

УДК 577.1

И.П. НОВИКОВА¹, Т.В. ПАРШИКОВА¹, В.В. ВЛАСЕНКО², И.Б. ЗУБЕНКО²

¹ Киевский национальный ун-т им. Тараса Шевченко,

01017 Киев, ул. Владимирская, 60, Украина

² Ин-т биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины,

02660 Киев, ул. Мурманская, 1, Украина

ВЛИЯНИЕ $K_2Cr_2O_7$ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ И ПОДВИЖНОСТЬ КЛЕТОК *EUGLENA GRACILIS* KLEBS

Исследовано действие $K_2Cr_2O_7$ (в концентрации от 0,05 (ПДК) до 135 мг/л) на физиологические показатели высокоспособного вида зеленой микроскопической водоросли *Euglena gracilis* Klebs. Комплекс использованных методов (дифференциальная флуорометрия, лазерная корреляционно-доплеровская спектроскопия) позволил исследовать динамику изменения концентрации хлорофиллов, потенциальной фотосинтетической активности, а также скорости и энергетики движения клеток *E. gracilis* в зависимости от продолжительности контакта с хромом (1, 4 и 7 сут). Установлено, что степень токсичности хрома существенно зависит не только от концентрации действующего микроэлемента, но и от продолжительности контакта с ним клеток. При увеличении длительности последнего токсичность значительно возрастает.

Ключевые слова: хром, хлорофиллы, потенциальная фотосинтетическая активность, скорость движений клеток.

Введение

Загрязнение природных вод относится к числу существенных факторов нарушения процессов метаболизма у гидробионтов растительного и животного происхождения (Гандзюра, 2002; Исакова и др., 2004, Зубенко, Паршикова, 2005). Это обуславливает падение продуктивности и уменьшение биологического разнообразия представителей альгофлоры.

Токсичность тяжелых металлов тесно связана с их электронной конфигурацией, величиной отрицательного потенциала частиц, их ионизацией, активностью окислительно-восстановительных реакций, а также сродством их у отдельных химических групп элементов (Дмитриева и др., 2002).

Хром относится к числу распространенных компонентов природных вод (Чубар, 1998). Основными источниками его поступления в водоемы являются промышленные стоки гальванических цехов, кожевенных производств, красилен, машиностроительных, приборостроительных и металлургических предприятий (Линник и др., 1989). В аэробных условиях Cr (VI) в природных водах достаточно устойчив и может сохранять биологическую активность в течение длительного времени. В анаэробных условиях Cr (VI) доминирует за счет выделения гидроксидов (Buerge, Hug, 1999). При производстве компакт-дисков для компьютеров на предприятиях также формируются сточные воды с высоким содер-

© И.П. Новикова, Т.В. Паршикова, В.В. Власенко, И.Б. Зубенко, 2007

жением ряда металлов, диапазон концентраций которых колеблется в различных пределах: Ni^{+2} – 0,1-10,0; Cr^{+3} – 0,1-25,0; $Cr(VI)$ – 0,1-25,0; Zn^{+2} – 0,1-50; Al^{+3} – 1,0-200; Fe^{+3} – 1,0-500 мг/л (Калиниченко, 2005). Например, на отдельных участках Южного Буга содержание $Cr(VI)$ в воде превышает его предельно допустимую концентрацию (ПДК) в 10-50 раз. В Днепре и его притоках в пределах Украины зарегистрировано содержание $Cr(VI)$ на уровне выше 18 ПДК (Гандзюра, 2002). Для рыбохозяйственных водоемов Украины отмечались концентрации $Cr(VI)$ в пределах 126,0 мкг/л (Хамар, 1996). Учитывая факты столь высокой концентрации хрома в природных водах, большое значение имеет оценка его токсичности для микроскопических водорослей – основных продуцентов органического вещества и кислорода в водных экосистемах.

Известны также факты аккумуляции $Cr(VI)$ различными видами микроскопических водорослей, например *Scenedesmus acutus* Meyen, *Chlorella vulgaris* Beijer (Travieso et al., 1999). Однако не установлены допустимые концентрации микроэлемента, необходимые для сохранения видового разнообразия водорослей при попадании хрома в среду. Значительный интерес представляет также вопрос о способности фотосинтетического аппарата водных растений адаптироваться к условиям повышенной концентрации $Cr(VI)$.

К числу важных модельных организмов для оценки токсичности металлов относят жгутиковую одноклеточную водоросль *Euglena gracilis* Klebs (Данилов и др., 2000; Barsanti, Gualtieri, 2005). В результате повышения трофности и загрязнения природных вод доля в альгоценозе видов эвгленовитовых – индикаторов высокой степени загрязнения (от α -мезосапробов до полисапробов) существенно увеличивается (Владимирова, Маркелова, 1983; Хисориев, 1997). Об этом свидетельствует интенсивное развитие таких высокосапробных видов водорослей, как *Euglena viridis* Ehr., *E. caudate* Ehr., *E. geniculata* Ehr., *Lepocinclis ovum* (Ehr.) Lemm. и др., которое может служить индикатором усиленного антропогенного эвтрофирования и загрязнения водных объектов.

Целью нашей работы было изучение влияния концентрации $K_2Cr_2O_7$ на жизнедеятельность *E. gracilis*.

Материалы и методы

В работе использовали бактериально чистую культуру *Euglena gracilis*, полученную в Ин-те биофизики Центральной национальной лаборатории (Италия). При выращивании применяли среду, используемую для *E. gracilis* (Владимирова, Маркелова, 1983). Водоросли культивировали в колбах Эрленмейера при температуре 20 ± 2 °C и освещенности 4500-5000 лк. В опытах использовали культуру на стационарной фазе роста. Контроль пигментного комплекса водорослей осуществляли по изменению содержания суммы хлорофиллов *a* и *b* в клетках нативных водорослей методом дифференциальной флуорометрии с использованием Planctofluorometer FL 300 3M разработки Красноярского ун-та (Гольд и др., 1984, 1993). Параллельно определяли значение

ΔF (разность интенсивности флуоресценции до и после внесения симазина как ингибитора электронного транспорта фотосинтезирующих клеток). Этот показатель характеризует степень жизнеспособности водоросли по величине ее потенциальной фотосинтетической активности (Паршикова и др., 2001).

Скорость движения клеток эвглены (мкм/с) и энергозатраты на этот процесс (усл. ед.) определяли с помощью лазерного корреляционно-доплеровского спектрометра (Власенко и др., 1992). Экспериментально полученные коррелограммы аппроксимируют модельной формой корреляционной функции по методу наименьших квадратов путем вариации значений скорости и доли подвижных клеток. Энергозатраты на движение в вязкой среде пропорциональны скорости подвижной клетки:

$$N = F \times V, \quad (1)$$

где V – скорость поступательного движения клетки; F – сила вязкого трения, которая рассчитывается по формуле:

$$F = 6 \times \pi \times \eta \times r \times V, \quad (2)$$

где η – коэффициент вязкости среды, r – радиус клетки. Подставив (2) в (1), получим мощность (или энергозатраты) подвижной клетки, прямо пропорциональную квадрату скорости:

$$N = \gamma \times V^2, \quad (3)$$

где γ – коэффициент пропорциональности, связанный с формой, размерами клетки и свойствами среды.

При расчете энергозатрат клеточной популяции учитывали концентрацию водоросли и долю подвижных клеток в культуре.

Cr (VI) добавляли в среду в виде $K_2Cr_2O_7$ в концентрациях 0,05, 1, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135 мг/л. Измерение показателей развития водорослей проводили через 1, 4 и 7 сут контакта их с хромом.

Для математической обработки полученных результатов использовали методы статистического анализа (Лпаач и др., 2000). Выводы формулировали на основании критерия Стьюдента при доверительной вероятности $P = 0,95$.

Результаты и обсуждение

Через сутки контакта клеток водоросли с $K_2Cr_2O_7$ при низком его содержании отмечается повышение суммы хлорофиллов a и b (рис. 1). Максимумы его соответствуют концентрации хлорофиллов – $500,54 \pm 27,15$ мкг/л при 1 мг/л $K_2Cr_2O_7$, по сравнению с контролем – $436,50 \pm 15,75$ мкг/л.

Стимулирующее действие низких концентраций тяжелых металлов было отмечено ранее и для других водорослей (Артюхова и др., 2000; Barsanti, Gualtieri, 2005). Аналогичный эффект стимуляции низких концентраций хрома известен также для ряда сельскохозяйственных растений. Однако бихромат калия даже в концентрации 5 мг/л вызывает незначительные проявления хлороза у овса, а при наличии 15-50 мг/л элемента в среде рост растения значительно замедлялся (Дмитриева и др., 2002).

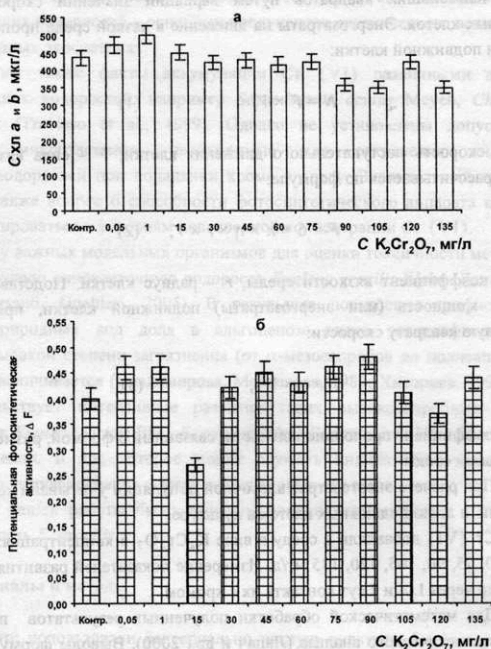


Рис. 1. Влияние $K_2Cr_2O_7$ на динамику концентраций суммы хлорофиллов *a* и *b* (а) и потенциальную фотосинтетическую активность клеток *Euglena gracilis* Klebs (б) через 1 сут контакта.

Как свидетельствуют полученные нами данные, в клетках *Euglena gracilis* через 1 сут контакта даже при самых высоких концентрациях $K_2Cr_2O_7$ не снижается содержание хлорофиллов *a* и *b* ниже $347,38 \pm 19,46$ мкг/л, т.е. суммарная концентрация пигментов снижается лишь на 20,4 % по сравнению с контролем.

Показатель потенциальной фотосинтетической активности клеток (величина ΔF) также регистрируется на достаточно высоком уровне, что свидетельствует об интенсивном росте водоросли и соответствует интенсивности фотосинтеза в пределах 70-90 % максимального (см. рис. 1).

Увеличение продолжительности контакта клеток водоросли с хромом до 4 сут в ряде случаев усиливало стимулирующее действие низких концентраций элемента. Это повышение составило 24,1 % (рис. 2) для предельно допустимой концентрации хрома – 0,05 мг/л и 26,8 % прибавки для 1 мг/л. Однако при дальнейшем увеличении времени контакта отмечено снижение концентрации хлорофиллов *a* и *b* до более низких величин (от 45 мг/л и ниже).

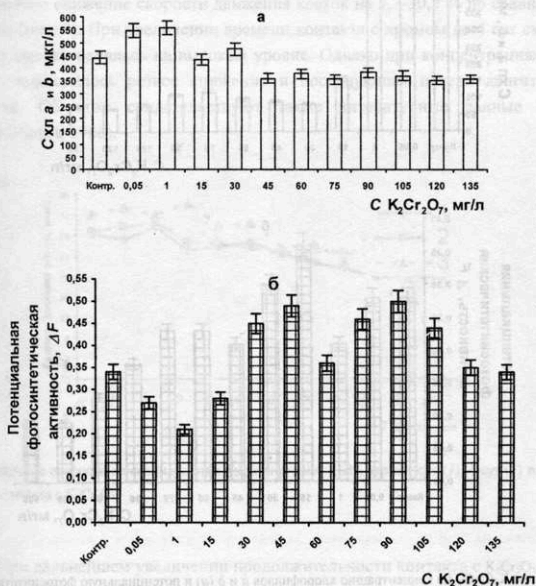


Рис. 2. Изменение концентрации суммы хлорофиллов *a* и *b* (а) и потенциальной фотосинтетической активности *Euglena gracilis* Klebs (б) через 4 сут контакта с $K_2Cr_2O_7$.

Показатель потенциальной фотосинтетической активности растений свидетельствует об определенной адаптации их к хромю, по-видимому, за счет его восстановления. По сравнению с контролем, уровень потенциальной фото-

синтетической активности даже повышается (см. рис. 2). Однако при концентрации 60 мг/л наблюдалось изменение ранее гомогенной структуры суспензии клеток водоросли за счет образования их уплотненных скоплений. Образование макроскопических агрегатов клеток водоросли можно рассматривать как определенную приспособительную реакцию к действию взятой концентрации бихромата калия. Поскольку жизнеспособные зеленые клетки водоросли находились внутри образовавшихся агрегатов, это, возможно, помогло их дальнейшему выживанию.

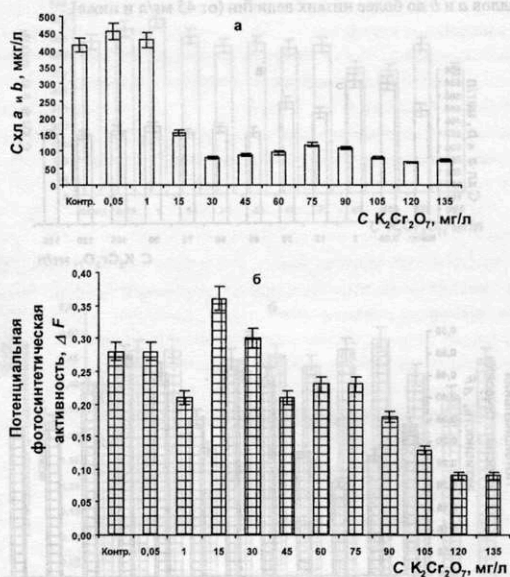


Рис. 3. Влияние $K_2Cr_2O_7$ на концентрацию хлорофиллов а и б (а) и потенциальную фотосинтетическую активность клеток *Euglena gracilis* Klebs (б) через 7 сут контакта.

При контакте клеток с наиболее высоким уровнем содержания бихромата калия (120 и 135 мг/л) суспензия водоросли приобретала желтоватый оттенок. При этом на дне колб формировался значительный зеленый осадок комковатых скоплений водоросли, которые, однако, не теряли своей окраски.

При увеличении времени контакта клеток с хромом до 7 сут наблюдалось значительное усиление токсичности Cr (VI) для тест-объекта *Euglena gracilis*

(рис. 3). При низких концентрациях хрома еще наблюдалось незначительное повышение концентрации суммы хлорофиллов *a* и *b* (на 3,4-9,6 %) по сравнению с контролем. Для самых больших исследуемых концентраций $K_2Cr_2O_7$ (120 и 135 мг/л) уровень потенциальной фотосинтетической активности водоросли резко снижался (ниже 0,1), что свидетельствовало о существенном угнетении водорослей и их отмирании. В этих условиях способность к фотосинтезу сохраняли лишь отдельные выжившие клетки.

Наиболее существенное влияние на выживание водоросли оказывала их двигательная активность. Скорость движения *E. gracilis* через сутки контакта с $K_2Cr_2O_7$ свидетельствовала о том, что даже самые высокие концентрации токсиканта слабо ингибировали двигательную активность клеток. В этих условиях в среднем было отмечено снижение скорости движения клеток на 3,3-30,3 % по сравнению с контролем (рис. 4). При увеличении времени контакта с хромом до 4 сут скорость движения еще сохранялась на высоком уровне. Однако при концентрациях выше 100 мг/л наблюдалось резкое снижение и последующая потеря двигательной активности. Об этом свидетельствуют также литературные данные (Pacha, Piotrowska-Seget, 1988).

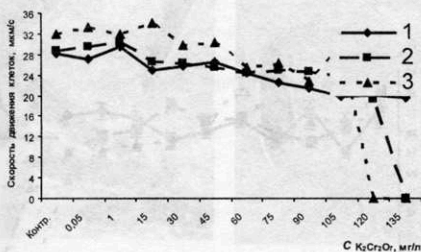


Рис. 4. Изменение скорости движения клеток *Euglena gracilis* Klebs через 1 сут (1), 4 сут (2) и 7 сут (3) контакта с $K_2Cr_2O_7$.

При дальнейшем увеличении продолжительности контакта с $K_2Cr_2O_7$ (7 сут) скорость движения отдельных клеток иногда даже повышалась по сравнению с контролем. Однако при наиболее высоких уровнях исследуемых концентраций бихромата клетки теряли способность к движению.

Оценка уровня энергозатрат на движение клеток *E. gracilis* (рис. 5) показала, что при непродолжительном контакте (1 сут) энергия движения клеток снижалась в среднем на 21,5-41,5 % по сравнению с контролем. С повышением концентрации токсиканта до 135 мг/л в среде движение клеток снижалось до 0. При контакте в течение 7 сут повышалась энергетика движения у сохранивших подвижность клеток по сравнению с контролем в среднем на 3,9-9,7 %. С увеличением времени контакта подвижность клеток значительно уменьшалась при

концентрациях более 90 мг/л. Количество подвижных клеток в суспензии *E. gracilis* свидетельствует о том, что при усилении токсичности бихромата калия подавляется их двигательная активность (рис. 6).

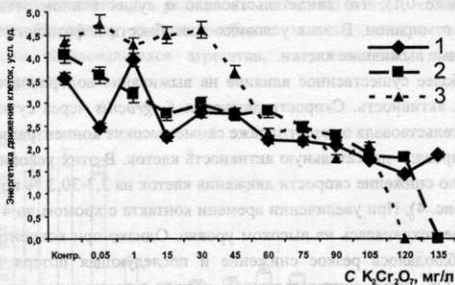


Рис. 5. Влияние $K_2Cr_2O_7$ на энергетику движения клеток *Euglena gracilis* Klebs. Обозначения те же, что и на рис. 4.

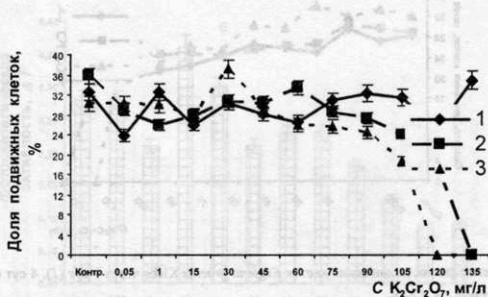


Рис. 6. Изменение доли подвижных клеток *Euglena gracilis* Klebs при добавлении в культуральную среду различных концентраций $K_2Cr_2O_7$. Обозначения те же, что и на рис. 4.

Контроль изменений размерного спектра клеток в суспензии *E. gracilis* при контакте с бихроматом калия свидетельствует о том, что при концентрациях токсикантов более 45 мг/л изменяется и размерный состав клеток. В присутствии сублетальных концентраций токсиканта (45-90 мг/л) доминируют крупные и даже "гигантские" клетки. При летальных концентрациях (более 100 мг/л) хрома в среде появляются "мелкие" клетки с зернистым содержанием (рис. 7).

Аналогичные наблюдения при более низких летальных и сублетальных концентрациях бихромата были получены и для *Scenedesmus quadricauda* Meyer

(Прохоцкая, 2000). Уровни концентрации токсиканта по-разному влияли на стадии клеточного цикла *S. quadricauda*: сублетальные концентрации (до 10 мг/л) ингибировали деление клеток на фазе G_1 ; при летальных концентрациях (10 мг/л и выше) “крупные” зрелые клетки отмирали к концу фазы G_2 или при митозе; молодые “мелкие” клетки гибли накануне S -фазы. По мнению Д.М. Гродзинского (1983), именно в фазы G_1 и G_2 клеточного цикла клетки наиболее чувствительны к различным воздействиям. Показано (Чжао Ицзюнь, 1994), что после интоксикации бихроматом калия (3-10 мг/л) в чистой среде сохранялись “крупные” клетки *S. quadricauda*, т.е. размеры клеток были больше, чем в контроле (в основном за счет увеличения их ширины). Очевидно, при укрупнении клеток в присутствии бихромата калия имеет место либо генетическая закрепленность измененных параметров клеток, либо продолжается действие хрома, накопленного клетками в процессе длительной интоксикации.

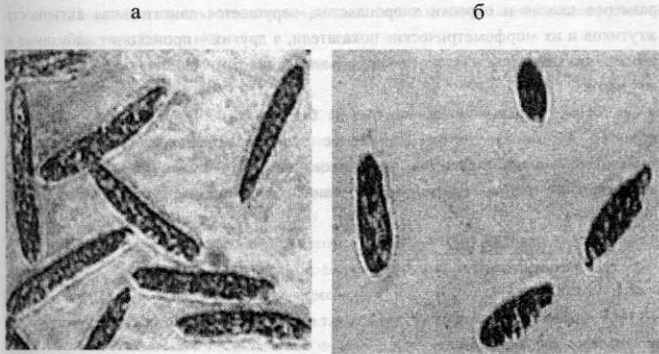


Рис. 7. Деформация клеток *Euglena gracilis* Klebs при добавлении $K_2Cr_2O_7$ после 7 сут контакта: а – контроль; б – концентрация токсиканта 135 мг/л.

Заключение

Установлены уровни сублетальных (45-90 мг/л) и летальных (свыше 105 мг/л) концентраций $K_2Cr_2O_7$ для жизнедеятельности высокосапробного подвижного вида зеленой водоросли *Euglena gracilis*. В зависимости от концентрации бихромат калия оказывает дифференцированное влияние на накопление хлорофиллов *a* и *b*, потенциальную фотосинтетическую активность, скорость и энергетику движения клеток *E. gracilis*.

Степень токсичности $K_2Cr_2O_7$ существенно зависит не только от его концентрации в среде, но и от продолжительности контакта клетки с токсикантом:

чем он продолжительнее, тем существеннее негативная реакция водоросли. После максимального времени контакта клеток *E. gracilis* с Cr (VI) – 7 сут – было отмечено: уменьшение накопления суммы хлорофиллов *a* и *b* от 15 % (для концентрации 1 мг/л) до 68-83 % (для концентраций 15-135 мг/л), снижение потенциальной фотосинтетической активности (ΔF) от 30 % (для концентрации 30 мг/л) до 75 % (для концентраций 120-135 мг/л), а также фиксировалась полная остановка клеток при концентрациях 120; 135 мг/л по сравнению с данными, которые отмечались после 1 сут контакта. Доля подвижных клеток при увеличении времени контакта с $K_2Cr_2O_7$ до 7 сут также уменьшалась на 4-30 % соответственно для концентраций 60-105 мг/л.

Выявлены изменения ряда структурных и морфометрических показателей клетки, а также их поведения в среде. Сюда относятся изменения размеров и окраски хлоропласта, скорость двигательной активности жгутиков, а также особенности поведения клеток в среде. В одних случаях происходит изменение размеров клеток и окраски хлоропластов, нарушается двигательная активность жгутиков и их морфометрические показатели, в других – происходит набухание и увеличение размеров клеток, изменение эластичности и двигательной активности жгутиков.

При повышении концентрации бихромата калия в среде изменяется характер агрегации клеток. Одиночное существование подвижных клеток в токсической среде сменяется их комкованием, что приводит к образованию клеточных агрегатов, седиментации организмов в виде аморфных скоплений на дне сосудов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность к.т.н. С.Ф. Петренко за помощь в подготовке микрофотографий клеток водорослей.

I.P. Novikova¹, T.V. Parshykova¹, V.V. Vlasenko², I.B. Zubenko²

¹ T.G. Shevchenko Kiev National University,

60, Vladimirskaia St., 01017 Kiev, Ukraine

² Institute of Bio-Organic Chemistry and Oil Chemistry, National Academy of Sciences of Ukraine,

12, Pr. Geroyev Stalingrada, 04210 Kiev, Ukraine

EFFECT OF $K_2Cr_2O_7$ ON THE PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY AND MOBILITY OF *EUGLENA GRACILIS* KLEBS CELLS

It is investigated the effect of $K_2Cr_2O_7$ in the concentration from 0,05 to 135 mg/L on the physiological indices of highsaprobic green algae *Euglena gracilis* Klebs. In experiments had been used methods of differential fluorometry and laser-doppler spectrometry for measuring of changes in chlorophylls

concentration, level of potential photosynthetic activity, speed, energy of cell mobility of *E. gracilis* during 1, 4 and 7 days contact with potassium bichromate. It was established that degree of chromium toxicity depends significantly from duration of contact: under its increasing toxicity rises essentially.

Keywords: chromium, chlorophylls, photosynthetic activity, speed of cells mobility.

- Артюхова В.И., Филленко О.Ф., Чжао Ицзюнь. Функциональные изменения, происходящие в лабораторных популяциях микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Bréb. при различных режимах токсического воздействия // Вестн. МГУ. Сер. 16, Биол. – 2000. – № 2. – С. 52-59.
- Владимирова М.Г., Маркелова А.Г. Коллекция культур одноклеточных водорослей Института физиологии растений АН СССР // Культивирование коллекционных штаммов водорослей. Межвуз. сб. / Под ред. Б.В. Громова. – Л., 1983. – С. 57-74.
- Власенко В.В., Мацковский В.И., Паничев И.В. и др. Способ определения токсического воздействия химических веществ, содержащихся в водной среде на культуру планктонных гидробионтов / А. с. N 1822261. – 1992. – 5 с.
- Гандюра В.П. Продуктивность биосистем за токсичного забруднення середовища важкими металами. – К.: Обрій, 2002. – 248 с.
- Гольд В.М., Гаевский Н.А., Григорьев Ю.С. и др. Теоретические основы и методы изучения флуоресценции хлорофилла. – Красноярск: Изд-во Краснояр. ун-та, 1984. – 84 с.
- Гольд В.М., Попельницкий В.А. Определение фотосинтеза водорослей флуоресцентным методом // Методические вопросы изучения первичной продукции планктона внутренних водоемов. – М.: Гидрометеоздат, 1993. – С. 25-29.
- Гродзинский Д.М. Надежность растительных систем. – Киев: Наук. думка, 1983. – 86 с.
- Данилов Р.А., Нильс Г.А. Ежелунд. Адаптация фотосинтетического аппарата *Euglena gracilis* Klebs к условиям различной концентрации токсических веществ // Альгология. – 2000. – 10, № 3. – С. 244-249.
- Дмитриева А.Г., Кожанова О.Н., Дронина Н.Л. Физиология растительных организмов и роль металлов. – М.: Изд-во МГУ, 2002. – 160 с.
- Зубенко И.Б., Паришкова Т.В. Влияние катиоактивного ПАВ на степень токсичности хрома (VI) для гидробионтов // Гидробиол. журн. – 2005. – 41, № 1. – С. 68-75.
- Исакова Е.Ф., Прохоняк В.Ю., Самойлова Т.А., Агеева И.В. 80 лет кафедре гидробиологии / Под ред. В.Д. Федорова. – М.: Т-во науч. изд. КМК, 2004. – 262 с.
- Калишченко К.П. Оценка токсичности солей некоторых металлов методом бактериального тестирования // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. – 2005. – 3, № 26. – С. 190-192.
- Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL. – Киев: МОРИОН, 2000. – 320 с.
- Линник П.Н., Лецинская А.А., Набиванец Б.И. О методических особенностях исследования сосуществующих форм хрома в природных водах // Гидробиол. журн. – 1989. – 25, № 2. – С. 88-93.
- Паришкова Т.В., Сиренко Л.А., Щеголева Т.Ю., Колесников В.Г. Экспресс-контроль роста и физиологического состояния микроводорослей // Альгология. – 2001. – 11, № 3. – С. 403-413.

- Процокая И.Ю. Структурно-функциональные характеристики модельной популяции *Scenedesmus quadricauda* при интоксикации: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – М., 2000. – 22 с.
- Хамар І.С. Фітопланктон ставів як показник їх екологічного стану: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – К., 1996. – 24 с.
- Хисриев Х. Эвгленефитовые водоросли (*Euglenophyta*) водоемов Средней Азии: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Киев, 1997. – 48 с.
- Чжао Изюнь Влияние изменяющихся токсических нагрузок на структурно-функциональные характеристики водоросли *Scenedesmus quadricauda* в культуре: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 1996. – 14 с.
- Чубар Н.І. Форми знаходження і закономірності міграції хрому й заліза у водосховищах Дніпра: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – К., 1998. – 18 с.
- Barsanti L., Gualtieri P. Algae. Anatomy, Biochemistry and Biotechnology. – CRC Press, 2005. – 320 p.
- Buerge J. Ignaz, Hug J. Stephan Influence of Mineral Surfaces on Chromium (VI) Reduction by Iron (II) // Environ. Sci. Technol. – 1999. – 33. – P. 4285-4291.
- Pacha J., Ptotowska-Seget Z. Toksycznosc wybranych zwiatkzow troj – 1 szesciwarto iow go chromu dla *Chlorella pyrenoidosa* // Acta Biol. Siles. – 1988. – 9, N 26. – P. 119-127.
- Travieso L., Cantares R.O., Borja R, et al. Heavy Metal Removal by Microalgae // Bull. Environ. Contam. Toxicol. – 1999. – 62. – P. 144-151.

Получена 21.02.06

Подписала в печать Е.И. Шнюкова