты [7]. Таким образом, сосновская песчаная толща всегда относилась к прибрежно-морской пляжевой или дельтовой фациям. Но при этом не обращалось внимания на отсутствие в сосновских песках основных признаков, присущих дельтовым комплексам. В них не выявлены признаки дифференциации обломочных зерен с характерной градационной слоистостью, а также проградационные серии.

И основное противоречие осадочного происхождения сосновской толщи, на наш взгляд, связано с неопределенностью ее возраста. Согласно Унифицированной стратиграфической схеме палеогеновых отложений Поволжско-Прикаспийского субрегиона [8], сосновская толща датируется второй половиной дания – концом танета. На схеме Ульяновско-Сызранской зоны она показана «прорывающей» четыре последовательно залегающих стратона, что подчеркивает «интрузивный» характер ее залегания. Наша точка зрения о возможном инжектном происхождении сосновской толщи и ее более молодом (посттанетском) возрасте отражена в действующем варианте Унифицированной стратиграфической схемы палеогеновых отложений Поволжско-Прикаспийского субрегиона [8].

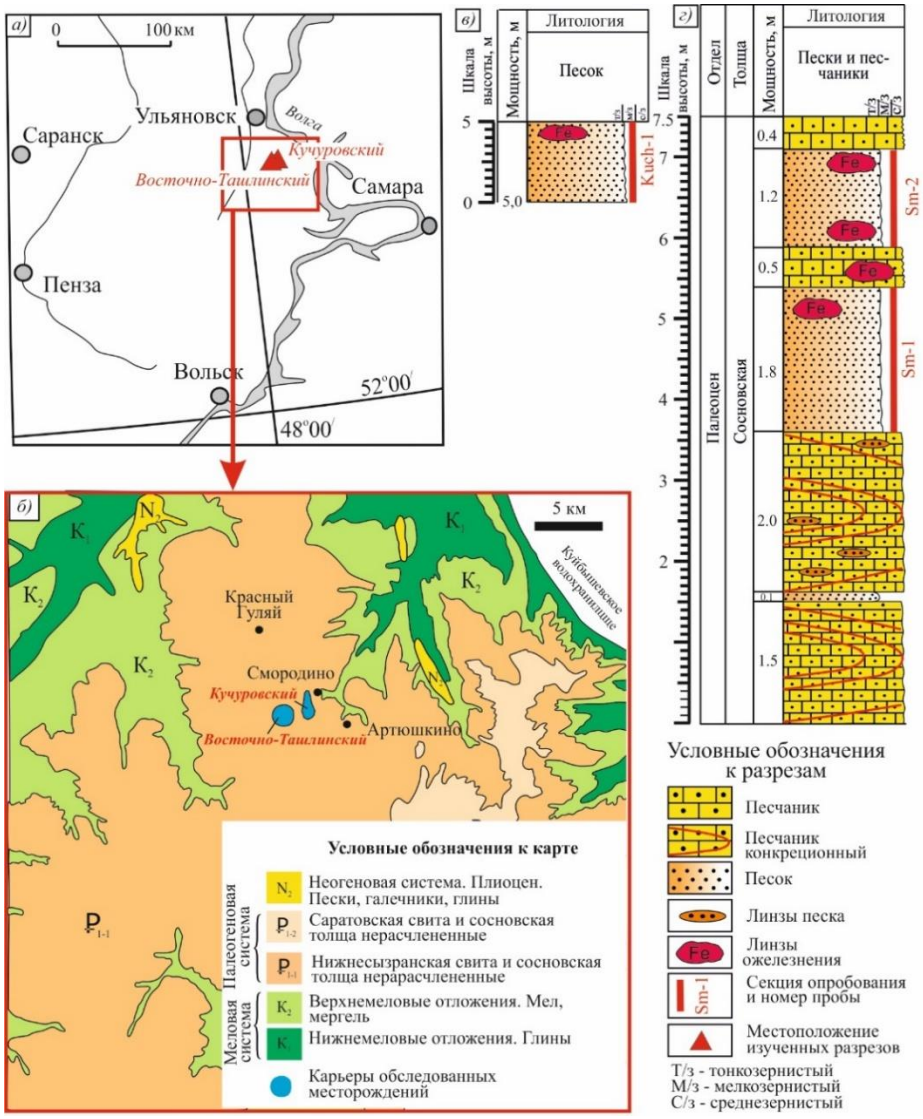

Рис. 1. Местоположение Восточно-Ташлинского и Кучуровского карьеров на географической схеме (*а*), обзорной геологической карте (по Личман, 1968ф) (*б*); литологическое строение верхней части сосновской толщи в Восточно-Ташлинском (*в*) и Кучуровском (*г*) карьерах и места отбора проб

2. Материалы и методы

В настоящем исследовании рассмотрена верхняя (приповерхностная) часть сосновской толщи, вскрытая Восточно-Ташлинским и Кучуровским карьерами на глубину 5 и 7.5 м соответственно. Валовые пробы песков из Кучуровского (Sm-1 и Sm-2) и Восточно-Ташлинского (Kuch-1) карьеров (рис. 1, *в, г*) были рассеяны на ситах со стандартным размером ячеек, принятым для определения качества строительных песков. Затем из каждой фракции были отквартованы навески массой 5–20 г, которые просматривались под оптическим микроско-

пом Carl Zeiss AxioLab (Carl Zeiss, Германия) с цифровой камерой Axiocam 506 color в отраженном и проходящем свете, что позволяет изучать поверхностные микроструктуры и особенности внутреннего строения зерен. Из тысячи зерен, изученных под оптическим микроскопом, порядка пятидесяти зерен были исследованы методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с применением растрового электронного микроскопа Philips XL-30 ESEM-FEG (Philips, Нидерланды) (ИГиНГТ КФУ). Фациальная диагностика обстановок, в которых проходила обработка и транспортировка песчаного материала сосновской толщи, проведена на основе интерпретационных схем и обобщений поверхностных микроструктур, которые позволяют реконструировать палеообстановки [1–4].

3. Микроструктуры на поверхности зерен кварца сосновских песков как индикаторы палеообстановок

В исследованных фракциях сосновских песков численно доминируют хорошо и среднеокатанные зерна кварца с микроструктурами, характерными одновременно для морского пляжевого побережья (60–80%) и прибрежных дюн (20–30%) (рис. 2, *а–г*). В самых мелких фракциях (0.16–0.315 мм, < 0.16 мм) преобладают слабо окатанные и угловатые зерна со свежими следами сколов, их количество в общей массе песка составляет 30–45%. Вероятнее всего, они представляют собой обломки более крупных зерен.

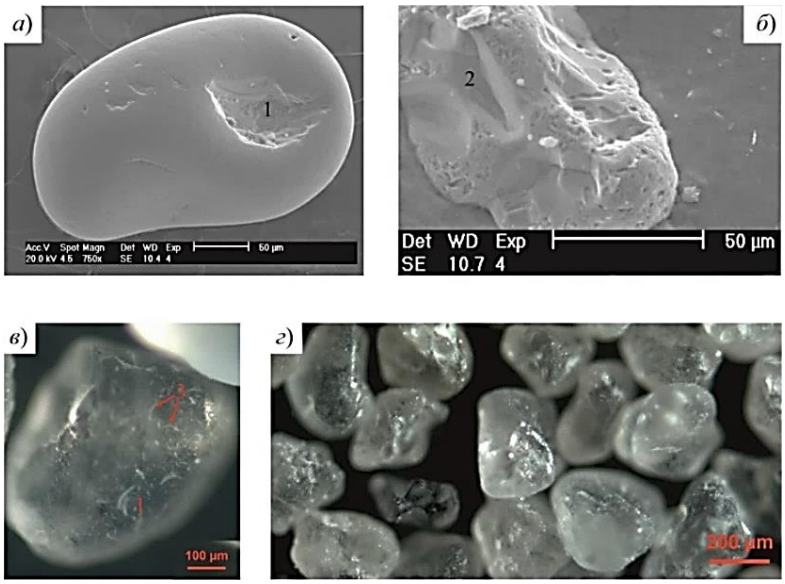

Рис. 2. СЭМ-изображения зерен пробы Sm-1, фракция < 0.16 мм: *а*) хорошо окатанное зерно с гладкой поверхностью и свежей серповидной вмятиной (1); *б*) зерно средней окатанности с шероховатой поверхностью и V-образными следами ударов (2). Микрофотографии зерен пробы Sm-2; *в*) полуокатанное зерно с шероховатой поверхностью, многочисленными серповидными выбоинами (1) и ударными трещинами (3). Фракция 0.315–0.63 мм; *г*) слабо окатанные зерна со слабо шероховатой поверхностью, выпуклыми краями, со сглаженными вмятинами и сглаженными мелкими раковистыми сколами. Фракция 0.16–0.315 мм

Весьма характерным и распространенным типом поверхностных микроструктур являются вторичные кремнеземистые образования – глобули, их скопления (рис. 3, *а*) и оболочки вокруг зерен, скрепляющие их между собой. Так, в самой крупной фракции песков (0.63–1.25 мм) встречаются скопления мелких кварцевых зерен, спаянных опаловым цементом (рис. 3, *б*).

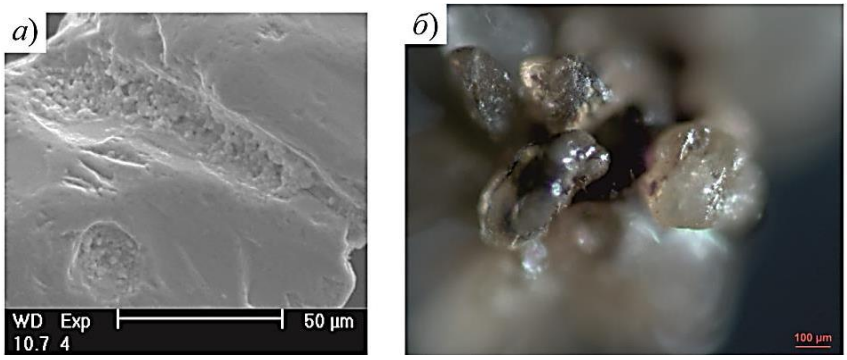

Рис. 3. *а*) СЭМ-изображение фрагмента среднеокатанного зерна со скоплениями глобуль кремнезема во вмятинах и трогах. Проба Sm-2, фракция 0.63–1.25 мм; *б*) микрофотография мелких кварцевых зерен, спаянных вторичным кремнеземом. Проба Kuch-1, фракция 0.63–1.25 мм

Данные микроструктуры являются признаком обработки кварцевого материала в низкоэнергетических континентальных обстановках [9], и, вероятно, скрепление зерен кремнеземом произошло уже после излияния песчаного материала на дневную поверхность или внедрения в слоистую толщу.

Кроме вышеописанных были обнаружены микроструктуры, характерные для обстановок, при которых зерна вдавливались, вкручивались и дробились под давлением других зерен. Общее количество зерен, на поверхности которых они обнаружены, составляет 30–40%. Так, на рис. 4 (*а, б*) приведены изображения зерен с ротационными микроструктурами, проявленными в виде серии ступенчатых вмятин от вдавливания мелкого зерна в поверхность более крупного. Под воздействием давления в направлении, примерно перпендикулярном поверхности большого зерна, оно прокручивалось и вдавливалось, оставляя ступенчатый след и постепенно смещаясь в направлении, обратном движению большого зерна. Примечательно наличие следов вдавливания нескольких зерен, которые ориентированы в одном направлении (рис. 4, *б*).

Важные признаки вдавленного трения зерен, сопровождавшего образование инжектитов, выявлены на поверхности полуокатанного кварцевого зерна из фракции 0.315–0.63 мм пробы Kuch-1 (рис. 5). На гладкой бугристо-ямчатой поверхности зерен выявлены параллельные трогообразные борозды свежего облика (рис. 5, *а, б*), оставленные при трении крупных зерен друг о друга, при этом между зернами, вероятно, оказались «зажаты» мелкие острые осколки, образовавшиеся при раздавливании более крупного зерна. По бортам микротрогов отмечаются мелкие зазубрины – следы ступенчатого вдавленного движения мелких острых зерен под давлением справа налево – вниз (рис. 5, *в*).

Одним из наиболее индикативных признаков движения песчаных масс под давлением, несомненно, является наличие внутренних деформаций кварцевых

зерен. На рис. 6 приведен пример деформации флюидного включения, которое из-за сдавливания потеряло округлую форму. При микроскопическом изучении установлено, что примерно половина зерен имеет следы внутренних деформаций от внешнего сдавливания.

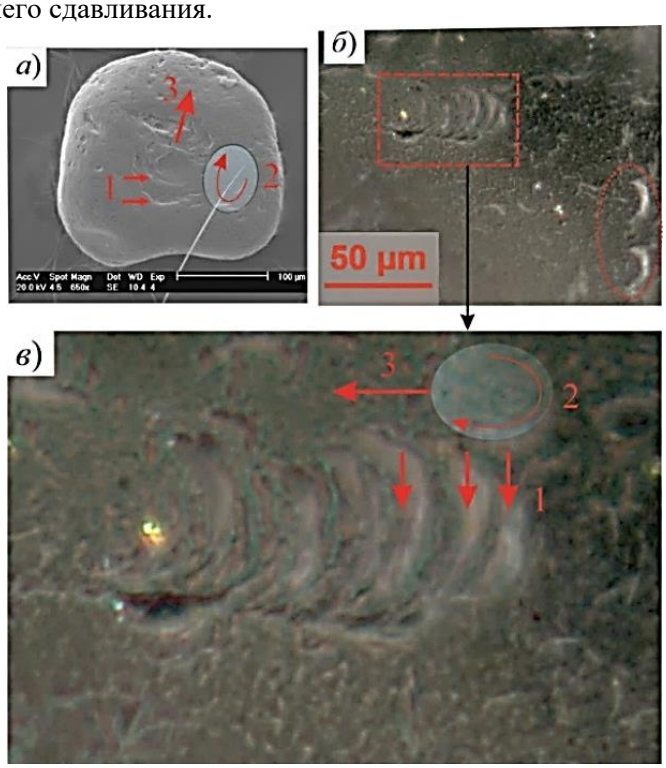

Рис. 4. Ротационные микроструктуры, характерные для инжектитов. Проба Kuch-1: *а*) СЭМ-изображение зерна со следами ступенчатого вдавливания и вращения более мелкого зерна; *б*) микрофотография матовой поверхности зерна с параллельными серповидными ударными вмятинами (пунктирный овал) и ротационной микроструктурой (пунктирный прямоугольник); *в*) увеличенный фрагмент поверхности зерна с ротационной микроструктурой. Стрелками показано направление вдавливания (1), вращения (2) и движения (3) мелкого зерна

4. Обсуждение результатов

В основу инжектного происхождения сосновских песков положена фундаментальная концепция образования песчаных интрузий, разработанная и апробированная в многочисленных публикациях [10–17]. Для образования песчаных интрузий необходимо наличие нескольких обязательных факторов: песчаного слоя-источника, залегающего на значительной глубине от песчаного интрузива; слабо проницаемых вмещающих пород (например, глин); зон трещиноватости, связанных с фазами растяжения; избыточного литостатического давления, воздействующего на песчаный слой-источник; тектонического триггера.

При нарастании литостатического давления рыхлые пески слоя-источника приобретают текучесть и мигрируют по трещинам в более высокие горизонты. Если трещина достигает поверхности седиментации, а выталкивающая сила

достаточна для излияния песчаного флюида, пески изливаются на поверхность дна бассейна или суши. В противном случае процесс ограничивается образованием песчаных силлов и даек. Мощность и протяженность силлов находятся в прямой зависимости от глубины залегания исходного песчаного пласта и градиента избыточного литостатического давления [15].

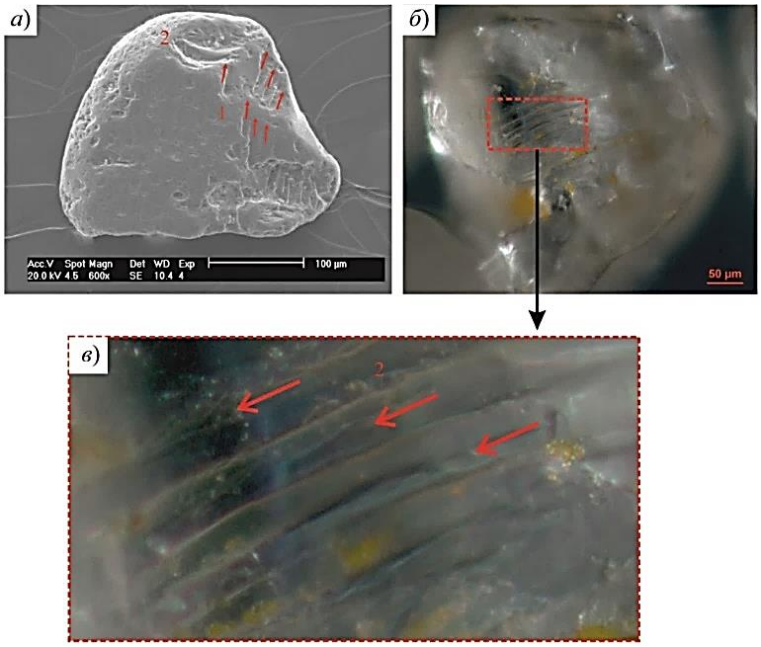

Рис. 5. Микротроги – индикаторы инжектного механизма: *а*) СЭМ-изображение хорошо окатанного зерна с однонаправленно ориентированными микротрогами (1) и ступенчатыми серповидными вмятинами (2); *б*) микрофотография полуокатанного зерна с параллельными трогообразными бороздами на гладкой бугристо-ямчатой поверхности. Проба Kuch-1, фракция 0.315–0.63 мм; *в*) увеличенный фрагмент микротрогов с мелкими зазубринами по бортам (2). Стрелками показано направление перемещения «царапающих» зерен

Рис. 6. Внутренние деформации флюидного включения. Проба Kuch-1, фракция 0.63–1.25 мм. Стрелками показаны трещины вокруг включения, совпадающие с направлением сдавливания зерна

Примечательно, что вышеперечисленные обязательные факторы присутствуют в рассматриваемом геологическом разрезе УСП [5]. Ниже приведены выявленные признаки возможного инжектного происхождения палеогеновых песков, распространенных в УСП, установленные по результатам изучения поверхностных микроструктур кварцевых зерен. Известно, что субаквальная обстановка определяется по хорошей окатанности зерен, сглаженному микрорельефу поверхности, наличию V-образных ударных трещин, прямых и изогнутых борозд [2–4]. Основным признаком воздействия эолового переноса являются шероховатая и матовая поверхность зерен, многочисленные выпуклости и сколы, формирующиеся при ударах зерен друг о друга. Континентальные аридные условия диагностируются по следам растворения и выщелачивания на поверхности, которые придают зернам «испещренный» облик. Другим признаком педологической обстановки являются вторичные образования кремнезема. Глобули кремнезема в составе цемента песчаников формируются, когда относительно неподвижные зерна кварца подвергаются воздействию насыщенных кремнеземом флюидов [16].

В результате микроскопического и электронно-микроскопического изучения кварцевых зерен сосновских песков выявлены разнообразные внутренние и поверхностные микроструктуры, позволившие диагностировать фациальные условия, в которых происходила обработка песчаного материала. По степени сглаженности поверхности или угловатости рельефа оказалось возможным определить последовательность этапов такой обработки. Некоторые микроструктуры характерны для различных фациальных обстановок, и по ним невозможно дать однозначный ответ о конкретных условиях формирования песка [4]. Такие микроструктуры, как V-образные ударные трещины, серповидные следы ударов, сглаженность рельефа, мелкие раковистые сколы и некоторые другие, позволили определить, что сосновские пески изначально формировались в условиях субаквальной морской (зона пляжа) и смешанной субаквально-эоловой (дюны морского побережья) обстановок.

Важнейшим выводом проведенного исследования является выявление микроструктур, характерных для инжектного механизма воздействия на зерна. Впервые описаны ротационные микроструктуры и микротроги с зазубринами, которые в совокупности с деформированными флюидными включениями представляют собой диагностический комплекс для выявления инжектитов. Учитывая достаточно свежий облик перечисленных микроструктур, сделан вывод об их наложении на прибрежно-морской и эоловый этап эволюции.

Заключительным этапом в геологической истории рассматриваемых песков следует считать этап обработки зерен в континентальных педологических условиях. Вторичный кремнезем в виде глобулей и их скоплений цементирует кварцевые зерна, на поверхности которых отмечаются все признаки предыдущих этапов.

По результатам исследования составлена интерпретационная схема, содержащая разнообразные микроструктурные признаки реконструированных палеообстановок и стадии обработки песчаного материала сосновской толщи (табл. 1). При составлении схемы в значительной мере были учтены обобщения микроструктур, приведенные в работах [1–4].

Табл. 1

Интерпретационная схема палеообстановок образования песков сосновской толщи по микроструктурам на поверхности кварцевых зерен (по [1–4])

Этапы	Обстановка		Микроструктурные признаки
Накопление слоя-источника	Субаквальная	Морская пляжевая	Хорошая окатанность Низкий выровненный микрорельеф (гладкая поверхность) Небольшие раковистые сколы V-образные ударные трещины
	Смешанная субаквально-эоловая	Прибрежные дюны	Окатанные и слабоокатанные зерна Слабая и средняя шероховатость Многочисленные серповидные следы ударов Раковистый характер скола от ударов V-образные ударные трещины
Инжектный	Внедрение песчаных интрузий и экструзий (инжектитообразование)		Ротационные микроструктуры в виде ступенчатых вмятин Микротроги с зазубринами по бортам Деформации флюидных включений
Постинжектный	Континентальная, педологическая		Образование вторичного кремнезема – скопления глобуль и пленки

Заключение

Микроскопическое и электронно-микроскопическое изучение поверхностных микроструктур показало, что зерна кварца сосновских песков несут признаки многостадийной обработки в условиях субаквальной (зона пляжа), смешанной субаквально-эоловой (прибрежные дюны), инжектной и континентальной педологической обстановок.

В комплексе микроструктур выявлены и описаны поверхностные микроструктуры, характерные для выжимания песков под давлением из глубоких горизонтов в приповерхностные области с образованием песчаных интрузий и экструзий. Диагностический комплекс инжектной обстановки включает ротационные микроструктуры в виде ступенчатых вмятин, микротроги с зазубринами по бортам и деформации флюидных включений.

Предполагаемое инжектное происхождение сосновских песков имеет важное практическое значение, так как позволяет разработать новые подходы к прогнозированию песчаных залежей стекольных и строительных кварцевых песков, приуроченных к сосновской толще палеогена Ульяновско-Сызранского Поволжья.

Благодарности. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-27-00070, https://rscf.ru/project/22-27-00070/.

Литература

1. *Георгиев В.М.* Методика исследования микроструктур кластического кварца в осадках при помощи электронного микроскопа // Литология и полезные ископаемые. 1982. № 6. С. 37–48.

2. *Krinsley D.H., Doornkamp J.C.* Atlas of Quartz Sand Surface Textures. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1973. 91 p.
3. *Mahaney W.C.* Atlas of Sand Grain Surface Textures and Applications. N.Y.: Oxford Univ. Press, 2002. 237 p.
4. *Vos K., Vandenberhe N., Elsen J.* Surface textural analysis of quartz grains by scanning electron microscopy (SEM): From sample preparation to environmental interpretation // Earth-Sci. Rev. 2014. V. 128. P. 93–104. doi: 10.1016/j.earscirev.2013.10.013.
5. *Zorina S.O., Afanasyeva N.I.* The sand injectites in the Russian Platform`s Paleogene sediments // Stratigr. Sedimentol. Oil-Gas Basins. 2012. V. 2. P. 35–48.
6. *Леонов Г.П.* Основные вопросы региональной стратиграфии палеогеновых отложений Русской платформы. М.: Издательство Московского государственного университета, 1961. 552 с.
7. *Дистанов У.Г.* Кремненакопление в мезокайнозойских бассейнах платформенных областей // Кремнистые породы СССР. Казань, 1976. С. 255–262.
8. *Ахметьев М.А., Шик С.М., Алексеев А.С.* Унифицированная стратиграфическая схема палеогеновых отложений Поволжско-Прикаспийского субрегиона. Объяснительная записка. М.: ВНИГНИ, 2014. 96 с.
9. *Higgs R.* Quartz-grain surface features of Mesozoic–Cenozoic sands from the Labrador and western Greenland continental margins // J. Sediment. Petrol. 1979. V. 49, No 2. P. 599–610. doi: 10.1306/212F779D-2B24-11D7-8648000102C1865D.
10. *Браччини Э., де Бур В., Херст Э., Хуус М., Вигорито М., Темплтон Г.* Песчаные кластические интрузии // Нефтегазовое обозрение. 2008. Т. 20, Вып. 2. С. 38–57.
11. *Hurst A., Scott A., Vigorito M.* Physical characteristics of sand injectites // Earth-Sci. Rev. 2011. V. 106, No 3-4. P. 215–246. doi: 10.1016/j.earscirev.2011.02.004.
12. *Dixon R.J., Schofield K., Anderton R., Reynolds A.D., Alexander R.W.S., Williams M.C., Davies K.G.* Sandstone diapirism and clastic intrusion in the Tertiary submarine fans of the Bruce–Beryl Embayment, Quadrant 9, UKCS // Hartley A.J., Prosser D.J. (Eds.) Characterization of Deep Marine Clastic Systems. V. 94. Book Ser.: Geological Society, London, Special Publications. London: Geol. Soc., 1995. P. 77–94.
13. *Davies R.J., Huuse M., Hirst Ph., Cartwright J., Yang Y.* Giant clastic intrusions primed by silica diagenesis // Geology. 2006. V. 34, No 11. P. 917–920. doi: 10.1130/G22937A.1.
14. *Løseth H., Rodrigues N., Cobbold P.R.* World's largest extrusive body of sand? // Geology. 2012. V. 40, No 5. P. 467–470. doi: 10.1130/G33117.1.
15. *Jolly R.J.H., Lonergan L.* Mechanisms and controls on the formation of sand intrusions // J. Geol. Soc. 2002. V. 159, No 5. P. 605–617. doi: 10.1144/0016-764902-025.
16. *Ross J.A., Peakall J., Keevil G.M.* An integrated model of extrusive sand injectites in cohesionless sediments // Sedimentology. 2011. V. 58, No 7. P. 1693–1715. doi: 10.1111/j.1365-3091.2011.01230.x.
17. *Van Loon A.J.(T.).* Sedimentary volcanoes: Overview and implications for the definitions of a volcano on Earth // Cañón-Tapia E., Szakács A. (Eds.) What is Volcano? Special Paper 470. Geol. Soc. Am., 2010. P. 31–41. doi: 10.1130/2010.2470(03).

Поступила в редакцию 04.08.2022
Принята к публикации 15.11.2022

Зорина Светлана Олеговна – доктор геолого-минералогических наук, профессор кафедры палеонтологии и стратиграфии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *svzorina@yandex.ru*

Никашин Константин Игоревич – аспирант, инженер научно-исследовательской лаборатории стратиграфии нефтегазоносных резервуаров

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *kostya97@inbox.ru*

Афанасьева Надежда Иосифовна – кандидат геолого-минералогических наук, старший преподаватель кафедры палеонтологии и стратиграфии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *n-afanasieva@rambler.ru*

Хамада Надия – магистрант программы «Стратиграфия нефтегазоносных бассейнов»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *nadia.m.hamada@gmail.com*

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2023, vol. 165, no. 2, pp. 295–307

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.295-307

Surface Microtextures of Quartz Grains and Origin of the Paleogene Sands in the Ulyanovsk-Syzran Volga Region

S.O. Zorina [*], *K.I. Nikashin* [**], *N.I. Afanasieva* [***], *N. Hamada* [****]

Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia

E-mail: [*]*svzorina@yandex.ru*, [**]*kostya97@inbox.ru*, [***]*n-afanasieva@rambler.ru*, [****]*nadia.m.hamada@gmail.com*

Received August 4, 2022; Accepted November 15, 2022

Abstract

Quartz grains were separated by standard sieving of the Paleogene sands from the Sosnovka Formation of the Ulyanovsk-Syzran Volga region, which are a scarce and valuable raw material for glass making and construction. In order to establish the origin of the sands and restore the facies conditions of their formation, the surface microtextures of the separated quartz grains were examined by optical and electron microscopy. It was shown that the clastic grains of the Sosnovka sands bear the signs of a multi-stage formation process under the conditions of subaquatic (beach zone), eolian, mixed subaquatic-eolian (coastal dunes), injective, and continental pedological settings. For the first time, a complex of microtextures characteristic of the extrusion of grains from deep horizons under pressure and inherent in the injection mechanism of sand formation was described. The diagnostic complex of injectites includes rotational microtextures, notched microtroughs, and deformed fluid inclusions. The rather fresh appearance of the listed microtextures suggests that they were superimposed on the coastal-marine and eolian stages of the evolution with the subsequent formation of sand intrusions. At the final stage of the geological history of the Sosnovka sands, the grains were shaped by the continental pedological conditions, when secondary

silica in the form of globules and their clusters cemented the quartz grains, the surface of which concatenated the features of the previous stages. Based on the results of the study, an interpretation scheme summarizing various microtextural features of the reconstructed paleoenvironments and the stages of formation the Sosnovka sands was developed. The finding that the Sosnovka sands are sand intrusions is of great practical importance, as it necessitates new approaches to the discovery and prediction of glass and quartz sand deposits confined to the Paleogene Sosnovka Formation of the Ulyanovsk-Syzran Volga region.

Keywords: microtextures, grains, sands, Sosnovka Formation, Paleogene, Ulyanovsk-Syzran Volga region, Russian Platform

Acknowledgements. This study was supported by the Russian Science Foundation (project no. 22-27-00070, https://rscf.ru/project/22-27-00070/).

Figure Captions

Fig. 1. Location of the Eastern Tashlinsky and Kuchurovsky quarries on the geographical (*a*) and general geological (according to Lichman, 1968f) (*b*) maps; lithological composition of the upper part of the Sosnovka Formation in the Eastern Tashlinsky (*c*) and Kuchurovsky (*d*) quarries and the sampling sites.

Fig. 2. SEM images of Sm-1 grains, fraction < 0.16 mm: *a*) well-rounded grain with a smooth surface and a fresh sickle-shaped dent (1); *b*) medium-rounded grain with a rough surface and V-shaped impact pits (2). Micrographs of Sm-2 grains; *c*) semi-rounded grain with a rough surface, as well as multiple sickle-shaped splits (1) and impact fractures (3). Fraction 0.315–0.63 mm; *d*) poorly rounded grains with slightly rough surfaces, convex edges, as well as smoothed dents and conchoidal chips. Fraction 0.16–0.315 mm.

Fig. 3. *a*) SEM image of a fragment of the medium-rounded grain with clusters of silica globules in the dents and troughs. Sm-2 sample, fraction 0.63–1.25 mm; *b*) micrograph of small-sized quartz grains cemented by secondary silica. Kuch-1 sample, fraction 0.63–1.25 mm.

Fig. 4. Rotational microtextures characteristic of injectites. Kuch-1 sample: *a*) SEM image of a grain with the traces of stepped indentation and rotation of a smaller grain; *b*) micrograph of the matt surface of a grain with parallel sickle-shaped impact dents (dotted oval) and a rotational microtexture (dotted rectangle); *c*) enlarged fragment of the grain surface with a rotational microtexture. The direction of indentation (1), rotation (2), and movement (3) of a small grain is shown with the arrows.

Fig. 5. Microtroughs as indicators of the injection mechanism: *a*) SEM image of a well-rounded grain with unidirectional microtroughs (1) and stepped sickle-shaped dents (2); *b*) micrograph of a semi-rounded grain with parallel trough-like grooves on a smooth hummocky and pitted surface. Kuch-1 sample, fraction 0.315–0.63 mm; *c*) enlarged fragment of the microtroughs with small notches along the sides (2). The movement of "scratching" grains in shown with the arrows.

Fig. 6. Internal deformations of the fluid inclusion. Kuch-1 sample, fraction 0.63–1.25 mm. Fractures around the inclusion coinciding with the direction of the grain squeezing are shown with the arrows.

References

1. Georgiev V.M. A methodology for examining detrital quartz microtextures using electron microscopy. *Lithol. Polezn. Iskop.*, 1982, no. 6, pp. 37–48. (In Russian)
2. Krinsley D.H., Doornkamp J.C. *Atlas of Quartz Sand Surface Textures*. Cambridge, Cambridge Univ. Press, 1973. 91 p.
3. Mahaney W.C. *Atlas of Sand Grain Surface Textures and Applications*. New York, Oxford Univ. Press, 2002. 237 p.
4. Vos K., Vandenberhe N., Elsen J. Surface textural analysis of quartz grains by scanning electron microscopy (SEM): From sample preparation to environmental interpretation. *Earth-Sci. Rev.*, 2014, vol. 128, pp. 93–104. doi: 10.1016/j.earscirev.2013.10.013.
5. Zorina S.O., Afanasyeva N.I. The sand injectites in the Russian Platform's Paleogene sediments. *Stratigr. Sedimentol. Oil-Gas Basins*, 2012, vol. 2, pp. 35–48.

6. Leonov G.P. *Osnovnye voprosy regional'noi stratigrafii paleogenovykh otlozhenii Russkoi platformy* [Major Problems in the Regional Stratigraphy of the Paleogene Deposits of the Russian Platform]. Moscow, Izd. Mosk. Gos. Univ., 1961. 552 p. (In Russian)
7. Distanov U.G. Accumulation of silicious rocks in the Mesozoic and Cenozoic platform basins. In: *Kremnistye porody SSSR* [Silicious rock of the USSR]. Kazan, 1976, pp. 255–262. (In Russian)
8. Akhmet'ev M.A., Shik S.M., Alekseev A.S. *Unifitsirovannaya stratigraficheskaya skhema paleogenovykh otlozhenii Povolzhsko-Prikaspiiskogo subregiona* [Unified Stratigraphic Scheme of Paleogene Deposits of the Volga-Caspian Subregion]. Moscow, VNIGNI, 2015. 96 p. (In Russian)
9. Higgs R. Quartz-grain surface features of Mesozoic–Cenozoic sands from the Labrador and western Greenland continental margins. *J. Sediment. Petrol.*, 1979, vol. 49, no. 2, pp. 599–610. doi: 10.1306/212F779D-2B24-11D7-8648000102C1865D.
10. Braccini E., de Boer W., Hurst A., Huuse M., Vigorito M., Templeton G. Sand injectites. *Oilfield Rev*., 2008, vol. 20, no. 2, pp. 33–49.
11. Hurst A., Scott A., Vigorito M. Physical characteristics of sand injectites. *Earth-Sci. Rev.*, 2011, vol. 106, nos. 3–4, pp. 215–246. doi: 10.1016/j.earscirev.2011.02.004.
12. Dixon R.J., Schofield K., Anderton R., Reynolds A.D., Alexander R.W.S., Williams M.C., Davies K.G. Sandstone diapirism and clastic intrusion in the Tertiary submarine fans of the Bruce-Beryl Embayment, Quadrant 9, UKCS. In: Hartley A.J., Prosser D.J. (Eds.) *Characterization of Deep Marine Clastic Systems.* Vol. 94. Book Ser.: Geological Society, London, Special Publications. London, Geol. Soc., 1995. pp. 77–94.
13. Davies R.J., Huuse M., Hirst Ph., Cartwright J., Yang Y. Giant clastic intrusions primed by silica diagenesis. *Geology*, 2006, vol. 34, no. 11, pp. 917–920. doi: 10.1130/G22937A.1.
14. Løseth H., Rodrigues N., Cobbold P.R. World's largest extrusive body of sand? *Geology*, 2012, vol. 40, no. 5, pp. 467–470. doi: 10.1130/G33117.1.
15. Jolly R.J.H., Lonergan L. Mechanisms and controls on the formation of sand intrusions. *J. Geol. Soc.*, 2002, vol. 159, no. 5, pp. 605–617. doi: 10.1144/0016-764902-025.
16. Ross J.A., Peakall J., Keevil G.M. An integrated model of extrusive sand injectites in cohesionless sediments. *Sedimentology*, 2011, vol. 58, no. 7, pp. 1693–1715. doi: 10.1111/j.1365-3091.2011.01230.x.
17. Van Loon A.J.(T.). Sedimentary volcanoes: Overview and implications for the definitions of a volcano on Earth. In: Cañón-Tapia E., Szakács A. (Eds.) *What is Volcano?* Special Paper 470. Geol. Soc. Am., 2010, pp. 31–41. doi: 10.1130/2010.2470(03).

***Для цитирования*:** *Зорина С.О., Никашин К.И., Афанасьева Н.И., Хамада Н.* Микроструктуры на поверхности зерен кварца и происхождение палеогеновых песков Ульяновско-Сызранского Поволжья // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2023. Т. 165, кн. 2. С. 295–307. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.295-307.

***For citation*:** Zorina S.O., Nikashin K.I., Afanasieva N.I., Hamada N. Surface microtextures of quartz grains and origin of the Paleogene sands in the Ulyanovsk-Syzran Volga region. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2023, vol. 165, no. 2, pp. 295–307. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.295-307. (In Russian)

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ КАЗАНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА.
СЕРИЯ ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

2023, Т. 165, кн. 2
С. 308–321

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 564.8+551.736.3

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.308-321

БРАХИОПОДЫ ИМТАЧАНСКОЙ СВИТЫ ВЕРХНЕЙ ПЕРМИ ЮЖНОГО ВЕРХОЯНЬЯ, СЕВЕРО-ВОСТОК РОССИИ

Р.В. Кутыгин, В.И. Макошин

Институт геологии алмаза и благородных металлов СО РАН,
г. Якутск, 677000, Россия

Аннотация

В нижней части имтачанской свиты по руч. Уступному (правый приток р. Сеторым) Южного Верхоянья собрана обширная коллекция брахиопод, отнесенных к вучапинскому ярусу и представленных строфалозиидами *Strophalosia*? aff. *vollossovitschi* (Fredericks), *Strophalosia*? sp., *Subtaeniothaerus lungersgauzeni* Solomina, *Marginalosia*? *magna* Abramov et Grigorjeva, спириферидами *Crassispirifer monumentalis* Abramov et Grigorjeva, *Crassispirifer* cf. *monumentalis* Abramov et Grigorjeva, *Crassispirifer* sp., атиридидами *Cleiothyridina nikolaevi* Grunt, *Cleiothyridina* sp. 1, *Bajtugania* sp. и теребратулидами *Marinurnula*? aff. *mantuanensis* (Campbell), *Marinurnula*? sp. Установленный комплекс сопоставляется с брахиоподами нижней части хальпирской свиты Западного Верхоянья, по появлению которых проводится граница дулгалахского и хальпирского горизонтов, а также обосновывается нижняя граница зоны *Crassispirifer monumentalis*. В нижней части среднеимтачанской подсвиты имеются единичные находки брахиопод, среди которых определен *Crassispirifer* cf. *monumentalis*, свидетельствующий о том, что к зоне *C. monumentalis*, помимо нижней подсвиты, относится и нижняя часть средней. Выше этого уровня в рассматриваемой свите достоверные находки брахиопод отсутствуют.

Ключевые слова: верхняя пермь, вучапинский ярус, хальпирский горизонт, имтачанская свита, биостратиграфия, брахиоподы, Верхоянье

Введение

Имтачанская свита является верхним стратоном перми Аллах-Юньской структурно-фациальной зоны и согласно унифицированной стратиграфической схеме пермских отложений Верхоянья относится к хальпирскому горизонту [1, 2]. Выделив имтачанскую свиту в междуречье Восточной Хандыги и Дыбы, С.В. Домохотов считал, что это стратиграфическое подразделение обладает широким распространением от р. Томпо (в районе устья р. Менкюле) до левобережных верховьев р. Индигирки [3]. Им было отмечено изменение фациального строения свиты от континентальных отложений на западе (р. Куранах – левый приток р. Томпо) до осадков открытого моря на востоке (р. Сунтар) через прибрежно-морские в центральной части территории (верховья рек Восточная Хандыга и Тыры).

Западный (континентальный) разрез имтачанской свиты, изученный С.В. Домохотовым в 1954 г. на р. Куранах (левый приток р. Томпо), охарактеризован пермской флорой в нижней части свиты (в понимании С.В. Домохотова) и конхостраками в верхней [4]. Брахиоподы и двустворки здесь отсутствуют. На наш взгляд, флороносные пермские отложения, вскрываемые на р. Куранах, относятся к Тукуланской структурно-фациальной зоне Западного Верхоянья, где должны рассматриваться в составе нерской свиты [1]. Верхняя часть «имтачанской свиты», охарактеризованная разнообразными конхостраками [3], вероятно, относится к триасовым отложениям. Выделение в низовье р. Куранах имтачанской свиты нецелесообразно.

Терминальные пермские «отложения открытого моря», наблюдаемые в бассейне р. Сунтар и содержащие обильный комплекс брахиопод, приурочены к Кобюминской структурно-фациальной зоне, где относятся к привольнинской свиты [5, 6].

Следовательно, из трех приведенных типов разрезов к имтачанской свите приурочен лишь центральный («прибрежно-морские фации»), расположенный в стратотипической местности – в междуречье Восточной Хандыги и Дыбы. Ранее считалось, что здесь в имтачанской свите брахиоподы чрезвычайно редки и, по данным С.В. Домохотова [3], составляют всего 1% от всей фауны. При этом основным элементом брахиоподового комплекса имтачанской свиты для рассматриваемого района приводился вид *Strophalosia sibirica* Licharew [3]. В те годы в Восточной Сибири средне-позднепермские строфалозииды часто определялись как *Strophalosia sibirica* Licharew, но позднее было установлено, что к этому виду исследователи ошибочно относили представителей других таксонов: *Strophalosia vollossovitschi* (Fredericks), *S. chivatsehensis* Zavodowsky, *S. tolli* (Fredericks) и др. [7], характерных для дулгалахского и хальпирского горизонтов Верхоянья, а также их возрастных аналогов Колымо-Омолонского региона (гижигинский и хивачский горизонты) [1]. Однако без ревизии палеонтологического материала сейчас уже невозможно выяснить, к какому виду на самом деле относятся формы, обозначенные С.В. Домохотовым как “*Strophalosia sibirica*”.

В 1970 г. постоянные комиссии МСК СССР по перми и триасу провели Рабочее совещание по стратиграфии пограничных слоев перми и триаса Восточного (Южного) Верхоянья. В рамках этого совещания была сделана обширная полевая экскурсия на опорные разрезы верхней перми и нижнего триаса в бассейне р. Сеторым. Во время этой экскурсии «по р. Сеторым и ручью Шагали В.Н. Андриановым в пачке алевролитов обнаружен комплекс брахиопод, по предварительному определению представленный *Strophalosia sibirica* Lich.?, *Cancrinelloides obrutschewi* Lich., *Rhynchopora* cf. *lobjaensis* Tolm., *Licharewia* sp., *Neospirifer* sp. и свидетельствующий о позднепермском (казанском?) возрасте вмещающих пород. По его мнению, эта пачка должна быть отнесена к низам имтачанской свиты» [8]. Предварительное определение этих брахиопод выполнил Д.Л. Степанов, а судьба самой коллекции осталась неизвестной. Основанием для предположения о «казанском» (в современном понимании – верхняя часть средней перми) возрасте брахиопод для В.Н. Андрианова могли быть представления о приуроченности к этому же уровню (основание имтачан-

ской свиты) гониатита *Paramexicoceras* [9], который по уровню организации лопастной линии близок к вордско-кепитенскому роду *Mexicoceras*. Однако последние данные свидетельствуют о том, что парамексикоцерасы характерны для существенно более высокого уровня (основание некучанской свиты), тогда как их ассоциация с имтачанской свитой была ошибочная [10, 11]. С другой стороны, присутствие брахиопод вида *Cancrinelloides obrutschewi* (Licharew) могло свидетельствовать о кепитенском возрасте нижнеимтачанского комплекса брахиопод.

В 1972–1977 гг. сотрудниками Якутского государственного университета под руководством В.И. Коростелева проводилась крупномасштабная геологическая съемка в верховьях р. Восточной Хандыги. Согласно приведенным материалам (Коростелев В.И. и др. Отчет о геологосъемочных работах масштаба 1:50000 на площади листов P-54-27-В,Г за 1972–1977 гг. Хандыга, 1977. Фонды «Сахагеоинформ», № 12885), в нижнеимтачанской свите встречены *Strophalosia sibirica* Licharew, *Linoproductus* sp. indet., *Neospirifer* ex gr. *subfasciger* (Licharew), а в верхнеимтачанской – *Strophalosia sibirica* Licharew и *Neospirifer* cf. *invisus* Zavodowsky (определения А.С. Каширцева). Здесь особый интерес вызывают образцы из верхнеимтачанской подсвиты, поскольку из этого интервала у нас нет ни одного достоверного указания на находки брахиопод. Однако в отчете В.И. Коростелева и др. (1977) номера определявшихся А.С. Каширцевым образцов не согласуются с номерами точек наблюдения, поэтому выяснить, откуда происходят верхнеимтачанские брахиоподы, не представляется возможным.

Составители последней среднемасштабной геологической карты рассматриваемой территории [12] указывали на то, что из нижней части верхнеимтачанской подсвиты руч. Даланкичан (верховья р. Дыбы) известны брахиоподы *Cancrinelloides obrutschewi* (Licharew), *Strophalosia chivatsehensis* Zavodowsky (=*Wyndhamia chivatsehensis* (Zavodowsky)) и *Licharewia* cf. *stuckenbergi* (Netschajew). При этом авторы объяснительной записки [12] ссылались на рукописные материалы крупномасштабной геологической съемки (Афанасьев М.Г. и др. Отчет о групповой геологической съемке и геологическом доизучении масштаба 1:50000 на площади листов P-54-39, P-54-40. Хандыга, 1978. Фонды «Сахагеоинформ», № 13107). Однако на самом деле в отчете М.Г. Афанасьева и др. указанный комплекс брахиопод приводится из низов имтачанской свиты, а ее верхняя подсвита этой фауной не охарактеризована. В качестве характерных брахиопод верхнеимтачанской подсвиты А.П. Бабич с коллегами [12] указывали также виды *Strophalosia vollossovitschi* (Fredericks) и *Neospirifer* cf. *invisus* Zavodowsky (определение Б.С. Абрамова). Местонахождение этих брахиопод не обозначено. Здесь необходимо отметить, что брахиоподы, первоначально определявшиеся Б.С. Абрамовым в имтачанской свите как *Neospirifer invisus* Zavodowsky, позднее были отнесены к новому виду *Crassispirifer monumentalis* Abramov et Grigorjeva [12], поэтому мы не исключаем, что к последнему относится и вышеуказанный «неоспирифер».

В итоговой монографии Б.С. Абрамова и А.Д. Григорьевой [13] имтачанская свита охарактеризована брахиоподами, собранными В.А. Ян-жин-шином в низах имтачанской свиты на р. Кюрбелях (правый крупный приток р. Восточ-

ная Хандыга) и монографически изученными авторами той работы: *Strophalosia*? *vollossovitschi* (Fredericks), *Crassispirifer* cf. *monumentalis* Abramov et Grigorjeva, *Crassispirifer crassiglobosus* Abr. et Grig. (nom. nud.), *Bajtugania*? sp., *Marinurnula*? aff. *mantuanensis* (Campbell). У нас нет сомнений в одновозрастности коллекций брахиопод, собранных В.Н. Андриановым в бассейне р. Сеторым и В.А. Ян-жин-шином на р. Кюрбелях, а существенное несовпадение определений таксонов, вероятно, связано с различным уровнем изученности северо-восточной брахиоподовой фауны терминальной перми, существовавшим в семидесятых и восьмидесятых годах прошлого века соответственно.

Исходя из приведенного обзора, брахиоподы верхней части перми в основном характерны для нижней, наиболее мористой части имтачанской свиты, однако приводившийся различными исследователями состав нижнеимтачанского брахиоподового комплекса является сборным, поскольку содержит таксоны, характерные сугубо для дулгалахского или только для хальпирского горизонтов, что потребовало проведения дополнительных исследований, результаты которой приведены ниже.

1. Материал

В 2016 г. Р.В. Кутыгин провел ряд рекогносцировочных маршрутов в бассейне р. Сеторым с поиском наиболее обнаженного и пригодного для послойного поиска фауны разреза имтачанской свиты. В качестве наиболее представительного был выбран разрез по руч. Уступному, правому притоку р. Сеторым (рис. 1), где было обнаружено несколько уровней с двустворками и один с брахиоподами. Брахиоподы (более 30 экземпляров) тогда были собраны в нижней части имтачанской свиты (образцы 16RK70A и 16RK70B). В следующем, 2017 г. были проведены комплексные исследования разреза верхней перми и низов триаса по руч. Уступному межинститутской группой, в которую входили сотрудники ИГАБМ СО РАН (Р.В. Кутыгин, В.И. Макошин и А.Н. Килясов) и СВКНИИ ДВО РАН (А.С. Бяков, И.Л. Ведерников, И.В. Брынько, С.С. Бурнатный и А.Н. Наумов). Послойное литологическое описание разреза (обнажение 17R1) было выполнено Р.В. Кутыгиным, по мнению которого имтачанскую свиту следует делить не на две, а на три подсвиты, в основаниях которых развиты пачки темно-серых до черного алевролитов, хорошо выраженных в разрезе и четко прослеживаемых по площади распространения свиты. В.И. Макошиным и Р.В. Кутыгиным были сделаны повторные сборы брахиопод из установленных в 2016 г. местонахождений, а также обнаружены новые уровни – в основании нижней подсвиты имтачанской свиты и в низах средней. За два полевых сезона в имтачанской свите по руч. Уступному было обнаружено 177 экземпляров брахиопод, определимых до рода или вида.

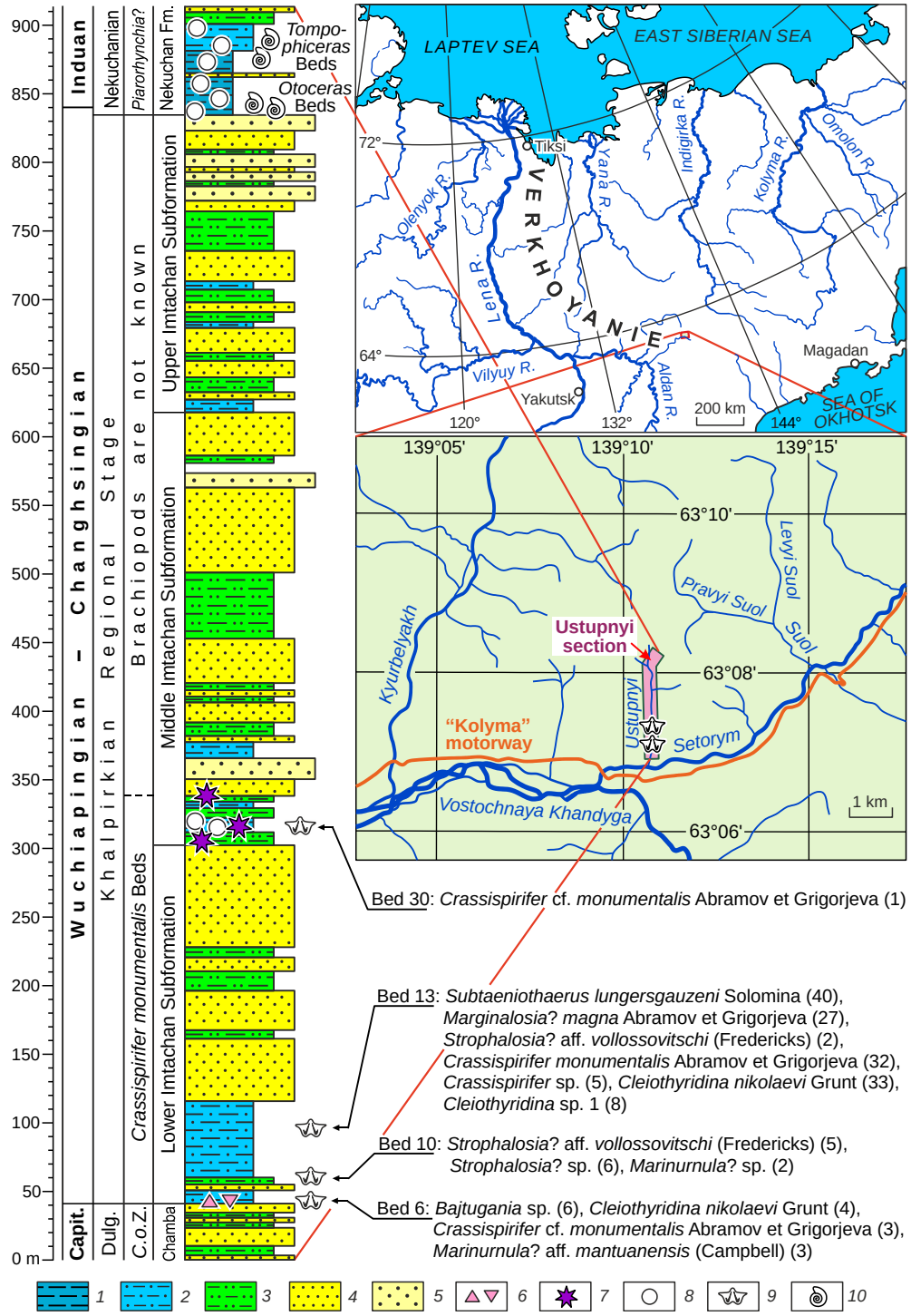

Рис. 1. Разрез имтачанской свиты по руч. Уступному (слева), его местоположение и распределение брахиопод (справа): *1* – аргиллиты, *2* – алевролиты мелкозернистые, *3* – алевролиты крупнозернистые, *4* – песчаники мелкозернистые, *5* – песчаники средне- и крупнозернистые, *6* – диамиктиты, *7* – глендониты, *8* – конкреции, *9* – брахиоподы, *10* – аммоноидеи

Во время сбора брахиопод имтачанской свиты по руч. Уступному мы обратили внимание на крупные раковины с кажущейся тонкой радиальной скульптурой, характерной для вида *Cancrinelloides obrutschewi* (Licharew), что отражено в недавней статье [14]. Однако после лабораторного изучения образцов В.И. Макошин пришел к выводу, что «радиальные струйки» на самом деле являются слегка вытянутыми очень частыми и тонкими основаниями игл. Кроме этого, обсуждаемые брахиоподы отличаются менее выпуклой и вытянутой в ширину формой брюшной створки, вместо полушаровидной у *C. obrutschewi*. Многочисленные тонкие несильно вытянутые основания игл, расположенные в шахматном порядке на брюшной створке, а также иглы на спинной створке характерны для представителей вида *Marginalosia*? *magna* Abramov et Grigorjeva [13], к которому мы отнесли все экземпляры коллекции, предварительно определявшиеся нами как “*Cancrinelloides obrutschewi* (Licharew)”.

2. Результаты и обсуждение

В скалистых бортах руч. Уступного вскрываются чамбинская (верхи), имтачанская и некучанская (без верхней части) свиты.

Верхи чамбинской свиты (видимая мощность 40 м) сложены песчаниками мелко- и среднезернистыми с прослоями разнозернистых алевролитов. В этом интервале разреза палеонтологические остатки не обнаружены.

Контакт чамбинской и имтачанской свиты (в 330–360 м выше устья руч. Уступного) отчетливый и характеризуется сменой горизонтально-слоистых мелкозернистых песчаников алевролитами неяснослоистыми разнозернистыми, содержащими окатанные, реже угловатые обломки кварцитов и других экзотических пород. В базальном слое 6 (40–60 см) имтачанской свиты обоих ботов руч. Уступного встречены редкие стяжения алевролитов и кремнисто-карбонатно-глинистые конкреции с раковинами брахиопод и двустворок. Основные сборы брахиопод из основания имтачанской свиты руч. Уступного были сделаны в правом борту, где были найдены *Bajtugania* sp., *Cleiothyridina nikolaevi* Grunt, *Crassispirifer* cf. *monumentalis* Abramov et Grigorjeva, *Marinurnula*? aff. *mantuanensis* (Campbell) (образец 17R1-6B, коллекция № 202/511 – см. рис. 2). Менее обнаженный левый борт оказался малопригодным для поиска фауны, и здесь в слое 6 обнаружен лишь один обломок макушечной части раковины *Bajtugania* sp. (образец 17R1-6A, коллекция № 202/510).

На уровне 17.6–19 м выше подошвы имтачанской свиты развит хорошо выделяющийся в рельефе слой 10 мощностью 1.4 м, сложенный песчаниками мелко-среднезернистыми биотурбированными с редкими остатками беспозвоночных, которые присутствуют в основном в верхней половине слоя. Здесь, в правом борту, собраны брахиоподы *Strophalosia*? aff. *vollossovitschi* (Fredericks), *Strophalosia*? sp. и *Marinurnula*? sp. (образец 17R1-10B, коллекция № 202/513). Слой 10 в левом борту охарактеризован обломками раковин *Strophalosia*? sp. (образец 17R1-10A, коллекция № 202/512).

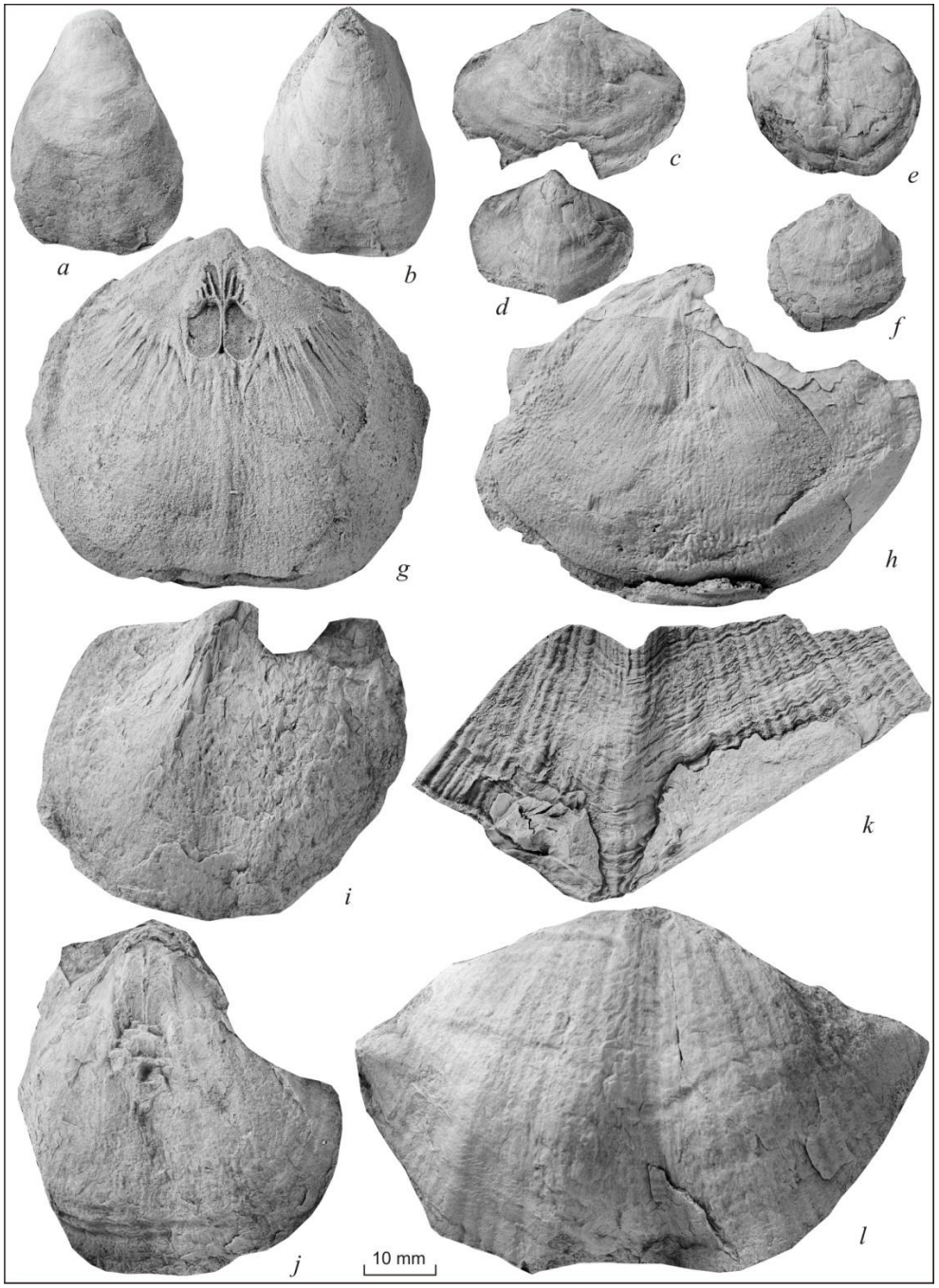

Рис. 2. Брахиоподы нижней части имтачанской свиты руч. Уступного (коллекция ИГАБМ): *a–b* – *Marinurnula*? aff. *mantuanensis* (Campbell), 202/511-13 и 202/511-15; *c–d* – *Cleiothyridina nikolaevi* Grunt, 202/516-53 и 202/516-63; *e–f* – *Cleiothyridina* sp. 1, 202/514-30 и 202/516-81; *g* – *Strophalosia*? aff. *vollossovitschi* (Fredericks), 202/513-1; *h* – *Marginalosia*? *magna* Abramov et Grigorjeva, 202/514-7; *i–j* – *Subtaeniothaerus lungersgauzeni* Solomina, 202/516-3 и 202/516-5; *k–l* – *Crassispirifer monumentalis* Abramov et Grigorjeva, 202/514-17 и 202/515-1; *a–j, l* – брюшные створки, *k* – отпечаток брюшной створки

Наиболее богатая выборка брахиопод встречена в правом борту на уровне 56.7–57.0 м от подошвы имтачанской свиты в маломощном (20–30 см) слое 13, который сложен разнозернистыми глинистыми песчаниками, сильно биотурбированными. По простиранию этого слоя встречаются линзовые скопления раковин беспозвоночных, преимущественно брахиопод (образцы 16RK70B и 17R1-13B, коллекции № 202/517 и 202/516): *Subtaeniothaerus lungersgauzeni* Solomina, *Marginalosia*? *magna* Abramov et Grigorjeva, *Strophalosia*? aff. *vollossovitschi* (Fredericks), *Crassispirifer monumentalis* Abramov et Grigorjeva, *Crassispirifer* sp., *Cleiothyridina nikolaevi* Grunt, *Cleiothyridina* sp. 1. В левом борту ручья в слое 13 собран идентичный комплекс (образцы 16RK70A и 17R1-13A, коллекции № 202/515 и 202/514).

Выше нижнеимтачанская подсвита огрубляется и в ее строении преобладающее значение приобретают песчаники. В этой части разреза обнаружены лишь редкие двустворки и гастроподы, тогда как брахиоподы не встречены. В 261 м выше подошвы имтачанской свиты (1.2 км выше устья руч. Уступного) монотонные песчаники сменяются пачкой (48 м) алевролитов с прослоями песчаников. Эта пачка отчетливо выделяется в разрезе и прослеживается по площади развития имтачанской свиты. Ее интересной чертой является присутствие глендонитов, которые могут свидетельствовать о климатическом похолодании или существенном увеличении глубины моря. В наиболее тонкозернистых породах имеются горизонты небольших (до 15–20 см в длину) карбонатно-глинистых конкреций. Эта пачка является хорошим литологическим маркером и по ее подошве мы предлагаем проводить границу нижней и средней подсвит имтачанской свиты.

На уровне 14 м выше подошвы среднеимтачанской подсвиты в стяжении алевролитов слоя 30 обнаружен обломок сильно выпуклой брюшной створки крупной спириферид, отнесенной нами к *Crassispirifer* cf. *monumentalis* Abramov et Grigorjeva (образец 17R1-30-3k, коллекция № 202/518). Выше этого уровня в разрезе имтачанской свиты собраны богатые комплексы двустворчатых моллюсков, но остатки брахиопод больше не встречены (см. рис. 1).

Из вышеизложенного следует, что в разрезе по руч. Уступному брахиоподы концентрируются в основании имтачанской свиты. Преобладающее значение здесь имеют строфалозииды, представленные родами *Subtaeniothaerus*, *Marginalosia*? и *Strophalosia*? (табл. 1). Немногим малочисленнее здесь атиридиды рода *Cleiothyridina* и спириферид рода *Crassispirifer*. Существенно реже встречаются атиридиды рода *Bajtugania* и теребратулиды предположительно рода *Marinurnula* (табл. 1).

Приведенный комплекс брахиопод характерен для зоны Crassispirifer monumentalis, выделенной в нижней части хальпирской свиты и одноименного горизонта в верховьях р. Барайы Западного Верхоянья [15, 16].

В левобережном бассейне руч. Хальпирки верховьев р. Барайы А.Г. Клецом были определены многочисленные *Crassispirifer monumentalis* Abramov et Grigorjeva, *Marginalosia*? *magna* Abramov et Grigorjeva и *Bajtugania*? sp., по появлению которых обосновывалась нижняя граница хальпирского горизонта [15, 17]. Все эти три формы присутствуют и в основании имтачанской

свиты по руч. Уступному, однако разнообразие брахиоподового комплекса здесь существенно выше (см. табл. 1).

Табл. 1

Распределение брахиопод в имтачанской свите руч. Уступного

Вид	Слой 6	Слой 10	Слой 13	Слой 30	Всего	Семейство
Cleiothyridina nikolaevi Grunt	4		33		37	Athyrididae, 2 рода, 3 вида, 51 экземпляр
Cleiothyridina sp. 1			8		8	
Bajtugania sp.	6				6	
Crassispirifer monumentalis Abramov et Grigorjeva			32		32	Spiriferidae, 1 род, 3 вида, 41 экземпляр
Crassispirifer cf. *monumentalis* Abramov et Grigorjeva	3			1	4	
Crassispirifer sp.			5		5	
Strophalosia? aff. *vollossovitschi* (Fredericks)		5	2		7	Strophalosiidae, 3 рода, 4 вида, 80 экземпляров
Strophalosia? sp.		6			6	
Subtaeniothaerus lungersgauzeni Solomina			40		40	
Marginalosia? *magna* Abramov et Grigorjeva			27		27	
Marinurnula? aff. *mantuanensis* (Campbell)	3				3	Pseudodielasmatidae?, 1 род, 2 вида, 5 экземпляров
Marinurnula? sp.		2			2	
Всего	16	13	147	1	177	4 семейства, 7 родов, 12 видов

По таксономическому составу брахиоподы нижнеимтачанской подсвиты также близки с комплексом из верхней части привольнинской свиты р. Кобюме Южного Верхоянья, ключевыми видами которого являются *Strophalosia*? *vollossovitschi* (Fredericks) и *Crassispirifer monumentalis* Abramov et Grigorjeva [6]. В настоящее время кобюминская коллекция брахиопод изучается В.И. Макошиным и предварительные данные свидетельствуют в пользу того, что привольнинский комплекс моложе нижнеимтачанского и, вероятно, характеризует верхнюю часть хальпирского горизонта, для которой планируется выделение собственного биостратона по брахиоподам.

В основании среднеимтачанской подсвиты встречаются единичные экземпляры спириферид и продуктид плохой сохранности, из которых удалось диагностировать лишь один экземпляр (*Crassispirifer* cf. *monumentalis* Abramov et Grigorjeva), позволяющий относить вмещающие отложения также к зоне Crassispirifer monumentalis хальпирского горизонта.

Непростым остается вопрос о возрасте выявленного в имтачанской свите комплекса брахиопод. Ранее мы предполагали, что зона Crassispirifer monumen-

talis относится к кэпитенскому (верхи) и вучапинскому ярусам [2, 17]. Такой возраст основывался на присутствии в хальпирской свите бассейна руч. Хальпирки двустворок зоны Maitaia belliformis [18], которая, по А.С. Бякову, относится к верхней части кэпитенского яруса [19]. С другой стороны, существует мнение [20], что зона Crassispirifer monumentalis Верхоянья коррелируется с зоной Stepanoviella paracurvata Колымо-Омолонского региона и относится к средней и верхней частям лопинского отдела перми. Рассмотренные брахиоподы имтачанской свиты мы с определенной долей условности относим к вучапинскому ярусу верхней перми, поскольку они моложе комплекса с *Cancrinelloides,* характерного для кэпитена.

Заключение

В нижней части имтачанской свиты руч. Уступного установлен обширный комплекс брахиопод, представленный следующими формами: строфалозииды *Strophalosia*? aff. *vollossovitschi* (Fredericks), *Strophalosia*? sp., *Subtaeniothaerus lungersgauzeni* Solomina и *Marginalosia*? *magna* Abramov et Grigorjeva, спириферид*ы Crassispirifer monumentalis* Abramov et Grigorjeva, *Crassispirifer* cf. *monumentalis* Abramov et Grigorjeva и *Crassispirifer* sp., атиридиды *Cleiothyridina nikolaevi* Grunt, *Cleiothyridina* sp. 1 и *Bajtugania* sp., теребратулиды *Marinurnula*? aff. *mantuanensis* (Campbell) и *Marinurnula*? sp. Эти находки свидетельствуют о том, что в верховьях р. Восточная Хандыга Южного Верхоянья брахиоподы играют важную роль в палеонтологической характеристике наиболее мористой (трансгрессивной) части имтачанской свиты. Выделенный комплекс синхронизируется с брахиоподами из нижней части хальпирской свиты Бараинской СФЗ, по появлению которых в Верхоянье обосновывается граница дулгалахского и хальпирского горизонтов, а также нижняя граница зоны Crassispirifer monumentalis. Следующий трансгрессивный уровень имтачанской свиты, приходящийся на нижнюю часть средней подсвиты, содержит очень редкие, спорадически встречающиеся брахиоподы. Здесь определен лишь, *Crassispirifer* cf. *monumentalis,* позволяющий относить к зоне C. monumentalis, помимо нижней подсвиты, также и нижнюю часть средней. Выше этого уровня в разрезах имтачанской свиты достоверные находки брахиопод отсутствуют. Принимая позднепермский (вучапинский) возраст изученных брахиопод, нижняя граница имтачанской свиты в верховьях р. Восточная Хандыга условно совмещается с границей средней и верхней перми по появлению в разрезе нижнеимтачанского (нижнехальпирского) брахиоподового комплекса.

Благодарности. Выражаем благодарность Д. Бонду, И.В. Брынько, С.С. Бурнатному, А.С. Бякову, И.Л. Ведерникову, В.И. Давыдову, А.Н. Килясову и А.Н. Наумову за участие в совместных полевых исследованиях имтачанской свиты на руч. Уступном, а также М.Ф. Третьякову и руководимому им коллективу Томпонского учебного полигона СВФУ за помощь в организации полевых работ. Исследования выполнены за счет Российского научного фонда и Республики Саха (Якутия) (грант № 22-24-20112, https://rscf.ru/project/22-24-20112/).

Литература

1. Решения Третьего межведомственного регионального стратиграфического совещания по докембрию, палеозою и мезозою Северо-Востока России / ред. Т.Н. Корень, Г.В. Котляр. СПб.: ВСЕГЕИ, 2009. 268 с.
2. *Budnikov I.V., Kutygin R.V., Shi G.R., Sivtchikov V.E., Krivenko O.V.* Permian stratigraphy and paleogeography of Central Siberia (Angaraland) – A review // J. Asian Earth Sci. 2020. V. 196. art. 104365. doi: 10.1016/j.jseaes.2020.104365.
3. *Домохотов С.В.* О татарском ярусе Восточного Верхоянья // Материалы по геологии и полезным ископаемым Северо-Востока СССР. 1960. Вып. 14. С. 27–33.
4. *Кирусенко Т.С.* Государственная геологическая карта СССР масштаба 1:1000000. Лист P-53 (Усть-Мая). Объяснительная записка. М.: Госгеолтехиздат, 1963. 76 с.
5. *Абрамов Б.С.* Стратиграфия верхнепалеозойских отложений Южного Верхоянья. Новосибирск: Наука, 1974. 96 с.
6. *Davydov V.I., Budnikov I.V., Kutygin R.V., Nurgalieva N.G., Biakov A.S., Karasev E.V., Kilyasov A.N., Makoshin V.I.* Possible bipolar global expression of the P3 and P4 glacial events of eastern Australia in the Northern Hemisphere: Marine diamictites and glendonites from the middle to upper Permian in southern Verkhoyanie, Siberia // Geology. 2022. V. 50, No 8. P. 874–879. doi: 10.1130/G50165.1.
7. *Григорьева А.Д.* Надсемейство Strophalosiacea // Позднепалеозойские продуктиды Сибири и Арктики. М.: Наука, 1977. С. 42–53.
8. *Кипарисова Л.Д., Окунева Т.М.* Решение Рабочего совещания по стратиграфии пограничных слоев перми и триаса Восточного Верхоянья // Постановление Межведомственного стратиграфического комитета и его постоянных комиссий. 1973. Вып. 13. С. 25–28.
9. *Андрианов В.Н.* Пермские и некоторые каменноугольные аммоноидеи Северо-Востока Азии. Новосибирск: Наука, 1985. 180 с.
10. *Кутыгин Р.В., Килясов А.Н.* Стратиграфическое положение аммоноидей рода *Paramexicoceras* Popow в пермско-триасовых отложениях Южного Верхоянья, Северо-Восток России // Природные ресурсы Арктики и Субарктики. 2022. Т. 27, № 4. С. 475–485. doi: 10.31242/2618-9712-2022-27-4-1-11.
11. *Kutygin R.V., Kilyasov A.N., Biakov A.S.* The first record of the goniatite genus *Paramexicoceras* in the Changhsingian deposits of the Upper Permian in Northeastern Asia // Dokl. Earth Sci. 2023. V. 509, part 1. P. 144–147. doi: 10.1134/S1028334X22601936.
12. *Бабич А.П., Круковская Л.А., Поркунова А.Л.* Государственная геологическая карта Российской Федерации. Масштаб 1:200000. Серия Юдомская. Лист P-54-VIII (р. Восточная Хандыга). Объяснительная записка. СПб.: ВСЕГЕИ, 2000. 86 с.
13. *Абрамов Б.С., Григорьева А.Д.* Биостратиграфия и брахиоподы перми Верхоянья. М.: Наука, 1988. 204 с.
14. *Biakov A.S., Kutygin R.V.* New find of *Inoceramus*-like bivalves of the genus *Atomodesma* in the Southern Verkhoyansk Region, and invasions of extra-Boreal mollusks into Northeastern Asia during the Permian // Paleontol. J. 2020. V. 54, No 5. P. 459–463. doi: 10.1134/S0031030120050032.
15. *Кутыгин Р.В., Будников И.В., Бяков А.С., Клец А.Г., Гриненко В.С.* Опорный разрез дулгалахского и хальпирского горизонтов (верхнетатарский подъярус) Западного Верхоянья // Тихоокеанская геология. 2003. No 6. С. 82–97.
16. *Klets A.G., Budnikov I.V., Kutygin R.V., Biakov A.S., Grinenko V.S.* The Permian of the Verkhoyansk-Okhotsk region, NE Russia // J. Asian Earth Sci. 2006. V. 26, No 3–4. P. 258–268. doi: 10.1016/j.jseaes.2005.10.001.

17. *Кутыгин Р.В., Будников И.В., Сивчиков В.Е.* Основные черты стратиграфии касимовско-гжельских и пермских отложений Сибирской платформы и ее складчатого обрамления // Природные ресурсы Арктики и Субарктики. 2020. No 4. С. 5–29. doi: 10.31242/2618-9712-2020-25-4-1.

18. *Biakov A.S.* A new Permian bivalve zonal scale of Northeastern Asia. Article 2: Correlation problems // Russ. J. Pac. Geol. 2013. V. 7, No 1. P. 1–15. doi: 10.1134/S181971401301003X.

19. *Biakov A.S.* A new Permian bivalve zonal scale of northeastern Asia. Article 1: Zonal subdivision // Russ. J. Pac. Geol. 2012. V. 6, No 5. P. 349-368. doi: 10.1134/S1819714012050028.

20. *Shen S.-Z.* Global Permian brachiopod biostratigraphy: An overview // Lucas S.G., Shen S.-Z. (Eds.) The Permian Timescale. V. 450. Book Ser.: Geological Society, London, Special Publications. 2018. P. 289–320. doi: 10.1144/SP450.11.

Поступила в редакцию 22.12.2022
Принята к публикации 26.05.2023

Кутыгин Руслан Владимирович – кандидат геолого-минералогических наук, ведущий научный сотрудник

Институт геологии алмаза и благородных металлов СО РАН
пр. Ленина, д. 39, Якутск, 677000, Россия
E-mail: *rkutygin@mail.ru*

Макошин Виктор Игоревич – кандидат геолого-минералогических наук, научный сотрудник

Институт геологии алмаза и благородных металлов СО РАН
пр. Ленина, д. 39, Якутск, 677000, Россия
E-mail: *makoshin_89@mail.ru*

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI

(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2023, vol. 165, no. 2, pp. 308–321

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.308-321

Brachiopods of the Imtachan Formation in the Upper Permian of the Southern Verkhoyanie, Northeast Russia

R.V. Kutygin [*], *V.I. Makoshin* [**]

Diamond and Precious Metal Geology Institute, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Yakutsk, 677000 Russia

E-mail: [*]*rkutygin@mail.ru*, [**]*makoshin_89@mail.ru*
Received December 22, 2022; Accepted May 26, 2023

Abstract

An extensive collection of fossil brachiopods, all assigned to the Wuchiapingian Stage, was recovered from the lower part of the Imtachan Formation along the Ustupnyi Creek (right tributary of the Setorym River) in the Southern Verkhoyanie. It comprises strophalosiids (*Strophalosia*? aff. *vollosso-vitschi* (Fredericks), *Strophalosia*? sp., *Subtaeniothaerus lungersgauzeni* Solomina, *Marginalosia*? *magna* Abramov et Grigorjeva), spiriferids (*Crassispirifer monumentalis* Abramov et Grigorjeva,

Crassispirifer cf. *monumentalis* Abramov et Grigorjeva, *Crassispirifer* sp.), athyridids (*Cleiothyridina nikolaevi* Grunt, *Cleiothyridina* sp. 1, *Bajtugania* sp.), and terebratulids (*Marinurnula*? aff. *mantuanensis* (Campbell), *Marinurnula*? sp.). The identified assemblage is associated with brachiopods from the lower part of the Khalpirki Formation of the Western Verkhoyanie, the appearance of which marks the boundary between the Dulgalakhian and Khalpirkian Regional Stages and also substantiates the lower boundary of the *Crassispirifer monumentalis* Zone. Single finds of *Crassispirifer* cf. *monumentalis* in the lower part of the Middle Imtachan Subformation indicate that the entire lower subformation and the lower part of the middle subformation belong to the *C. monumentalis* Zone. There are no reliable finds of brachiopods at higher levels of the Imtachan Formation.

Keywords: Upper Permian, Wuchiapingian Stage, Khalpirkian Regional Stage, Imtachan Formation, biostratigraphy, brachiopods, Verkhoyanie

Acknowledgements. We are grateful to D. Bond, I.V. Brynko, S.S. Burnatny, A.S. Biakov, I.L. Vedernikov, V.I. Davydov, A.N. Kilyasov, and A.N. Naumov for participating in the joint field studies of the Imtachan Formation on the Ustupnyi Creek, as well as to M.F. Tretyakov and the staff of the Tompo Field Camp of NEFU led by him for their help in organizing the field work. The study was supported by the Russian Science Foundation and the Republic of Sakha (Yakutia) (project no. 22-24-20112, https://rscf.ru/en/project/22-24-20112/).

Figure Captions

Fig. 1. Section of the Imtachan Formation along the Ustupnyi Creek (on the left), its location and distribution of brachiopods (on the right): *1* – mudstones, *2* – fine-grained siltstones, *3* – coarse-grained siltstones, *4* – fine-grained sandstones, *5* – medium- and coarse-grained sandstones, *6* – diamictites, *7* – glendonites, *8* –concretions, *9* – brachiopods, *10* – ammonoids.

Fig. 2. Brachiopods of the lower part of the Imtachan Formation of the Ustupnyi Creek (collection of DPMGI): *a–b – Marinurnula*? aff. *mantuanensis* (Campbell), 202/511-13 and 202/511-15; *c–d – Cleiothyridina nikolaevi* Grunt, 202/516-53 and 202/516-63; *e–f – Cleiothyridina* sp. 1, 202/514-30 and 202/516-81; *g – Strophalosia*? aff. *vollossovitschi* (Fredericks), 202/513-1; *h – Marginalosia*? *magna* Abramov et Grigorjeva, 202/514-7; *i–j – Subtaeniothaerus lungersgauzeni* Solomina, 202/516-3 and 202/516-5; *k–l – Crassispirifer monumentalis* Abramov et Grigorjeva, 202/514-17 and 202/515-1; *a–j, l* – ventral valves, *k* – imprint of a ventral valve.

References

1. Koren T.N., Kotlyar G.V. (Eds.) *Resheniya Tret'ego mezhvedomstvennogo regional'nogo stratigraficheskogo soveshchaniya po dokembriyu, paleozoyu i mezozoyu Severo-Vostoka Rossii* [Resolution of the Third Interdepartmental Regional Stratigraphic Meeting on the Precambrian, Paleozoic, and Mesozoic of Northeastern Russia]. St. Petersburg, VSEGEI, 2009. 268 p. (In Russian)
2. Budnikov I.V., Kutygin R.V., Shi G.R., Sivtchikov V.E., Krivenko O.V. Permian stratigraphy and paleogeography of Central Siberia (Angaraland) – A review. *J. Asian Earth Sci.*, 2020, vol. 196, art. 104365. doi: 10.1016/j.jseaes.2020.104365.
3. Domokhotov S.V. On the Tatarian Stage of the Eastern Verkhoyanie. In: *Materialy po geologii i poleznym iskopaemym Severo-Vostoka SSSR* [Materials on the Geology and Minerals of the Northeastern USSR], 1960, no. 14, pp. 27–33. (In Russian)
4. Kirusenko T.S. *State Geological Map of the USSR*. Scale 1:1000000. Sheet P-53 (Ust-Maya). Explanatory Note. Moscow, Gosgeoltekhizdat, 1963. 76 p. (In Russian)
5. Abramov B.S. *Stratigrafiya verkhnepaleozoiskih otlozhenii Yuzhnogo Verkhoyan'ya* [Stratigraphy of the Upper Paleozoic Sediments in the Southern Verkhoyanie]. Novosibirsk, Nauka, 1974. 96 p. (In Russian)
6. Davydov V.I., Budnikov I.V., Kutygin R.V., Nurgalieva N.G., Biakov A.S., Karasev E.V., Kilyasov A.N., Makoshin V.I. Possible bipolar global expression of the P3 and P4 glacial events of eastern Australia in the Northern Hemisphere: Marine diamictites and glendonites from the middle to upper Permian in southern Verkhoyanie, Siberia. *Geology*, 2022, vol. 50, no. 8, pp. 874–879. doi: 10.1130/G50165.1.

7. Grigor'eva A.D. Superfamily Strophalosiacea. In: *Pozdnepaleozoiskie produktidy Sibiri i Arktiki* [Late Paleozoic Productids of the Siberian and Arctic Regions]. Moscow, Nauka, 1977. pp. 42–53. (In Russian)
8. Kiparisova L.D., Okuneva T.M. Resolution of the Workshop on the Permian-Triassic Boundary Stratigraphy in the Eastern Verkhoyanie. In: *Postanovlenie Mezhvedomstvennogo stratigraficheskogo komiteta i ego postoyannykh komissii* [Statements of the Interdepartmental Stratigraphic Committee and Its Standing Commissions], 1973, no. 13, pp. 25–28. (In Russian)
9. Andrianov V.N. *Permskie i nekotorye kamennougol'nye ammonoidei Severo-Vostoka Azii* [Permian and Some Carboniferous Ammonoids of Northeastern Asia]. Novosibirsk, Nauka, 1985. 180 p. (In Russian)
10. Kutygin R.V., Kilyasov A.N. Stratigraphic position of the ammonoid *Paramexicoceras* Popow in the Permian-Triassic deposits of the Southern Verkhoyanie, Northeast Russia. *Prir. Resur. Arkt. Subarkt.*, 2022, vol. 27, no. 4, pp. 475–485. (In Russian)
11. Kutygin R.V., Kilyasov A.N., Biakov A.S. The first record of the goniatite genus *Paramexicoceras* in the Changhsingian deposits of the Upper Permian in Northeastern Asia. *Dokl. Earth Sci.*, 2023, vol. 509, part 1, pp. 144–147. doi: 10.1134/S1028334X22601936.
12. Babich A.P., Krukovskaya L.A., Porkunova A.L. *State Geological Map of the Russian Federation*. Scale 1:200000. Yudoma Series. Sheet P-54-VIII (Vostochnaya Khandyga River). Explanatory Note. St. Petersburg, VSEGEI, 2000. 86 p. (In Russian)
13. Abramov B.S., Grigor'eva A.D. *Biostratigrafiya i brakhiopody permi Verkhoyan'ya* [Biostratigraphy and Brachiopods of the Permian in the Verkhoyanie]. Moscow, Nauka, 1988. 204 p. (In Russian)
14. Biakov A.S., Kutygin R.V. New find of *Inoceramus*-like bivalves of the genus *Atomodesma* in the Southern Verkhoyansk Region, and invasions of extra-Boreal mollusks into Northeastern Asia during the Permian. *Paleontol. J.*, 2020. vol. 54, no. 5, pp. 459–463. doi: 10.1134/S0031030120050032.
15. Kutygin R.V., Budnikov I.V., Biakov A.S., Klets A.G., Grinenko V.S. Reference section of the Dulgalakhian and Khalpirkian Regional Stages (Upper Tatarian Substage) of the Western Verkhoyanie. *Tikhookean. Geol.*, 2003, no. 6, pp. 82–97. (In Russian)
16. Klets A.G., Budnikov I.V., Kutygin R.V., Biakov A.S., Grinenko V.S. The Permian of the Verkhoyansk-Okhotsk region, NE Russia. *J. Asian Earth Sci.*, 2006, vol. 26, nos. 3–4, pp. 258–268. doi: 10.1016/j.jseaes.2005.10.001.
17. Kutygin R.V., Budnikov I.V., Sivtchikov V.E. The main features of the Kasimovian-Gzhelian and Permian stratigraphy in the Siberian platform and adjacent fold belts. *Prir. Resur. Arkt. Subarkt*, 2020, vol. 25, no. 4, pp. 5–29. doi: 10.31242/2618-9712-2020-25-4-1. (In Russian)
18. Biakov A.S. A new Permian bivalve zonal scale of Northeastern Asia. Article 2: Correlation problems. *Russ. J. Pac. Geol.*, 2013, vol. 7, no. 1, pp. 1–15. doi: 10.1134/S181971401301003X.
19. Biakov A.S. A new Permian bivalve zonal scale of northeastern Asia. Article 1: Zonal subdivision. *Russ. J. Pac. Geol.*, 2012, vol. 6, no. 5, pp. 349–368. doi: 10.1134/S1819714012050028.
20. Shen S.-Z. Global Permian brachiopod biostratigraphy: An overview. In: Lucas S.G., Shen S.-Z. (Eds.) *The Permian Timescale.* Vol. 450. Book Ser.: Geological Society, London, Special Publications, 2018, pp. 289–320. doi: 10.1144/SP450.11.

***Для цитирования*:** *Кутыгин Р.В., Макошин В.И.* Брахиоподы имтачанской свиты верхней перми Южного Верхоянья, Северо-Восток России // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2023. Т. 165, кн. 2. С. 308–321. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.308-321.

***For citation*:** Kutygin R.V., Makoshin V.I. Brachiopods of the Imtachan Formation in the Upper Permian of the Southern Verkhoyanie, Northeast Russia. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2023, vol. 165, no. 2, pp. 308–321. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.308-321. (In Russian)

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ КАЗАНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА.
СЕРИЯ ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

2023, Т. 165, кн. 2
С. 322–339

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 543.429.23+665.7

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.322-339

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ В МИНЕРАЛЬНЫХ МАСЛАХ МЕТОДОМ ЯМР-РЕЛАКСАЦИИ

М.Г. Фазлыйяхматов[1,2], *И.Н. Шаманов*[1], *Б.В. Сахаров*[1,3], *Н.М. Хасанова*[1], *М.А. Варфоломеев*[1], *Г.Г. Самосоров*[4], *М.О. Пастухов*[4]

[1]*Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия*
[2]*Казанский национальный исследовательский технический университет имени А.Н. Туполева – КАИ, г. Казань, 420111, Россия*
[3]*Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», п. Оболенск, г.о. Серпухов, Московская обл., 142279, Россия*
[4]*Центральное экспертно-криминалистическое таможенное управление, г. Москва, 125130, Россия*

Аннотация

Анализ особенностей молекулярно-группового состава минеральных масел позволяет предсказывать эксплуатационные качества будущего смазочного материала и оценивать совместимость масла-пластификатора с каучуками. Методом импульсной низкочастотной ЯМР-релаксации установлен молекулярно-групповой состав 11 образцов минеральных масел и рассчитаны соотношения ароматических и неароматических углеводородов в них. ЯМР-измерения проводились на ЯМР-анализаторе «Хроматэк-Протон 20М» с частотой ^{1}H резонанса 20 МГц. Сущность предложенного метода заключается в регистрации амплитудно-временных зависимостей сигналов спада свободной индукции, определении общей амплитуды сигнала и относительной амплитуды сигнала, отнесенной на единицу массы образца, и вычислении доли ароматических углеводородов в образце. Проведен сравнительный анализ полученных результатов исследований с данными стандартного хроматографического метода. Показана высокая степень корреляции (R^2 = 0.99) результатов.

Ключевые слова: ЯМР-релаксация, ССИ, минеральные масла, относительный водородный индекс, относительная протонная плотность, *RHI*

Введение

Нефтяные масла (или минеральные масла) – это жидкие смеси высококипящих углеводородов с температурой кипения от 300 до 600°C [1, с. 237], получаемые в процессе переработки нефти. По химическому составу нефтяные масла представляют собой в большей части смесь алкилнафтеновых, алкилароматических и изопарафиновых углеводородов с молекулярной массой от 300 до 750 Да, содержащих в составе молекул от 20 до 60 атомов углерода, а также гетероорганических соединений, содержащих кислород, серу и азот [2, 3]. Нефтяные масла получают в результате вакуумной перегонки мазута: легкой

масляной фракции (от 350 до 420°С) и тяжелой масляной фракции (от 420 до 500°С), а также удалением нежелательных компонентов (деасфальтизации) гудрона [4, с. 146]. В результате вакуумной перегонки мазута получают несколько фракций – масляных дистиллятов разной вязкости [5, с. 102]. Очищенный деасфальтизат является базовым остаточным маслом [4, с. 147]. Побочные продукты очистки масел находят самостоятельное применение в качестве масел-пластификаторов в производстве резинотехнических изделий.

Углеводородные базовые жидкости, обычно применяемые в рецептурах моторных масел, промышленных смазочных материалов, пластичных смазок и других продуктов, включают в себя широкий спектр углеводородных молекул, в том числе парафиновых, циклопарафиновых (нафтеновых) и ароматических. В составе базовых масел преобладают насыщенные соединения [6, с. 389–392].

Нефтяные масла и продукты на их основе широко используются в качестве пластификаторов и мягчителей резиновых смесей при производстве шин и маслонаполненных бутадиен-стирольных каучуков. Традиционной технологией производства технологических масел для резиновой промышленности и шин являлось их получение на основе дистиллятных (DAE – distillate aromatic extract) и остаточных (RAE – residual aromatic extract) экстрактов селективной очистки масел [7]. Вследствие значительного содержания полициклических ароматических углеводородов в настоящее время в ЕС и США DAE и RAE заменены на масла TDAE (treatment distillate aromatic extract – очищенные DAE), TRAE (treatment residual aromatic extract – очищенные RAE), MES (mild extract solvate – сольваты слабой очистки), а также тяжелые нафтеновые масла (NAP – naphthenic oil).

Состав как базовых, так и технологических масел играет важную роль. Для базовых масел знание молекулярно-группового состава позволяет предсказывать эксплуатационные качества будущего смазочного материала. По молекулярно-групповому распределению масел-пластификаторов можно определить их ароматичность. Содержание ароматических углеводородов определяет совместимость масла-пластификатора с каучуками многих типов.

Традиционными методами анализа молекулярно-группового состава базовых и технологических масел являются методы, основанные на хроматографическом разделении. ASTM D2549-02(2017) [8] является стандартным методом для выделения насыщенных (парафиновых и нафтеновых) и ароматических групп базового масла. Для технологических масел и наполнителей каучука используется ASTM D2007-11(2016) [9], который дает сведения такого же характера для ароматических и насыщенных углеводородов, что и D2549-02(2017), а также позволяет определять полярные ароматические и гетероциклические группы. В практике таможенного контроля стран ЕАЭС для определения содержания ароматических составных частей в нефтепродуктах с конечной температурой перегонки выше 315°С используется методика, представленная в Приложении А к 27 группе ТН ВЭД ЕАЭС [10]. Следует отметить, что методика, используемая в Приложении А не является техническим стандартом и не внесена в реестр методик измерения. Общими недостатками всех традиционных методов являются использование существенного количества химических реактивов и длительное время выполнения анализа. Кроме того, последова-

тельная элюация компонентов образца различными растворителями из хроматографической колонки требует постоянного визуального контроля лаборантом и может приводить к значительной субъективной погрешности.

В исследовательских работах все чаще применяют инструментальные методы, такие как масс-спектрометрия высокого разрешения [11–13], спектрометрия ЯМР [14–16], высокоэффективная жидкостная хроматография [17–18] и инфракрасная спектроскопия [19].

Методики исследования нефтепродуктов на основе ЯМР-релаксометрии в настоящее время активно разрабатываются, например, метод определения содержания водорода стандартизирован в качестве ASTM D7171-20 [20–21]. Подход, основанный на оценке интенсивности твердофазной компоненты при температуре –28°C в образцах нефтепродуктов, был использован в методике «Определение содержания парафина в нефтепродуктах методом ЯМР» [22].

Целью данной работы является исследование молекулярно-группового состава образцов минеральных масел и определения соотношения ароматических и неароматических составных частей в них методом импульсной низкочастотной ЯМР-релаксации.

В соответствии с определением в Приложении А к 27 группе ТН ВЭД ЕАЭС под ароматическими составными частями понимаются целые молекулы с ароматической частью независимо от числа и длины их боковых цепей, т. е. под этим термином следует понимать сумму ароматических углеводородов, смол и асфальтенов. Так как в работе исследуются образцы масел, не содержащих асфальтены, и термин «ароматические составные части» не имеет широкого употребления, в статье используется термин «ароматические углеводороды», куда включаются и полярные смолы.

1. Материалы и методы

1.1. Материалы. В работе исследованы следующие образцы: масло приборное МВП (ГОСТ 1805-76), масла-пластификаторы «НОРМАН-132» и «НОРМАН-346» (АО «Управляющая компания БХХ “Оргхим”»). «НОРМАН-132» (тип MES) – сольват мягкой очистки, применяется для производства шин сельскохозяйственной и специальной техники, а также зимних шин для грузовых автомобилей. «НОРМАН-346» (тип TDAE) – очищенный дистиллятный ароматический экстракт, используется в производстве протекторной резины шин легковых автомобилей. Основные физико-химические характеристики образцов представлены в табл. 1. В соответствии с Методикой, предусмотренной Приложением А к пояснениям группы 27 ТН ВЭД ЕАЭС, содержание ароматических углеводородов (включая полярные ароматические соединения или смолы) в масле «НОРМАН-132» составляет 60%, а в масле «НОРМАН-346» – 78%. Образцы с содержанием ароматических углеводородов в диапазоне от 0% до 78% были получены путем смешивания предварительно рассчитанного количества масла «НОРМАН» с маслом приборным МВП, не содержащим ароматических углеводородов.

Табл. 1

Физико-химические характеристики образцов масел

Показатель	Метод испытания	НОРМАН-132	НОРМАН-346	Масло МВП
Содержание ароматических углеводородов, %	Методика, предусмотренная приложением А к пояснениям группы 27 ТН ВЭД ЕАЭС	60	78	0
Содержание неароматических углеводородов, %		40	22	100
Плотность при 15°С, г/см^3	ASTM D1298	0.9161	0.9517	0.9032
Вязкость кинематическая при 50°С, мм^2/с	ISO 3104 (для МВП – ГОСТ 33)	99.11	194.2	7.2
Температура начала кипения, °С	ASTM D1160	365	365	–
Температура конца кипения, °С		выше 510	выше 560	–
Температура застывания, не выше °С	ГОСТ 20287	–20*	–6*	–60
Содержание серы, масс. %	ASTM D4294	1.18	2.03	–
Температура вспышки в закрытом тигле, °С	ASTM D93 (для МВП – ГОСТ 6356)	238	236	125

* – для марок с добавкой депрессорной присадки

1.2. Методы исследований. ЯМР-исследования проводились на ЯМР-анализаторе «Хроматэк-Протон 20М» (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия) с частотой ^{1}H резонанса 20 МГц. Емкости с образцами масла предварительно выдерживали в сушильном шкафу при температуре (40±0.2) °С в течение 30 мин. Образцы измерялись в стеклянных пробирках диаметром 10 мм и высотой 180 мм. Масса образцов в пробирке составляла от 450 до 550 мг, высота заполнения не превышала 15 мм, что соответствует области однородности радиочастотного импульса ЯМР-анализатора. Масса образцов определялась с помощью весов Vibra HTR-220CE (Shinko Denshi Co., LTD, Япония) с пределами допускаемой погрешности ±1.0 мг. Пробирки с образцами перед началом измерения предварительно были термостабилизированы внутри датчика при 40°С в течение не менее 10 мин. Параметры измерений сигнала спада свободной индукции (ССИ): время парализации приемника («мертвое время») – 10 мкс, время регистрации – 6000 мкс, частота дискретизации – 1 МГц, количество накоплений – 16, период запуска – 6 с. Параметры измерений огибающей сигнала эхо в серии импульсной последовательности Карра-Парселла-Мейбума-Гилла (КПМГ): количество сигналов эхо – 10000, τ – от 50 до 150 мкс, количество накоплений – 16, период запуска – 10 с. Длительность 90° импульса составляла 2.4 мкс, 180° импульса – 4.8 мкс, полоса пропускания приемника – 100 кГц. Период запуска не менее $5 \cdot T_1$.

Динамическая вязкость образцов определялась на вискозиметре Brookfield DV-II+Pro (Brookfield Engineering Laboratories, Inc., США) при 40°С (рабочая температура для ЯМР-анализатора) в соответствии с ASTM D7042-16 [23].

1.3. Методология. Сущность метода исследований заключается в регистрации амплитудно-временных зависимостей сигналов ССИ, определении

общей амплитуды сигнала, получении относительной амплитуды сигнала, отнесенной на единицу массы образца, и вычислении доли ароматических углеводородов в образце.

Сигнал ССИ из-за влияния неоднородности поля не используется для определения времен релаксации жидких образцов, однако с его помощью можно определить общую или полную амплитуду сигнала в начальный момент времени и относительную протонную плотность, зная массу образца.

Относительная протонная плотность (или относительный водородный индекс, *англ.* Relative Hydrogen Index, *RHI*) – относительное количество атомов водорода в единице массы образца. *RHI* равен отношению массовой атомной концентрации водорода в образце к его концентрации в воде:

$$RHI = \frac{A_0/m_0}{A_w/m_w}, \quad (1)$$

где A_0 – амплитуда сигнала ССИ образца, m_0 – масса образца, A_w – амплитуда сигнала ССИ эталонного образца воды, m_w – масса эталонного образца воды [24].

Для определения *RHI* необходимо сначала произвести измерение образца с известной массой, а затем провести измерение образца дистиллированной воды с известной массой и рассчитать значение по формуле (1). Для того чтобы постоянно не производить измерения калибровочного или эталонного образца дистиллированной воды, в работе был использован другой подход, который заключается в том, что предварительно настраивается коэффициент усиления ЯМР-релаксометра таким образом, чтобы единица получаемого сигнала была пропорциональна единице массы сигнала дистиллированной воды. Это позволяет непосредственно при помощи одного измерения исследуемого образца получить сразу искомое значение *RHI*.

RHI для различных химических веществ имеет разное значение. Обычно для насыщенных углеводородов *RHI* ~ 1.2, для ароматических углеводородов значение варьируется в диапазоне от 0.85 до 1, для смол – от 0.7 до 0.9.

Определение общей амплитуды возможно путем вычисления средней амплитуды по первым нескольким значениям спада ССИ, например, по 20 значениям [25] или по первым 100 мкс сигнала [26]. Альтернативным подходом является измерение сигнала ССИ с последующим поиском сглаживающей функции, экстраполяции найденной функции в область «мертвого времени» и определением значения общей амплитуды в нулевой момент времени [27–29]. Второй подход является наиболее перспективным, так как сигнал ССИ имеет определенный уровень шума, и в некоторых случаях усреднение по начальному участку сигнала может приводить к значительному отклонению от среднего значения, в то время как аппроксимация с помощью сглаживающей функции приводит к более стабильному и близкому к истинному значению результату.

2. Результаты и обсуждение

2.1. Измерение ССИ. Методом низкочастотной импульсной ЯМР-релаксации были проведены исследования 11 образцов масел с известным массовым содержанием ароматических углеводородов. Для каждого образца проводилось не менее 10 измерений. Масла были пронумерованы в порядке воз-

растания массового содержания ароматических соединений от А.1 до А.11. Сигналы ССИ образцов представлены на рис. 1 (полный спад до 6000 мкс и начальный участок от 0 до 500 мкс на дополнительной вставке), где относительная амплитуда (A) – исходная амплитуда, нормированная на массу образца (A_0/m). С учетом предварительной калибровки коэффициента усиления в нулевой момент времени A представляет собой *RHI*.

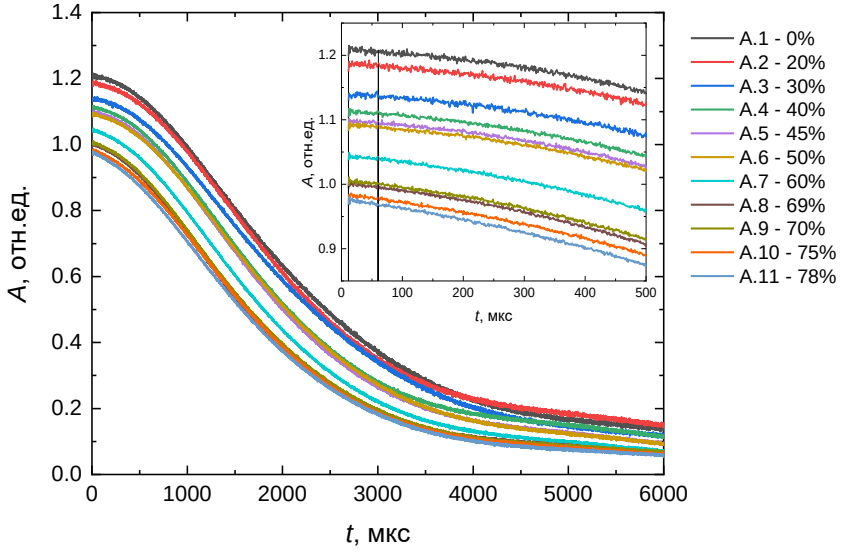

Рис. 1. Сигналы ССИ образцов масел А.1–А.11 с известным содержанием ароматических углеводородов

Из анализа релаксационных кривых ССИ видно, что уменьшение *RHI* согласуется с увеличением содержания ароматических соединений в образце. Твердофазный сигнал на начальном участке отсутствует для всех образцов исследованных масел. Отсутствие твердофазного сигнала представляет возможность оценки общей амплитуды сигнала ССИ по среднему значению начального участка сигнала. В работе было использовано усреднение по первым 50 значениям сигнала (участок выделен на рис. 1 вертикальными линиями).

Общая амплитуда A_0 образцов была определена также при помощи процедуры аппроксимации экспериментальных кривых модельной функцией $A_{ССИ}(t)$ (определяется как экстраполированное значение на $t=0$ сигнала ССИ $A_{ССИ}(t)$). Так как твердофазный сигнал в образцах отсутствует, аппроксимация сигнала ССИ выполнялась функцией Войта:

$$A_{ССИ}(t) = A_{l0}\exp\left(-\frac{t}{T_{2l}}\right)\cdot\exp\left(-\frac{t^2}{T_{2r}^2}\right)+L, \qquad (2)$$

где $A_{ССИ}(t)$ – сигнал ССИ, t – время, A_{l0} – начальная амплитуда жидкофазной компоненты образца, T_{2l} – время спин-спиновой ЯМР-релаксации жидкофазной компоненты, T_{2r} – параметр (время релаксации компоненты), описывающий неоднородность поля, L – нулевая, или базовая, линия.

Общая амплитуда при $t = 0$ была определена как $A_0 = A_{10}$. *RHI* был рассчитан по формуле:

$$RHI = \frac{A_0}{m}, \tag{3}$$

где m – масса образца.

Результаты расчетов *RHI* по средним значениям (*RHI* (среднее)) и по сглаживанию функцией Войта (*RHI* (Войта)), соответствующие образцам с определенным массовым содержанием ароматических углеводородов в соответствии с Приложением А, приведены в табл. 2. На рис. 2 представлена корреляционная зависимость значений общей амплитуды по двум моделям.

Табл. 2

Результаты определения *RHI* по двум моделям

Образец	Состав	$Ar_{Прил.А}$ *, % масс	*RHI* (среднее)	*RHI* (Войта)
А.1	Масло МВП	0	1.225	1.230
А.2	Норман-132 + масло МВП	20	1.168	1.173
А.3	Норман-132 + масло МВП	30	1.124	1.129
А.4	Норман-346 + масло МВП	40	1.103	1.108
А.5	Норман-346 + масло МВП	45	1.084	1.088
А.6	Норман-132 + масло МВП	50	1.078	1.080
А.7	Норман-132	60	1.031	1.037
А.8	Норман-132 + Норман-346	69	0.987	0.993
А.9	Норман-346 + масло МВП	70	0.991	0.997
А.10	Норман-346 + масло МВП	75	0.965	0.974
А.11	Норман-346	78	0.960	0.968

* – содержание ароматических углеводородов в соответствии с Приложением А.

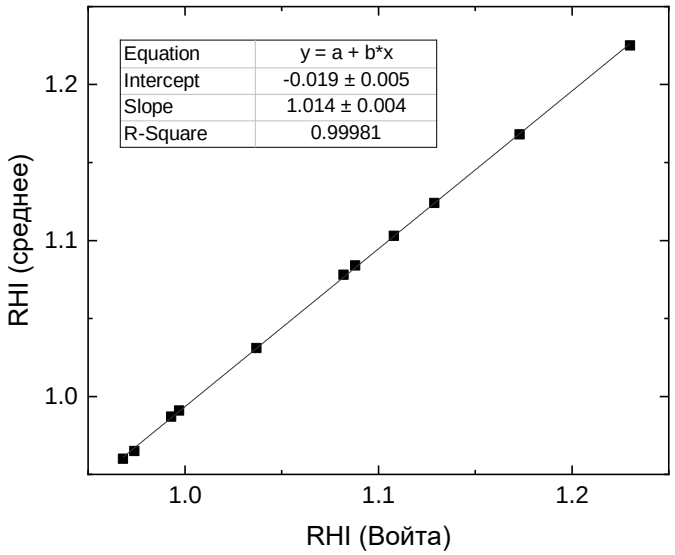

Рис. 2. Корреляционная зависимость значений *RHI* по двум моделям

Обе модели были апробированы и дали близкие результаты в подтверждение правильности значения A_0, что показывает рис. 2.

Следующим шагом необходимо было определить функциональную зависимость количества ароматических соединений ($Ar_{ЯМР}$) в образцах от величины *RHI*. Для этого были проанализированы результаты исследований отдельных групп углеводородов, выделенных из образцов товарной нефти в процессе химического SARA-анализа по ASTM D4124-09(2018) [30]. Образцы нефти были представлены от особо легкой до битуминозной (плотность от 796 до 914.6 кг/м^3) с различным групповым составом (массовая доля асфальтенов – от 0.3% до 4%, смол – от 3% до 18%).

Результаты оценки *RHI* образцов и среднее значение *RHI* ($\overline{RHI}$) для насыщенных групп представлены в табл. 3, для ароматических углеводородов – в табл. 4, для смол – в табл. 5.

Табл. 3

Результаты определения *RHI* для насыщенных групп

Образец	*RHI*	$\overline{RHI}$	T_{2M}, мс
1	1.23	1.25	219.10
2	1.24		331.81
3	1.29		291.76
4	1.25		328.03
5	1.22		417.01
6	1.31		253.70
7	1.24		324.10

Табл. 4

Результаты определения *RHI* для ароматических групп

Образец	*RHI*	$\overline{RHI}$	T_{2M}, мс
1	0.96	0.98	14.37
2	0.97		9.54
3	0.99		12.98
4	0.96		4.89
5	1.02		6.82

Табл. 5

Результаты определения *RHI* для смол

Образец	*RHI*	$\overline{RHI}$	T_{2M}, мс
1	0.80	0.79	0.44
2	0.82		0.26
3	0.88		0.23
4	0.87		0.21
5	0.76		0.21
6	0.70		0.23
7	0.73		0.20

Сигналы КПМГ для всех групп являются многоэкспоненциальными, поэтому для каждого образца было определено среднее взвешенное значение времени поперечной релаксации (T_{2M}) как:

$$T_{2M} = \frac{\sum_{i=1}^{n} A_i \cdot T_{2i}}{\sum_{i=1}^{n} A_i}, \quad (4)$$

где A_i – амплитуда *i*-ой компоненты, T_{2i} – время *i*-ой компоненты.

Из полученных результатов видно, что $\overline{RHI}$ для насыщенных групп составляет 1.25, для ароматических групп – 0.98, для смол – 0.79. Соответственно $\overline{RHI}$ для ароматических соединений, включая смолы – 0.88.

На основе полученных результатов получена формула для расчета суммарной доли ароматических углеводородов ($Ar_{ЯМР}$) в образцах:

$$Ar_{ЯМР} = \frac{RHI - C_{нас}}{C_{аром} - C_{нас}} \cdot 100, \quad (5)$$

где $C_{нас}$ – средняя протонная плотность водорода в насыщенных группах, равная 1.25; $C_{аром}$ – средняя протонная плотность водорода в ароматических группах (включая полярные смолы), равная 0.88.

В табл. 6 представлены результаты определения содержания ароматических углеводородов, полученные методом ЯМР-релаксации, и их сравнение с результатами, полученными по Приложению А.

Табл. 6

Результаты определения содержания ароматических углеводородов

Образец	$Ar_{Прил.А}$, % масс	$Ar_{ЯМР}$, %	Δ, %
А.1	0	5.2	–5.2
А.2	20	20.8	–0.8
А.3	30	32.9	–2.9
А.4	40	38.6	1.4
А.5	45	44.1	0.9
А.6	50	46.3	3.7
А.7	60	58.1	1.9
А.8	69	70.1	–1.1
А.9	70	69.0	1.0
А.10	75	75.3	–0.3
А.11	78	77.0	1.0

Надежная корреляция (R^2 = 0.99) между двумя методами по формуле $Ar_{Прил.А} = 1.01 \cdot Ar_{ЯМР}$ показана на рис. 3. Видно, что при уменьшении содержания ароматических соединений отклонение между результатами увеличивается. Образец А.1 имеет максимальное отклонение Δ = 5.2%. Приборное масло МВП является продуктом глубокой степени очистки и депарафинизации, что приводит к уменьшению *RHI* по сравнению с *RHI* насыщенных соединений в

масле «НОРМАН». Доля МВП в смесевых образцах растет с уменьшением содержания ароматических соединений, что и приводит к увеличению отклонения.

В результате проведенных исследований можно сделать вывод, что метод работает достоверно в диапазоне содержания ароматических углеводородов от 20% до 80% масс. Фактором, ограничивающим возможность более правильной оценки точности, является отсутствие стандартных образцов и более точного опорного метода.

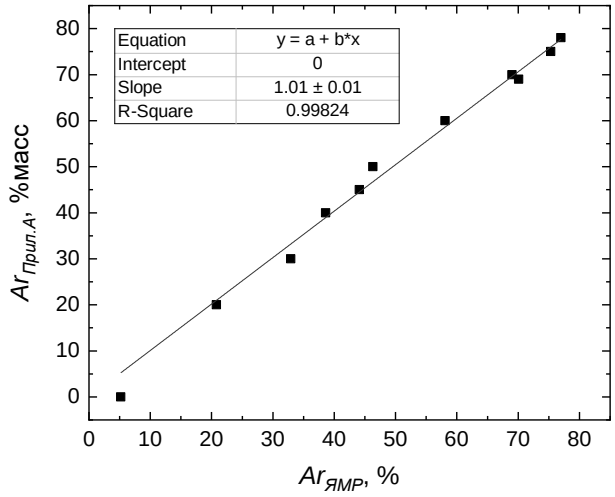

Рис. 3. Корреляционная зависимость содержания ароматических углеводородов по данным ЯМР-релаксации и метода, описанного в Приложении А

2.2. Измерение КПМГ. Были проведены измерения спин-спиновой ЯМР-релаксации этих же образцов масла (табл. 2) с помощью импульсной последовательности КПМГ. Полученные релаксационные спады огибающей эхо-сигналов в импульсной последовательности КПМГ представлены на рис. 4. По данным спадов релаксации КПМГ можно сделать вывод об их удлинении с уменьшением содержания ароматических компонент в масле, что также соответствует увеличению *RHI* образца.

Релаксационные спады КПМГ описывают подвижность атомов в жидком состоянии. Для описания релаксационных спадов огибающих эхо-сигналов КПМГ для всех образцов масел был использован стандартный метод разложения на сумму четырех экспонент:

$$A_{КПМГ}(t) = \sum_{i=1}^{4} A_i \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_{2i}}\right), \qquad (6)$$

где $A_{КПМГ}$ – общая амплитуда всех жидкофазных компонент образца, A_i – амплитуды компонент, которые позволяют оценить содержание жидких компонент с временами релаксации T_{2i} в интервале от 0.1 мс до нескольких секунд.

Так как в релаксационных спадах образцов масел отсутствуют компоненты в твердофазном состоянии, времена релаксации T_2 представлены жидкофазными молекулами в составе смол, ароматических и насыщенных групп.

По формуле (4) были вычислены взвешенные средние значения времени релаксации (T_{2M}), значение которого уменьшается по мере увеличения содержания ароматических углеводородов. Очевидно, что имеется связь подвижности с вязкостью проб образцов масел. Было проведено измерение динамической вязкости восьми образцов масла (А.4–А.11) при 40°С, соответствующей резонансным условиям ЯМР-релаксометра, и различной скорости сдвига от 0.1 до 3.4 $с^{-1}$. Обнаружено, что для всех образцов динамическая вязкость нелинейно уменьшается с увеличением скорости сдвига.

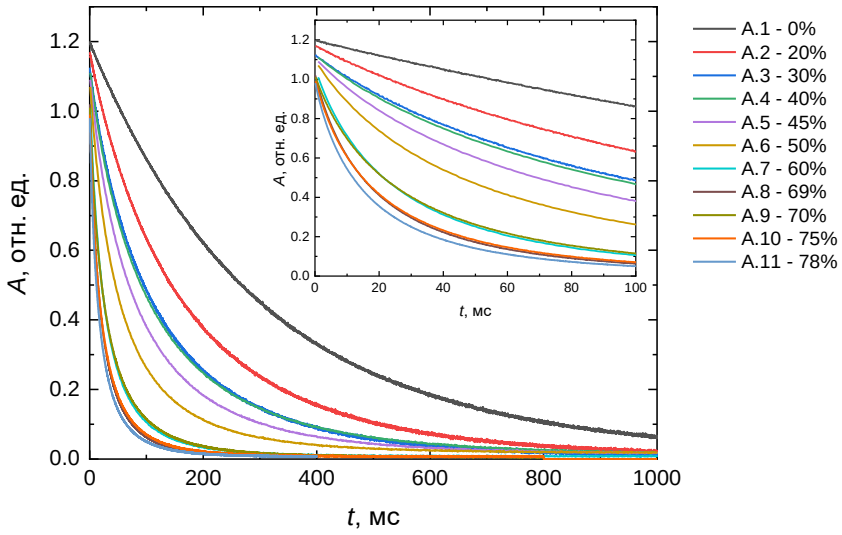

Рис. 4. Сигналы ЯМР-релаксации в серии импульсной последовательности КПМГ образцов масел А.1–А.11 с известным содержанием ароматических углеводородов

Результаты определения динамической вязкости (μ) при скорости сдвига 1.7 $с^{-1}$ и сопоставление с T_{2M} представлены в табл. 7, корреляция представлена на рис. 5.

Табл. 7

Динамическая вязкость и средневзвешенное время релаксации образцов масла

Образец	μ, мПа·с	T_{2M}, мс
А.4	45.8	144.6
А.5	72.7	128.3
А.6	129.3	91.4
А.7	313.4	40.3
А.8	350.0	37.4
А.9	356.7	35.8
А.10	372.5	33.5
А.11	537.2	24.8

Динамическая вязкость образцов при скорости сдвига 1.7 $с^{-1}$ составила от 45.8 до 537.2 мПа·с, средневзвешенное время релаксации – от 144.6 до 24.8 мс. Исследования показали линейную зависимость вязкости от скорости релакса-

ции образцов. При этом увеличение содержания ароматических углеводородов приводит к увеличению вязкости образцов и уменьшению времени релаксации.

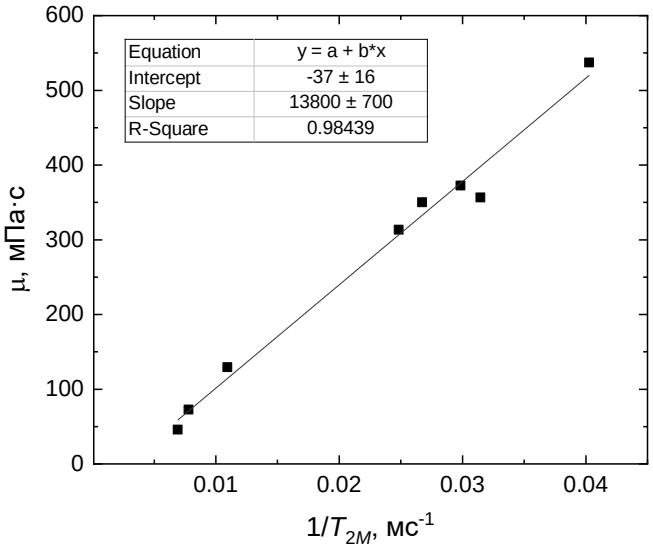

Рис. 5. Корреляционная зависимость динамической вязкости от скорости спин-спиновой ЯМР-релаксации образцов масла А.4–А.11

Заключение

В работе представлены результаты исследований при помощи низкочастотной импульсной ЯМР-релаксометрии минеральных масел, относящихся к категории нефтепродуктов с конечной температурой кипения выше 315°С, не содержащих асфальтены. Полученные результаты показывают, что процедура аппроксимации сигнала ССИ с помощью сглаживающей функции позволяет с высокой точностью оценить общую амплитуду ЯМР-сигнала образца в нулевой момент времени. Проведено сопоставление результатов с методом оценки общей амплитуды по вычислению среднего значения по начальному участку спада (R^2 = 0.99). Однако при увеличении наклона кривой ССИ, например, при не самом удачном подборе резонансных условий, может происходить занижение значения общей амплитуды при оценке по среднему значению. Оценка с помощью аппроксимации кривой не приводит к подобному искажению результата.

На основе результатов исследований отдельных групп углеводородов, выделенных из образцов товарной нефти при SARA-анализе по ASTM D4124-09, получена формула для расчета суммарной доли ароматических углеводородов в образцах.

Из сигнала КМПГ была оценена скорость спин-спиновой релаксации образцов и показана связь с динамической вязкостью (R^2 = 0.98), что также подтверждает правильность предложенного подхода.

Предложенный метод оценки содержания ароматических углеводородов в минеральных маслах методом ЯМР-релаксации имеет высокую скорость прове-

дения измерений и может быть использован в качестве методики оценки содержания ароматических углеводородов в экспертном контроле нефтепродуктов.

Литература

1. *Тупикин Е.И.* Общая нефтехимия. СПб.: Лань, 2021. 320 с. URL: https://e.lanbook.com/book/179621/ (дата обращения: 27.04.2023).
2. *Поконова Ю.В.* Химия высокомолекулярных соединений нефти. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1980. 172 с.
3. Химия нефти / под ред. З.И. Сюняева. Л.: Химия, 1984. 360 с.
4. *Ивашкина Е.Н., Юрьев Е.М., Кривцова Н.И., Белинская Н.С.* Технология переработки нефти и газа. Томск: ТПУ, 2021. 172 с. URL: https://e.lanbook.com/book/246131/ (дата обращения: 27.04.2023).
5. *Уханов А.П., Уханов Д.А., Глущенко А.А., Хохлов А.Л.* Эксплуатационные материалы. СПб.: Лань, 2022. 528 с. URL: https://e.lanbook.com/book/264500/ (дата обращения: 27.04.2023).
6. *Ранд С.Дж.* Анализ нефтепродуктов. Методы, их назначение и применение / пер. с англ. под ред. Е.А. Новикова, Л.Г. Нехамкиной. СПб.: ЦОП «Профессия», 2012. 664 с. URL: https://znanium.com/catalog/product/1859930/ (дата обращения: 28.04.2023).
7. *Заглядова С.В., Антонов С.А., Маслов И.А., Китова М.В., Рудяк К.Б., Лейметер Т.Д.* Технологии производства экологически безопасных масел-пластификаторов // Нефтехимия. 2017. Т. 57, № 6. С. 726–736.
8. ASTM D2549-02(2017). Standard Test Method for Separation of Representative Aromatics and Nonaromatics Fractions of High-Boiling Oils by Elution Chromatography. West Conshohocken, 2023. 6 p. doi: 10.1520/D2549-02R17.
9. ASTM D2007-11(2016). Standard Test Method for Characteristic Groups in Rubber Extender and Processing Oils and Other Petroleum-Derived Oils by the Clay-Gel Absorption Chromatographic Method. West Conshohocken, 2020. 8 p. doi: 10.1520/D2007-11R16.
10. Единая товарная номенклатура ВЭД ЕАЭС и единый таможенный тариф ВЭД ЕАЭС. 2023. URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_397176/ (дата обращения: 28.04.2023).
11. *Manheim J., Zhang Y., Viidanoja J., Kenttämaa H.I.* An automated method for chemical composition analysis of lubricant base oils by using atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry // J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2019. V. 30, No 10. P. 2014–2021. doi: 10.1007/s13361-019-02284-6.
12. *Hourani N., Muller H., Adam F.M., Panda S.K., Witt M., Al-Hajji A.A., Sarathy S.M.* Structural level characterization of base oils using advanced analytical techniques // Energy Fuels. 2015. V. 29, No 5. P. 2962–2970. doi: 10.1021/acs.energyfuels.5b00038.
13. *Lee S., Palacio Lozano D.C., Jones H.E., Shin K., Barrow M.P.* Characterization of mineral and synthetic base oils by gas chromatography-mass spectrometry and Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry // Energy Fuels. 2022. V. 36, No 22. P. 13518–13525. doi: 10.1021/acs.energyfuels.2c02437.
14. *Mäkelä V., Karhunen P., Siren S., Heikkinen S., Kilpeläinen I.* Automating the NMR analysis of base oils: Finding naphthene signals // Fuel. 2013. V. 111. P. 543–554. doi: 10.1016/j.fuel.2013.04.020.

15. *Sharma B.K., Adhvaryu A., Perez J.M., Erhan S.Z.* Effects of hydroprocessing on structure and properties of base oils using NMR // Fuel Process. Technol. 2008. V. 89, No 10. P. 984–991. doi: 10.1016/j.fuproc.2008.04.001.
16. *Sarpal A.S., Kapur G.S., Mukherjee S., Jain S.K.* Characterization by ^{13}C n.m.r. spectroscopy of base oils produced by different processes // Fuel. 1997. V. 76, No 10. P. 931–937. doi: 10.1016/S0016-2361(97)00085-9.
17. *Wu Y.-W., Li B.-N., Liu L.-L., Ouyang J.* Research progress of analysis of mineral oil hydrocarbons using on-line high performance liquid chromatography coupled with gas chromatography // Chin. J. Anal. Chem. 2021. V. 49, No 3. P. 341–349. doi: 10.1016/S1872-2040(21)60084-1.
18. *Palmentier J.-P.F., Britten A.J., Charbonneau G.M., Karasek F.W.* Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in lubricating oil base stocks using high-performance liquid chromatography and gas chromatography–mass spectrometry // J. Chromatogr. A. 1989. V. 469. P. 241–251. doi: 10.1016/S0021-9673(01)96459-3.
19. *Khanmohammadi M., Garmarudi A.B., de la Guardia M.* Characterization of petroleum-based products by infrared spectroscopy and chemometrics // TrAC, Trends Anal. Chem. 2012. V. 35. P. 135–149. doi: 10.1016/j.trac.2011.12.006.
20. ASTM D7171-20. Standard Test Method for Hydrogen Content of Middle Distillate Petroleum Products by Low-Resolution Pulsed Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. West Conshohocken, 2020. 6 p. doi: 10.1520/D7171-20.
21. Standard Method for Hydrogen Content in Fuels. 2023. URL: https://nmr.oxinst.com/assets/uploads/Standard-Method-for-Hydrogen-Content-in-Fuels-ASTM-D7171-05-Updated-23-11-20.pdf/ (дата обращения: 18.05.2023).
22. Определение содержания парафина в нефтепродуктах. 2023. URL: https://www.avroratest.ru/upload/medialibrary/627/6274e0eee05e640fb9358904fabb1e97.pdf/ (дата обращения: 18.05.2023).
23. ASTM D7042-16e3. Standard Test Method for Dynamic Viscosity and Density of Liquids by Stabinger Viscometer (and the Calculation of Kinematic Viscosity). West Conshohocken, 2020. 13 p. doi: 10.1520/D7042-16E03.
24. *Bryan J., Kantzas A., Bellehumeur C.* Oil-viscosity predictions from low-field NMR measurements // SPE Reservoir Eval. Eng. 2005. V. 8, No 1. P. 44–52. doi: 10.2118/89070-PA.
25. *Morgan V.G., Barbosa L.L., Lacerda V., Jr., de Castro E.V.R.* Evaluation of the physicochemical properties of the postsalt crude oil for low-field NMR // Ind. Eng. Chem. Res. 2014. V. 53, No 21. P. 8881–8889. doi: 10.1021/ie500761v.
26. *Barbosa L.L., Montes L.F., Kock F.V.C., Morgan V.G., Souza A., Song Y.-Q., Castro E.R.V.* Relative hydrogen index as a fast method for the simultaneous determination of physicochemical properties of petroleum fractions // Fuel. 2017. V. 210. P. 41–48. doi: 10.1016/j.fuel.2017.08.057.
27. *Volkov V.Y., Sakharov B.V., Khasanova N.M., Nurgaliev D.K.* Analysis of the composition and properties of heavy oils in situ by low field NMR relaxation method // Georesources. 2018. V. 20, No 4. P. 308–323. doi: 10.18599/grs.2018.4.308-323.
28. *Volkov V.Y., Al-Muntaser A.A., Varfolomeev M.A., Khasanova N.M., Sakharov B.V., Suwaid M.A., Djimasbe R., Galeev R.I., Nurgaliev D.K.* Low-field NMR-relaxometry as fast and simple technique for in-situ determination of SARA composition of crude oils // J. Pet. Sci. Eng. 2021. V. 196. art. 107990. doi: 10.1016/j.petrol.2020.107990.
29. *Galeev R.I., Sakharov B.V., Khasanova N.M., Volkov V.Y., Fazlyyyakhmatov M.G., Shamanov I.N., Emelianov D.A., Kozlova E.V., Petrashov O.V., Varfolomeev M.A., Nurgaliev D.K.* Novel low-field NMR method for characterization content and SARA

composition of bitumen in rocks // J. Pet. Sci. Eng. 2022. V. 214. art. 110486. doi: 10.1016/j.petrol.2022.110486.

30. ASTM D4124-09(2018). Standard Test Method for Separation of Asphalt into Four Fractions. West Conshohocken, 2018. 8 p. doi: 10.1520/D4124-09.

Поступила в редакцию 19.06.2023
Принята к публикации 24.07.2023

Фазлыйяхматов Марсель Галимзянович – кандидат технических наук, научный сотрудник НИЛ методов увеличения нефтеотдачи НЦМУ «Рациональное освоение запасов жидких углеводородов планеты» Института геологии и нефтегазовых технологий; доцент кафедры электронных и квантовых систем передачи информации

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия

Казанский национальный исследовательский технический университет имени А.Н. Туполева – КАИ
ул. Карла Маркса, д. 10, г. Казань, 420111, Россия
E-mail: *mfazlyjy@kpfu.ru*

Шаманов Инсаф Накипович – лаборант НИЛ методов увеличения нефтеотдачи НЦМУ «Рациональное освоение запасов жидких углеводородов планеты» Института геологии и нефтегазовых технологий

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *insafsh77@gmail.com*

Сахаров Борис Васильевич – старший научный сотрудник НИЛ методов увеличения нефтеотдачи НЦМУ «Рациональное освоение запасов жидких углеводородов планеты» Института геологии и нефтегазовых технологий; научный сотрудник отдела биологических технологий

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»
Территория «Квартал А», д. 24, п. Оболенск, г.о. Серпухов, Московская обл., 142279, Россия
E-mail: *saharoff2010@yandex.ru*

Хасанова Наиля Мидхатовна – кандидат физико-математических наук, доцент, инженер НИЛ методов увеличения нефтеотдачи НЦМУ «Рациональное освоение запасов жидких углеводородов планеты» Института геологии и нефтегазовых технологий

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *nkhasano@yandex.ru*

Варфоломеев Михаил Алексеевич – кандидат технических наук, доцент, заведующий кафедрой разработки и эксплуатации месторождений трудноизвлекаемых углеводородов Института геологии и нефтегазовых технологий

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *vma.ksu@gmail.com, mikhail.varfolomeev@kpfu.ru*

Самосоров Георгий Германович – кандидат геолого-минералогических наук, начальник Центрального экспертно-криминалистического таможенного управления

Центральное экспертно-криминалистическое таможенное управление
ул. Клары Цеткин, д. 29А, Москва, 125130, Россия
E-mail: *cektu@ca.customs.gov.ru*

Пастухов Максим Олегович – кандидат химических наук, заместитель начальника Центрального экспертно-криминалистического таможенного управления

Центральное экспертно-криминалистическое таможенное управление
ул. Клары Цеткин, д. 29А, Москва, 125130, Россия
E-mail: *cektu@ca.customs.gov.ru, pastukhovmo@ca.customs.gov.ru*

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2023, vol. 165, no. 2, pp. 322–339

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.322-339

Determination of the Aromatics Content in Mineral Oils by LF NMR

M.G. Fazlyyyakhmatov [a,b*], *I.N. Shamanov* [a**], *B.V. Sakharov* [a,c***], *N.M. Khasanova* [a****], *M.A. Varfolomeev* [a*****], *G.G. Samosorov* [d******], *M.O. Pastukhov* [d*******]

[a]*Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia*

[b]*Kazan National Research Technical University named after A.N. Tupolev – KAI, Kazan, 420111 Russia*

[c]*State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk village, Serpukhov district, Moscow region, 142279 Russia*

[d]*Central Forensic Customs Administration, Moscow, 125130 Russia*

*E-mail: *mfazlyjy@kpfu.ru, **insafsh77@gmail.com, ***saharoff2010@yandex.ru, ****nkhasano@yandex.ru, *****mikhail.varfolomeev@kpfu.ru, ******cektu@ca.customs.gov.ru, *******pastukhovMO@ca.customs.gov.ru*

Received June 19, 2023; Accepted July 24, 2023

Abstract

Molecular group composition analysis of mineral oils is helpful to predict the performance of a future lubricant and to assess the compatibility of plasticizer oil with rubbers. The method of pulsed low-frequency NMR relaxation was used to determine the molecular group composition of 11 mineral oil samples, and the ratio of aromatic and non-aromatic hydrocarbons in them was calculated. NMR measurements were performed on a Chromatec-Proton 20M NMR analyzer with a 1H resonance frequency of 20 MHz. The method used consists in recording free induction decay signals, reconstructing the total signal amplitude, estimating the relative signal amplitude per unit mass of the sample, and calculating the proportion of aromatic hydrocarbons in the sample. The results were compared with those obtained by the standard chromatographic method. A high degree of correlation (R^2 = 0.99) was observed between the results.

Keywords: NMR relaxation, FID, mineral oils, relative hydrogen index, relative proton density, *RHI*

Figure Captions

Fig. 1. FID signals of oil samples A.1–A.11 with known aromatics content.

Fig. 2. Correlation dependence of *RHI* values in two models.

Fig. 3. Correlation dependence of aromatics content based on NMR relaxation data and the method described in Appendix A.

Fig. 4. NMR relaxation signals in a series of CPMG pulse sequence of oil samples A.1–A.11 with known aromatics content.

Fig. 5. Correlation dependence of dynamic viscosity on spin-spin NMR relaxation rate of oil samples A.4–A.11.

References

1. Tupikin E.I. *Obshchaya neftekhimiya* [General Petrochemistry]. St. Petersburg, Lan', 2021. 320 p. Available at: https://e.lanbook.com/book/179621/. (In Russian)
2. Pokonova Yu.V. *Khimiya vysokomolekulyarnykh soedinenii nefti* [Chemistry of Macromolecular Oil Compounds]. Leningrad, Izd. Leningr. Univ., 1980. 172 p. (In Russian)
3. Syunyaev Z.I. (Ed.) *Khimiya nefti* [Petroleum Chemistry]. Leningrad, Khimiya, 1984. 360 p. (In Russain)
4. Ivashkina E.N., Yur'ev E.M., Krivtsova N.I., Belinskaya N.S. *Tekhnologiya pererabotki nefti i gaza* [Oil and Gas Processing Technology]. Tomsk, TPU, 2021. 172 p. Available at: https://e.lanbook.com/book/246131/. (In Russian)
5. Ukhanov A.P., Ukhanov D.A., Glushchenko A.A., Khokhlov A.L. *Ekspluatatsionnye materialy* [Operating Materials]. St. Petersburg, Lan', 2022. 528 p. Available at: https://e.lanbook.com/book/264500/. (In Russian)
6. Rand S.J. *Analiz nefteproduktov. Metody, ikh naznachenie i primenenie* [Significance of Tests for Petroleum Products]. Novikov E.A., Nekhamkina L.G. (Eds.). St. Petersburg, TsOP "Professiya", 2012. 664 p. Available at: https://znanium.com/catalog/product/1859930/. (In Russian)
7. Zaglyadova S.V., Antonov S.A., Maslov I.A., Kitova M.V., Rudyak K.B., Leimeter T.D. Technologies for producing of environmentally safe process oils. *Pet. Chem.*, 2017, vol. 57, no. 12. pp. 1105–1114. doi: 10.1134/S0965544117120167.
8. ASTM D2549-02(2017). Standard Test Method for Separation of Representative Aromatics and Nonaromatics Fractions of High-Boiling Oils by Elution Chromatography. West Conshohocken, 2023. 6 p. doi: 10.1520/D2549-02R17.
9. ASTM D2007-11(2016). Standard Test Method for Characteristic Groups in Rubber Extender and Processing Oils and Other Petroleum-Derived Oils by the Clay-Gel Absorption Chromatographic Method. West Conshohocken, 2020. 8 p. doi: 10.1520/D2007-11R16.
10. Unified commodity nomenclature for foreign economic activity of the EAEU and the uniform customs tariff for foreign economic activity of the EAEU. Available at: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_397176/. (In Russian)
11. Manheim J., Zhang Y., Viidanoja J., Kenttämaa H.I. An automated method for chemical composition analysis of lubricant base oils by using atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom*., 2019, vol. 30, no. 10, pp. 2014–2021. doi: 10.1007/s13361-019-02284-6.
12. Hourani N., Muller H., Adam F.M., Panda S.K., Witt M., Al-Hajji A.A., Sarathy S.M. Structural level characterization of base oils using advanced analytical techniques. *Energy Fuels*, 2015, vol. 29, no. 5, pp. 2962–2970. doi: 10.1021/acs.energyfuels.5b00038.
13. Lee S., Palacio Lozano D.C., Jones H.E., Shin K., Barrow M.P. Characterization of mineral and synthetic base oils by gas chromatography–mass spectrometry and Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Energy Fuels*, 2022, vol. 36, no. 22, pp. 13518–13525. doi: 10.1021/acs.energyfuels.2c02437.
14. Mäkelä V., Karhunen P., Siren S., Heikkinen S., Kilpeläinen I. Automating the NMR analysis of base oils: Finding napthene signals. *Fuel*, 2013, vol. 111, pp. 543–554. doi: 10.1016/j.fuel.2013.04.020.
15. Sharma B.K., Adhvaryu A., Perez J.M., Erhan S.Z. Effects of hydroprocessing on structure and properties of base oils using NMR. *Fuel Process. Technol.*, 2008, vol. 89, no. 10, pp. 984–991. doi: 10.1016/j.fuproc.2008.04.001.
16. Sarpal A.S., Kapur G.S., Mukherjee S., Jain S.K. Characterization by ^{13}C n.m.r. spectroscopy of base oils produced by different processes. *Fuel*, 1997, vol. 76, no. 10, pp. 931–937. doi: 10.1016/S0016-2361(97)00085-9.
17. Wu Y.-W., Li B.-N., Liu L.-L., Ouyang J. Research progress of analysis of mineral oil hydrocarbons using on-line high performance liquid chromatography coupled with gas chromatography. *Chin. J. Anal. Chem.*, 2021, vol. 49, no. 3, pp. 341–349. doi: 10.1016/S1872-2040(21)60084-1.

18. Palmentier J.-P.F., Britten A.J., Charbonneau G.M., Karasek F.W. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in lubricating oil base stocks using high-performance liquid chromatography and gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1989, vol. 469, pp. 241–251. doi: 10.1016/S0021-9673(01)96459-3.

19. Khanmohammadi M., Garmarudi A.B., de la Guardia M. Characterization of petroleum-based products by infrared spectroscopy and chemometrics. *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2012, vol. 35, pp. 135–149. doi: 10.1016/j.trac.2011.12.006.

20. ASTM D7171-20. Standard Test Method for Hydrogen Content of Middle Distillate Petroleum Products by Low-Resolution Pulsed Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. West Conshohocken, 2020. 6 p. doi: 10.1520/D7171-20.

21. Standard method for hydrogen content in fuels. Available at: https://nmr.oxinst.com/assets/uploads/Standard-Method-for-Hydrogen-Content-in-Fuels-ASTM-D7171-05-Updated-23-11-20.pdf.

22. Determination of paraffin content in petroleum products. Available at: https://www.avrora-test.ru/upload/medialibrary/627/6274e0eee05e640fb9358904fabb1e97.pdf. (In Russian)

23. ASTM D7042-16e3. Standard Test Method for Dynamic Viscosity and Density of Liquids by Stabinger Viscometer (and the Calculation of Kinematic Viscosity. West Conshohocken, 2020. 13 p. doi: 10.1520/D7042-16E03.

24. Bryan J., Kantzas A., Bellehumeur C. Oil-viscosity predictions from low-field NMR measurements. *SPE Reservoir Eval. Eng.*, 2005, vol. 8, no. 1, pp. 44–52. doi: 10.2118/89070-PA.

25. Morgan V.G., Barbosa L.L., Lacerda V., Jr., de Castro E.V.R. Evaluation of the physicochemical properties of the postsalt crude oil for low-field NMR. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2014, vol. 53, no. 21, pp. 8881–8889. doi: 10.1021/ie500761v.

26. Barbosa L.L., Montes L.F., Kock F.V.C., Morgan V.G., Souza A., Song Y.-Q., Castro E.R.V. Relative hydrogen index as a fast method for the simultaneous determination of physicochemical properties of petroleum fractions. *Fuel*, 2017, vol. 210, pp. 41-48. doi: 10.1016/j.fuel.2017.08.057.

27. Volkov V.Y., Sakharov B.V., Khasanova N.M., Nurgaliev D.K. Analysis of the composition and properties of heavy oils in situ by low field NMR relaxation method. *Georesourses*, 2018, vol. 20, no. 4, pp. 308–323. doi: 10.18599/grs.2018.4.308-323.

28. Volkov V.Y., Al-Muntaser A.A., Varfolomeev M.A., Khasanova N.M., Sakharov B.V., Suwaid M.A., Djimasbe R., Galeev R.I., Nurgaliev D.K. Low-field NMR-relaxometry as fast and simple technique for in-situ determination of SARA-composition of crude oils. *J. Pet. Sci. Eng.*, 2021, vol. 196, art. 107990. doi: 10.1016/j.petrol.2020.107990.

29. Galeev R.I., Sakharov B.V., Khasanova N.M., Volkov V.Y., Fazlyyyakhmatov M.G., Shamanov I.N., Emelianov D.A., Kozlova E.V., Petrashov O.V., Varfolomeev M.A., Nurgaliev D.K. Novel low-field NMR method for characterization content and SARA composition of bitumen in rocks. *J. Pet. Sci. Eng.*, 2022, vol. 214, art. 110486. doi: 10.1016/j.petrol.2022.110486.

30. ASTM D4124-09(2018). Standard Test Method for Separation of Asphalt into Four Fractions. West Conshohocken, 2018. 8 p. doi: 10.1520/D4124-09.

***Для цитирования*:** *Фазлыйяхматов М.Г., Шаманов И.Н., Сахаров Б.В., Хасанова Н.М., Варфоломеев М.А., Самосоров Г.Г., Пастухов М.О.* Определение содержания ароматических углеводородов в минеральных маслах методом ЯМР-релаксации // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2023. Т. 165, кн. 2. С. 322–339. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.322-339.

***For citation*:** Fazlyyyakhmatov M.G., Shamanov I.N., Sakharov B.V., Khasanova N.M., Varfolomeev M.A., Samosorov G.G., Pastukhov M.O. Determination of the aromatics content in mineral oils by LF NMR. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2023, vol. 165, no. 2, pp. 322–339. doi: 10.26907/2542-064X.2023.2.322-339. (In Russian)