

О ВОЗМОЖНОСТЯХ ПРИМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЫ ПРИ ЭКОЛОГИЧЕСКОМ НОРМИРОВАНИИ И ОЦЕНКЕ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ

Е.И. Ковалева, М.А. Пукальчик, А.С. Яковлев

МГУ им. М.В. Ломоносова

Рассмотрена возможность использования активности каталазы как маркера направленности и интенсивности биологических процессов в почвах в условиях нефтезагрязнения. Показано, что зависимость активности каталазы от концентрации нефтепродуктов в почвах носит сопряженный характер, свидетельствующий о хорошей информативности данного показателя и возможности его использования для оценки нефтезагрязненных почв и экологического нормирования. Выявлено достоверное изменение активности каталазы ($p < 0,05$) в подзолистых почвах при уровне загрязнения нефтепродуктами в 10 г/кг; в торфянисто-подзолистых иллювиально-гумусовых – 20 г/кг; различия в установленных значения обусловлены сорбционными свойствами почв. При установлении допустимого содержания нефтепродуктов применена нелинейная модель регрессии, описываемая логистической кривой.

Ключевые слова: подзолистые почвы, нефть, нефтезагрязнение, оценка, экологическое нормирование, активность каталазы

About the Use of Enzymatic Activity in Environmental Regulation in the Evaluation of the Oil-Contaminated Soils

E.I. Kovaleva, M.A. Pukalchik, A.S. Yakovlev

Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

There was considered the possibility of use the catalase activity as marker pattern and intensity of biological processes in soils in terms of oil pollution. There was showed that dependence of catalase activity on concentration of oil products is dual in nature, testifying the good information content of this indicator and its potential use in evaluating og oil-contaminated soils and environmental regulation. There was revealed a significant change in the activity of catalase ($p < 0.05$) in spodozols with oil contamination level of 10 g/kg, in peat-spodozols humus-illuvial – 20 g/kg, the differences in the set values due to sorption properties of soils. When establishing the permissible content of oil products in spodozols applied non-linear regression model described by a logistic curve.

Keywords: podzolic soils, oil, oil pollution, estimation, environmental regulation, activity of catalase

DOI: 10.18412/1816-0395-2016-11-26-31

В современных условиях рациональное использование природных ресурсов и защита окружающей среды приобретают особое значение. Человек рассматривает окружающую среду как источник ресурсов. Хозяйственная деятельность приобретает такие масштабы, что нарушаются основные принципы естественного функционирования биосферы. Нарушения равновесия в экосистемах вызывают необратимые изменения, которые при бесконтрольных антропогенных нагрузках в конеч-

ном итоге могут привести к точке невозврата в естественное состояние.

Технологии добычи сырья не обходятся без аварийных ситуаций и сопровождаются загрязнением окружающей среды, наиболее распространённым из которых является нефтяное загрязнение. Поступление нефти и продуктов ее трансформации в почву приводит к изменению химического состава, биологических свойств, функций и в целом к нарушению экологического равновесия в почвенной экосистеме. Поэтому необходи-

мо установление научно обоснованных норм воздействия на почвы и оценка уровня загрязнения почв.

Методы биотестирования получили широкое распространение при оценке качества природных сред. В практике отечественного нормирования предложены десятки методов биотестирования почв, большинство из которых основано на получении водной вытяжки и применении гидробионтов в качестве тест-организмов [1]. Опыт работы показывает, что биотестирование водных вытя-

жек из нефтезагрязненных почв не всегда отражает их реальную токсичность [2]. Актуальной задачей остается выбор биологических показателей, чувствительных к определенному виду загрязнителя, в данном случае к нефтезагрязнению, отражающих их ответную реакцию на разные дозы загрязняющего вещества [3, 4].

Цель работы — изучение активности фермента каталазы в почвах подзолистого ряда с разным уровнем нефтяного загрязнения для выявления возможности использования его при оценке уровня нефтезагрязненности почв и экологическом нормировании.

Выбор ферментативной активности как биодиагностического показателя для оценки нефтезагрязненных почв основывался на том, что она может выступать маркером, отражающим направленность и интенсивность биологических процессов — синтеза и разложения органического вещества, мобилизации элементов питания растений, специфичности действия в отношении катализа определенных химических реакций [5, 6].

Разложение нефтяных углеводородов в почве происходит при обязательном участии оксиредуктаз [7], одним из представителей которого является каталаза, выделяемая микроорганизмами в окружающую среду. Она обладает высокой устойчивостью, может накапливаться и длительное время сохраняться в почве, а также выступать индикатором способности бактериального комплекса почв к выживанию в условиях нефтяного загрязнения. Так, Гоголевой О.А. [4] экспериментально установлена прямая зависимость между активностью каталазы углеводородокисляющих бактерий и концентрацией нефти или нефтепродуктов (НП). Также подтверждено, что потребление углеводородов сопровождается снижением активности каталазы и увеличением численности штамма-деструктора.

В работах Тазетдиновой Д.И. и др. [8] показано, что в почвах с хроническим и свежим загрязнением нефтепродуктами и тяжелыми металлами активность каталазы была в 6,5 раз ниже контроля. Величина активности фермента в почвах с 2-месячным и 2-летним сроками загрязнения также были ниже контроля в 2,5 и 6,5 раз соответственно, что позволило авторам данных исследований сделать вывод о возможности использования ферментативной активности как меры антропогенного воздействия на почвы с синергетическим типом загрязнения НП и тяжелыми металлами.

В работе по исследованию динамики эколого-биологических характеристик дерново-подзолистых почв в условиях длительного воздействия нефтяного загрязнения [9] показано, что ферментативная активность почв является индикатором уровня загрязненности; было установлено, что внесение нефти в дерново-подзолистую среднесуглинистую почву в концентрации до 20 % приводит к повышению каталазной активности.

Таким образом, имеющиеся разрозненные сведения о снижении активности каталазы в разных типах почв требуют уточнения и установления возможности применения данного метода биодиагностики в экологическом нормировании и оценке нефтезагрязненных почв.

Объекты и методы

Объектами исследования послужили почвы подзолистого типа в северной части острова Сахалин, приуроченные к плоским песчаным морским террасами, склонам многочисленных водотоков. Условия формирования почв характеризуются преобладанием осадков над испарением, что определяет промывной водный режим в элювиальных позициях и развитие застойного водного режима в локальных депрессиях [10].

Особенности факторов почвообразования определяют кислый элювиальный тип поч-

вообразования с преобладанием различных типов подзолистых почв на возвышенных участках и склонах. В локальных западинах, депрессиях, пониженных участках пойм рек реализуется застойный тип водного режима профиля с глеевым типом почвообразования и органогенным направлением почвообразования.

В экспериментах рассматривали образцы (верхний 0 — 10 см слой) фоновых почв в качестве контрольного варианта (вариант 1) и почв, загрязненных разными концентрациями сырой нефти (варианты 2 — 6) (табл. 1).

В почвах определяли содержание органического углерода бихроматным методом, общего азота — титриметрическим методом, кислотность почвенной вытяжки (рН Н₂О) — потенциометрически, гранулометрический состав — ситовым и ареометрическими методами. Суммарное содержание НП в почвах выполнено ИК-спектрометрическим методом на анализаторе КН-2м (Россия). Потери при прокаливании определены по ГОСТ 11306-2013. Активность каталазы определяли газометрическим методом по Галстяну [11]. Измерение активности каталазы для каждого образца почвы проводилось в трех повторностях.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью пакета программ Statistica 10. Значимость и достоверность различий оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа и попарного сравнения средних величин с использованием критерия Фишера (Fisher LSD test). Статистическая зависимость ϕ величины активности каталазы от уровня содержания НП (x) описывали, используя лог-логистическую модель регрессии вида $\phi(x) = 1 - \exp[-\exp(\beta X)]$. Расчеты проводили пакетами программ XLSTAT-Ecology (AddinSoft).

Результаты и обсуждение

Подзолистые почвы сформированы в условиях свобод-

Таблица 1. Содержание НП в вариантах образцов почв
Table 1. Content of OP in soil samples

Наименование почвы (классификация 1977 г.)	Вариант	Среднее содержание НП, мг/кг	Стандартное отклонение, мг/кг
Подзолистая иллювиально-гумусовая супесчаная	1	5139	356
	2	10155	935
	3	16596	675
	4	21320	1511
	5	30435	1092
	6	40501	1392
Подзолистая иллювиально-железистая песчаная	1	3140	62
	2	9815	59
	3	19034	501
	4	40320	793
	5	54435	845
	6	64166	926
Торфянисто-подзолистая грунтово-оглеенная иллювиально-гумусовая	1	4088	387
	2	7526	281
	3	12557	887
	4	16943	639
	5	22786	1408
	6	27235	1787
Перегноино-подзолистая поверхностно оглеенная	1	716	174
	2	5717	297
	3	9603	600
	4	30178	1533
	5	164936	684
	6	50883	593

ного внутреннего дренажа, обусловленного песчаным гранулометрическим составом почвообразующих пород и положением в рельефе. Мощность органогенного горизонта, под которым залегает подзолистый горизонт, составляет от 1 до 3 см. Реакция среды — кислая, pH варьирует от 4,2 до 4,3. Потери при прокаливании в органогенном горизонте составляют 65 — 80 %, содержание органического углерода в подзолистом горизонте — 0,001 %.

Торфяной горизонт торфянисто-подзолистой грунтово-оглеенной иллювиально-гумусовой почвы характеризуется кислой реакцией среды (pH — 5,2), потеря при прокаливании составляет 80 %.

Содержание органического углерода в органоминеральном горизонте перегноино-подзолистой поверхностно-оглеенной почвы составляет 0,64 %, pH — 5,6.

Экологическое нормирование почв заключается в установлении нормативов качества

почв, обеспечивающих их устойчивое функционирование. Верхней границей такого норматива может выступать допустимое содержание загрязняющего вещества, в данном случае НП в почве, при котором почва сохраняет устойчивое функционирование, выполняет экологические функции [6, 12]. Более высокие концентрации НП приводят к изменению функционирования почвы.

Установление нормативной величины, при которой происходит изменение функционирования изучаемых почв, проводили по биологическому критерию — изменению ферментативной активности в ряду: почвы фоновой территории; фоновые почвы, загрязненные разными дозами сырой нефти.

Статистически обработанные результаты измерения продемонстрировали достоверное изменение активности каталазы ($p < 0,05$) в зависимости от внесенной дозы нефти (рис. 1). Так, в подзолистых

иллювиально-гумусовых супесчаных, подзолистых иллювиально-железистых песчаных и перегноино-подзолистых поверхностно оглеенных почвах достоверное изменение активности каталазы происходило при уровне загрязнения НП в 10 г/кг; в торфянисто-подзолистых грунтово-оглеенных иллювиально-гумусовых — 20 г/кг. Различия значений допустимого содержания НП, установленного по изменению активности каталазы в изученных почвах, связаны с неодинаковой их сорбционной способностью. Неодинаковая сорбция НП почвами, обусловленная свойствами почв, вероятно, влияла на функционирование микроорганизмов: концентрация НП равная 10 г/кг в почве с низкой сорбционной способностью вызывала изменение в функционировании микроорганизмов, что фиксировалось в достоверном изменении активности каталазы. Эти же концентрации НП в торфяном горизонте торфянисто-подзолистой почвы не приводили к подавлению жизнедеятельности биоты и изменению активности каталазы.

Таким образом, изменение показателя "активность каталазы" может служить индикатором при оценке нефтезагрязненных почв.

Установление допустимого содержания загрязняющего вещества в почвах, т.е. нормативного значения, при превышении которого происходят изменения функционирования почвы, возможно путем нахождения особой точки (точки перегиба) на кривой "концентрация-эффект", построенной на основе данных о влиянии загрязняющего вещества на оцениваемый параметр биологического организма, т.е. по биологическому отклику на воздействие. Для этого в литературе предлагаются различные способы нахождения точек перегиба на аппроксимирующих кривых "доза-эффект" [12 — 15]. Для нахождения особой

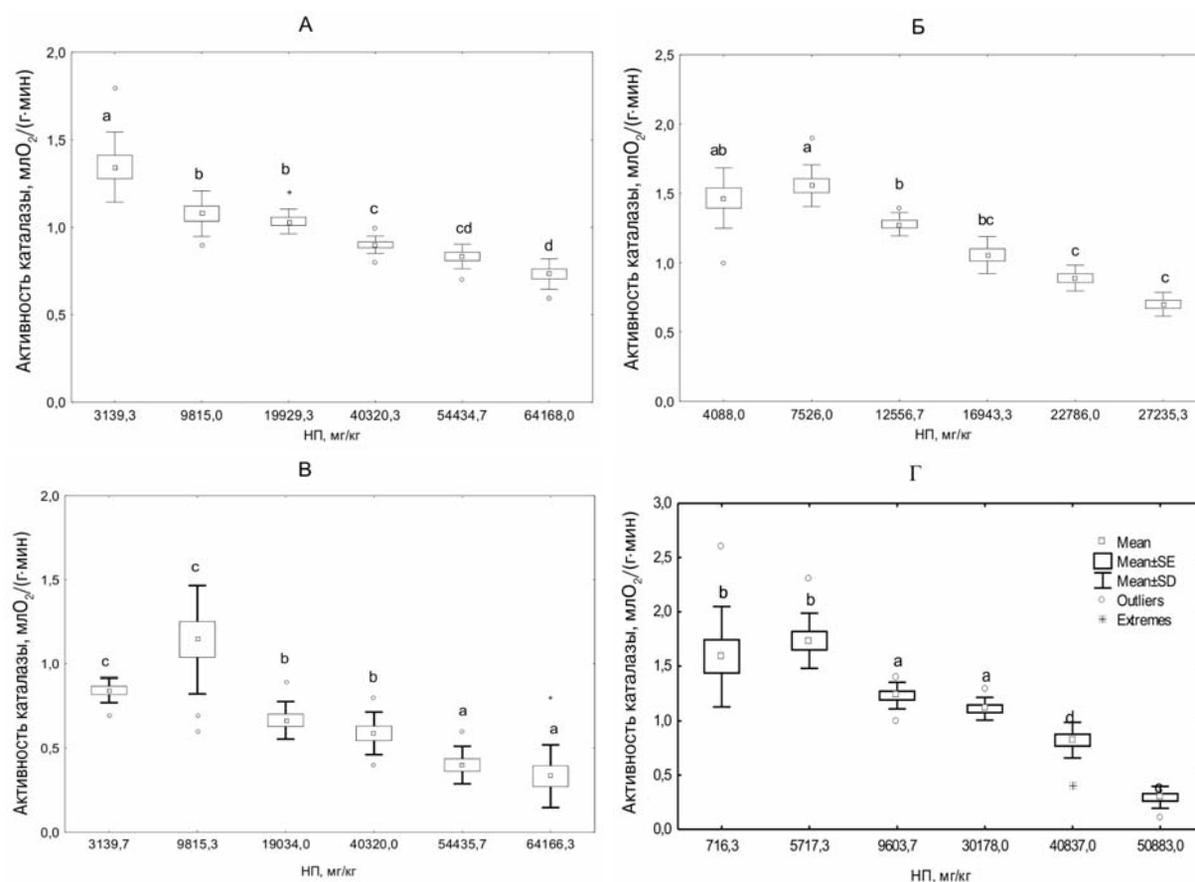


Рис. 1. Активность каталазы, мл O₂/(г-мин), при разной концентрации НП в образцах почв (величины с разными буквами отличаются достоверно (LSD test, P<0,05)):

A – подзолистая иллювиально-гумусовая супесчаная; Б – подзолистая иллювиально-железистая песчаная; В – торфянисто-подзолистая грунтово-оглеенная иллювиально-гумусовая; Г – перегнойно-подзолистая поверхностно оглеенная

Fig. 1. Catalase activity, mgO₂ / (g-min) at different concentration of OP in soil samples (values with different letters differ significantly (LSD test, P<0.05)):

A – spodosols humus-illuvial loamy sand; B – spodosols illuvial ferruginous loamy sand; C – peat-spodosols surface-gleyed illuvial-humus; D – humic-spodosols surface-gleyed

точки (точки перегиба) по изменению активности каталазы, соответствующей резкому изменению скорости функционирования почв при внесении разных доз нефти, использовали программу XLSTAT-Ecology. Расчеты допустимого содержания НП в почве, при котором почва сохраняет устойчивость и сохраняет экологические функции по изменению активности каталазы, выполняли с помощью нелинейной модели регрессии, описываемой логистической кривой и аппроксимирующей зависимость "доза-эффект" (рис. 2).

Работами Виноградова Б.В. и др. [16] по оценке деградации экосистем по ботаническим, зоологическим и почвенным показателям было показано, что изменение функционирования экосистемы на 30 % соответству-

ет уровню риска наступления ее деградации. Вслед за авторами за пороговое значение изменения активности каталазы в почвах при нефтезагрязнении, равном верхней границе допустимого содержания НП, при котором почва сохраняет устойчивость и выполняет экологические функции, мы условно принимаем ЕС₃₀. Используя уравнение, описывающее логистическую кривую, для каждого почвенного ряда были рассчитаны вероятные значения активности каталазы как биологического отклика на разные концентрации НП в почвах, результаты которых приводятся в табл. 2.

При оценке эффективных уровней воздействия нефтепродуктов на активность каталазы использовали нижнюю границу доверительного интервала как

наиболее жесткой величины. Полученные данные показали, что в подзолистой иллювиально-гумусовой супесчаной почве изменения активности каталазы на 30 % происходят при содержании НП, равном 10 г/кг почвы; в подзолистой иллювиально-железистой песчаной — 12 г/кг; в торфянисто-подзолистой грунтово-оглеенной иллювиально-гумусовой почве изменение активности каталазы не происходило при ЕС₃₀; изменения происходили только при ЕС₄₀, что соответствует концентрации НП 10 г/кг, и ЕС₃₀ — 21 г/кг, что связано с высокой сорбционной способностью почвы, представленной торфом. Перегнойно-подзолистая поверхностно оглеенная почва характеризовалась изменением активности каталазы на 30 % при концентрации НП 7,8 г/кг; снижение порого-

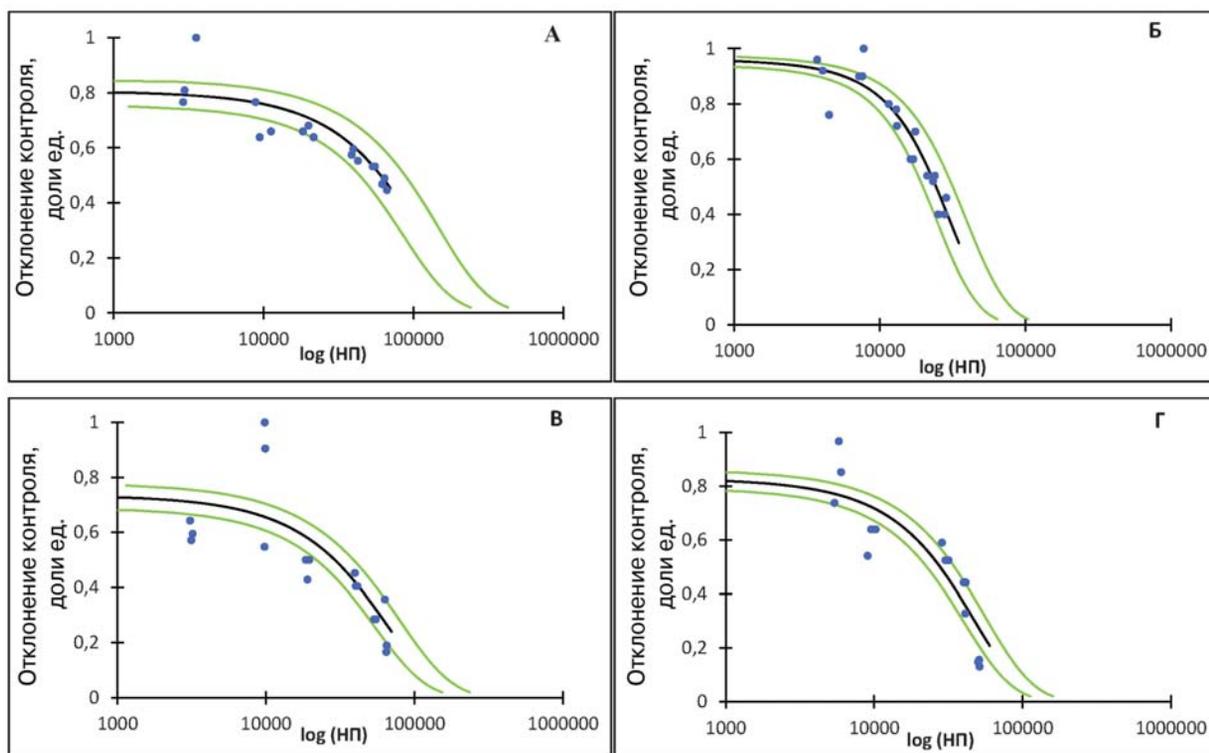


Рис. 2. Зависимость активности каталазы (отклонение от контроля, доли ед.) от концентрации НП в образцах почв, полученная с использованием log-log модели (обозначения см. рис. 1)

Fig. 2. Dependence of catalase activity (deviation from the controls, of units) on concentration of OP in soil samples, obtained using a logarithmic model (see symbols fig. 1)

вого значения концентрации НП объясняется низким содержанием органического углерода (0,64 %).

Сравнение значений первых достоверных изменений активности каталазы в нефтезагрязненных почвах и рассчитанных эффективных уровней воздействия НП показывает, что предельный уровень их содержания, при котором происходят изменения биотического показателя, зависит от свойств почвы, а именно от ее сорбционной способности. Подтверждается

правильность предположения о том, что первое достоверное изменение биологического отклика происходит на уровне 30 % для почв легкого гранулометрического состава и является границей дискретного состояния изученных почв в условиях нефтезагрязнения, при которой почва сохраняет устойчивость и выполняет экологические функции.

Таким образом, по результатам исследований установлено, что активность каталазы является чувствительным к

содержанию НП и может применяться при экологическом нормировании и оценке нефтезагрязненных почв подзолистого ряда. Активность каталазы имеет выраженный тренд снижения при увеличении концентрации НП в почвах, что свидетельствует о хорошей информативности данного показателя, возможности его использования для оценки нефтезагрязненных почв и экологического нормирования. Показатель "активность каталазы" может служить индикатором (маркером) при оценке нефтезагрязненных почв.

С использованием активности каталазы проведено экологическое нормирование нефтезагрязнения в почвах подзолистого типа. Допустимое содержание НП, при котором почва сохраняет устойчивое состояние и выполняет экологические функции, для подзолистых почв составляет 10 г/кг; перегнойно-подзолистых — 8 г/кг и торфянисто-подзолистых — 20 г/кг.

Таблица 2. Эффективные уровни EC_{10} – EC_{50} воздействия НП на активность каталазы

Table 2. Effective levels EC_{10} – EC_{50} of OP impacts on catalase activity

Наименование почвы	Уровни при концентрации НП, мг/кг				
	EC_{10}	EC_{20}	EC_{30}	EC_{40}	EC_{50}
Подзолистая иллювиально-гумусовая супесчаная	0	0	10477,2	27237,2	43585,6
Подзолистая иллювиально-железистая песчаная	3704,0	8800,8	12661,5	16204,6	19782,5
Торфянисто-подзолистая грунтово-оглеенная иллювиально-гумусовая	0	0	0	10603,1	21818,6
Перегнойно-подзолистая поверхностно оглеенная	0	0	7819,7	15237,4	22613,9

Литература

1. Терехова В.А. Биотестирование почв: подходы и проблемы // Почвоведение. 2011. № 2. С.190-198.
2. Kovaleva E.I., Kegiyan M.G. The earthworm Use Possibility for Ecological Evaluation of Oil Contaminated Soils // Proceeding of International School 21-23 November 2014. Lomonosov MSU. P.127.
3. Абрамян С.А. Изменение ферментативной активности почвы под влиянием естественных и антропогенных факторов // Почвоведение. 1992. № 7. С.70-82.
4. Гоголева О.А. Каталазная активность углеводородоокисляющих бактерий. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Оренбург, 2012. 16 с.
5. Dick R. Methods of Soil Enzymology. In: Soil Science of America Book Series 9. Soil Science Society of America, Inc, Madison, Wisconsin. 2011.
6. Nannipieri P., Kandeler E., Ruggiero P. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. In: Burns R.G., Dick R.P. (Eds.). Enzymes in the Environment-Activity. Ecology and Applications. 2002. Marcel Dekker, New York. P.1-34.
7. Хазиев Ф.Х., Фахтиев Ф.Ф. Изменение биохимических процессов в почвах при нефтяном загрязнении и активация разложения нефти // Агробиология. 1981. № 10. С.102-111.
8. Тазетдинова Д.И., Антонов В.В., Газизов И.С., Алимова Ф.К. Ферментативная активность выщелоченных черноземов Восточного Закамья Волжско-Камской степи при синергетическом загрязнении тяжелыми металлами и углеводородами // Фундаментальные исследования. 2013. № 8-2. С.364-369.
9. Петров А.М. и др. Биологические характеристики дерново-подзолистых почв в условиях длительного нефтяного загрязнения // Сб. науч. тр. Казань: Отечество, 2014. С.260-269.
10. Ивлев А.М. Особенности генезиса и биогеохимии почв Сахалина. М.: Наука, 1977. 144 с.
11. Галстян А.Ш. Унификация методов определения ферментативной активности почв // Почвоведение. 1978. № 2. С.107-114.
12. Воробейчик Е.Л., Садыков О.Ф., Фарафонов М.Г. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем. Екатеринбург: Изд-во «Наука», 1994. 280 с.
13. Пых Ю.А., Малкина-Пых И.Г. Об оценке состояния окружающей среды. Подходы к проблеме // Экология. 1996. № 5. С.323-329.
14. Левич А.П. Биотическая концепция контроля природной среды // Доклады Академии наук. 1994. Т. 337. № 2. С.257-259.
15. Гендугов В.М., Глазунов Г.П., Евдокимова М.В. Макрокинетика микробных популяций в почве // Вестник Московского университета. Сер. 17: Почвоведение. 2010. № 3. С.35-39.
16. Виноградов Б.В., Орлов В.П., Снакин В.В. Биотические критерии выделения зон экологического бедствия России // Изв. РАН. Сер. геогр. 1993. № 5. С.77-89.

References

1. Terekhova V.A. Biotestirovanie pochv: podkhody i problemy // Pochvovedenie. 2011. № 2. S.190-198.
2. Kovaleva E.I., Kegiyan M.G. The earthworm Use Possibility for Ecological Evaluation of Oil Contaminated Soils // Proceeding of International School 21-23 November 2014. Lomonosov MSU. P.127.
3. Abramyan S.A. Izmenenie fermentativnoi aktivnosti pochvy pod vliyaniem estestvennykh i antropogennykh faktorov // Pochvovedenie. 1992. № 7. S.70-82.
4. Gogoleva O.A. Katalaznaya aktivnost' uglevodorodokislyayushchikh bakterii. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Orenburg, 2012. 16 s.
5. Dick R. Methods of Soil Enzymology. In: Soil Science of America Book Series 9. Soil Science Society of America, Inc, Madison, Wisconsin. 2011.
6. Nannipieri P., Kandeler E., Ruggiero P. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. In: Burns R.G., Dick R.P. (Eds.). Enzymes in the Environment-Activity. Ecology and Applications. 2002. Marcel Dekker, New York. P.1-34.
7. Khaziev F.Kh., Fakhtiev F.F. Izmenenie biokhimicheskikh protsessov v pochvakh pri neftyanom zagryaznenii i aktivatsiya razlozheniya nefiti // Agrokimiya. 1981. № 10. S.102-111.
8. Tazetdinova D.I., Antonov V.V., Gazizov I.S., Alimova F.K. Fermentativnaya aktivnost' vyshchelochennykh chernozemov Vostochnogo Zakam'ya Volzhsko-Kamskoi stepi pri sinergeticheskom zagryaznenii tyazhelymi metallami i uglevodorodami // Fundamental'nye issledovaniya. 2013. № 8-2. S.364-369.
9. Petrov A.M. i dr. Biologicheskie kharakteristiki dernovo-podzolistykh pochv v usloviyakh dlitel'nogo neftyanogo zagryazneniya // Sb. nauch. tr. Kazan': Otechestvo, 2014. S.260-269.
10. Ivlev A.M. Osobennosti genezisa i biogeokhimiya pochv Sakhalina. M.: Nauka, 1977. 144 s.
11. Galstyan A.Sh. Unifikatsiya metodov opredeleniya fermentativnoi aktivnosti pochv // Pochvovedenie. 1978. № 2. S.107-114.
12. Vorobeichik E.L., Sadykov O.F., Farafontov M.G. Ekologicheskoe normirovanie tekhnogennykh zagryaznenii nazemnykh ekosistem. Ekaterinburg: Izd-vo «Nauka», 1994. 280 s.
13. Pykh Yu.A., Malkina-Pykh I.G. Ob otsenke sostoyaniya okruzhayushchei sredy. Podkhody k probleme // Ekologiya. 1996. № 5. S.323-329.
14. Levich A.P. Bioticheskaya kontseptsiya kontrolya prirodnoi sredy // Doklady Akademii nauk. 1994. T. 337. № 2. S.257-259.
15. Gendugov V.M., Glazunov G.P., Evdokimova M.V. Makrokinetika mikrobnykh populyatsii v pochve // Vestnik Moskovskogo universiteta. Ser. 17: Pochvovedenie. 2010. № 3. S.35-39.
16. Vinogradov B.V., Orlov V.P., Snakin V.V. Bioticheskie kriterii vydeleniya zon ekologicheskogo bedstviya Rossii // Izv. RAN. Ser. geogr. 1993. № 5. S.77-89.

Е.И. Ковалева – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, МГУ им. М.В. Ломоносова, 119991 Россия, г. Москва, Ленинские горы 1, e-mail: katekov@mail.ru • М.А. Пукальчик – канд. биол. наук, мл. науч. сотрудник, e-mail: pukalchik.maria@gmail.com • А.С. Яковлев – д-р биол. наук, зав. кафедрой, e-mail: yakovlev_a_s@mail.ru • E.I. Kovaleva – Cand. Sci. (Biol.), Senior Research, Lomonosov Moscow State University, 119991 Russia, Moscow, Leninsky Gory 1, e-mail: katekov@mail.ru • M.A. Pukalchik – Cand. Sci. (Biol.), Junior Research, e-mail: pukalchik.maria@gmail.com • A.S. Yakovlev – Dr. Sci. (Biol.), Head of Department, e-mail: yakovlev_a_s@mail.ru