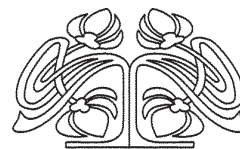




Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского»

ИЗВЕСТИЯ

САРАТОВСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА
Новая серия



Научный журнал
2017 Том 17

ISSN 1816-9775 (Print)
ISSN 2541-8971 (Online)

Издается с 2005 года

Серия Химия. Биология. Экология, выпуск 4

Продолжение «Известий Императорского Николаевского Университета» 1910–1918, «Ученых записок СГУ» 1923–1962,
«Известий Саратовского университета. Новая серия» 2001–2004

СОДЕРЖАНИЕ

Научный отдел

Химия

Смирнова Т. Д., Желобницкая Е. А., Данилина Т. Г. Люминесцентные свойства доксициклина в присутствии наночастиц серебра, модифицированных ионами европия 370

Стрелкова К. В., Варыгина О. В., Чернова Р. К., Коблова О. Е., Кострицкий А. Ю. О взаимодействии синтетического пищевого красителя E133 с катионами цетилпиридиния 376

Варламова Т. М. Фазовые равновесия в тройной системе иодид калия – вода – третичный бутиловый спирт при 5–30°C 382

Кистанова Н. С., Коротких С. А. Фазовые равновесия в системе $\text{K}_2\text{PO}_4 - \text{K}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}$ при 25°C 389

Аниськова Т. В., Ромаденкина С. Б., Кузьмина Р. И. Превращение стабильного катализатора установки каталитического риформинга на катализаторе R-98 394

Биология

Алаторцева Т. А., Апанасова Н. В., Лобанова Л. П. Явление полиэмбрионии *in vivo* и *in vitro* у апомиктической линии кукурузы 397

Поршаков А. М., Чекашов В. Н., Захаров К. С. Гамазовые клещи мелких млекопитающих Красноармейского района Саратовской области 405

Верховский Р. А., Глинская Е. В. Изучение полиморфизма гена DEFБ4А у лиц, страдающих воспалительными заболеваниями пародонта 410

Коробко В. В., Пчелинцева Н. В., Самсонова Е. А., Аль Саммаррай Анес Исмаил Салех. Влияние полизамещенных перхлоратов халькоген(тио)пирилия на морфогенез проростков пшеницы 413

Лобанова Л. П., Колесова А. Ю., Алаторцева Т. А., Нурушева И. А. Особенности проявления гаметофитных мутаций табака в зависимости от температуры 420

Егорова А. В., Брилли Г. Е., Бугаева И. О., Тучина Е. С., Нечаева О. В. Фотодинамическое воздействие лазерного излучения красной области спектра на рост штаммов *Staphylococcus aureus* с использованием фотодитазина 428

Беляченко Ю. А., Беляченко А. А. Полиморфизм по размеру пыльцевых зерен в ценопопуляциях тюльпана Геснера (*Tulipa gesneriana* L., 1753) на территории урочища «Иваново поле» 432

Кухта А. Е., Москвитин С. С., Большакова Н. П., Чапкина Т. В. Использование сизым голубем (*Columba livia* Gmelin, 1789) чердачных помещений разных конструкций 438

Кожевников В. А., Курылина А. Ф., Кравцов А. Л., Щуковская Т. Н., Бугоркова С. А. Проточно-цитометрическое исследование показателей светорассеяния в неоднородных популяциях клеток иммунной системы мышей, иммунизированных капсульным антигеном Ф1 чумного микроба 446

Шаравин Д. Ю., Соломенный А. П. Консервативные и вариабельные участки гена метанолдегидрогеназы у галотолерантных представителей рода *Methylophaga* 452

Князева Т. В., Поршаков А. М., Захаров К. С., Матросов А. Н., Толоконникова С. И., Чекашов В. Н., Шилов М. М., Яковлев С. А. Кровососущие комары (Diptera; Culicidae) Саратовской области 458

Шульгина Т. А., Нечаева О. В., Глинская Е. В., Дарьин Н. И., Торгашова А. С., Теслюк Д. А., Бабайлова А. В., Панфилова Е. А. Антимикотическая активность наночастиц серебра в зависимости от используемого стабилизатора 465

Шаров А. Ю., Чеснокова С. М., Трифонова Т. А. Оценка уровня загрязнения воды, процессов нитрификации и самоочищения от ионов аммония в малом водотоке Илевны 469

Иванова А. В. Сравнительная характеристика гигроморфного состава ведущих семейств флор разных регионов России 476

Иванова А. В., Костина Н. В., Кузнецова Р. С. Взаимосвязь флористического и ландшафтного разнообразия территории на примере физико-географического района лесостепной зоны 481

Иванова А. В., Костина Н. В., Кузнецова Р. С. Взаимосвязь флористического и ландшафтного разнообразия территории на примере физико-географического района лесостепной зоны 481

Иванова А. В., Костина Н. В., Кузнецова Р. С. Взаимосвязь флористического и ландшафтного разнообразия территории на примере физико-географического района лесостепной зоны 481

Иванова А. В., Костина Н. В., Кузнецова Р. С. Взаимосвязь флористического и ландшафтного разнообразия территории на примере физико-географического района лесостепной зоны 481

Иванова А. В., Костина Н. В., Кузнецова Р. С. Взаимосвязь флористического и ландшафтного разнообразия территории на примере физико-географического района лесостепной зоны 481

Иванова А. В., Костина Н. В., Кузнецова Р. С. Взаимосвязь флористического и ландшафтного разнообразия территории на примере физико-географического района лесостепной зоны 481

Иванова А. В., Костина Н. В., Кузнецова Р. С. Взаимосвязь флористического и ландшафтного разнообразия территории на примере физико-географического района лесостепной зоны 481

Иванова А. В., Костина Н. В., Кузнецова Р. С. Взаимосвязь флористического и ландшафтного разнообразия территории на примере физико-географического района лесостепной зоны 481

Журнал включен в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (группы научных специальностей: 02.00.00 – химические науки; 03.01.00 – физико-химическая биология; 03.02.00 – общая биология; 03.03.00 – физиология)

Зарегистрировано в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций.
Свидетельство о регистрации СМИ ПИ № ФС77-56123 от 15 ноября 2013 года

Индекс издания в объединенном каталоге «Пресса России» 36013, раздел 30 «Научно-технические издания. Известия РАН. Известия вузов». Журнал выходит 4 раза в год

Директор издательства
Бучко Ирина Юрьевна

Редактор
Каргин Игорь Анатольевич

Художник
Соколов Дмитрий Валерьевич

Редактор-стилист
Кочкаева Инна Анатольевна

Верстка
Ковалева Наталья Владимировна

Технический редактор
Каргин Игорь Анатольевич

Корректор
Кочкаева Инна Анатольевна

Адрес учредителя, издателя и редакции:
410012, Саратов, ул. Астраханская, 83
Тел.: (845-2) 51-45-49, 52-26-89
E-mail: izvestiya@sgu.ru

Подписано в печать 23.11.2017.
Формат 60×84 1/8.
Усл. печ. л. 14,41 (15,0).
Тираж 500 экз. Заказ 170-Т.

Отпечатано в типографии
Саратовского университета.
Адрес типографии:
410012, Саратов, Б. Казачья, 112А

© Саратовский университет, 2017



ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Журнал публикует научные статьи по всем основным разделам химии, биологии и экологии (антропология, биофизика, биохимия, биотехнология, ботаника, вирусология, генетика, гидробиология, гистология, зоология, иммунология, микология, микробиология, молекулярная биология, физиология, паразитология, почвоведение, цитология, эмбриология, факториальная экология, популяционная экология, экология сообществ, системная экология, прикладная экология, экология человека, аналитическая химия, биоорганическая химия, неорганическая химия, катализ, органическая химия, физическая химия, химия высокомолекулярных соединений и др.).

Объем публикуемой статьи не должен превышать 16 страниц в формате MS Word для Windows.

Статья должна быть аккуратно оформлена и тщательно отредактирована.

Последовательность предоставления материала:

– на русском языке: индекс УДК, название работы, инициалы и фамилии авторов, сведения об авторах (ученая степень, должность и место работы, e-mail), аннотация, ключевые слова, текст статьи, благодарности и ссылки на гранты, библиографический список;

– на английском языке: название работы, инициалы и фамилии авторов, сведения об авторах (ученая степень, должность и место работы, e-mail), аннотация, ключевые слова.

Требования к аннотации и библиографическому списку:

– аннотация не должна содержать сложных формул, ссылок на список литературы, по содержанию повторять название статьи, быть насыщена общими словами, не излагающими сути исследования; оптимальный объем 500–600 знаков;

– в списке литературы должны быть указаны только процитированные в статье работы; ссылки на неопубликованные работы не допускаются.

Образцы оформления различных источников приведены в правилах для авторов по адресу: <http://www.ichbe.sgu.ru/ru/dlya-avtorov>.

Датой поступления статьи считается дата поступления ее окончательного варианта. Возвращенная на доработку статья должна быть прислана в редакцию не позднее чем через 3 месяца. Возвращение статьи на доработку не означает, что статья будет опубликована, после переработки она вновь будет рецензироваться. Материалы, отклоненные редколлегией, не возвращаются.

Адреса для переписки с редколлегией серии: ichbe-sgu@yandex.ru; 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, биологический факультет, ответственному секретарю журнала «Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология». Website: <http://ichbe.sgu.ru>

CONTENTS

Scientific Part

Chemistry

- Smirnova T. D., Zhelobitskaya E. A., Danilina T. G.**
Luminescent Properties of Doxycycline in the Presence of Silver Nanoparticles Modified by Ions of Europe 370
- Strelkova K. V., Varygina O. V., Chernova R. K., Koblova O. E., Kostritsky A. Yu.** On Interaction of Synthetic Food Dye E133 with Cetylpyridinium Cations 376
- Varlamova T. M.** Phase Equilibria in the Ternary System "Potassium Iodide – Water – Tert-Butyl Alcohol" within 5–30°C 382
- Kistanova N. S., Korotkikh S. A.** Phase Equilibrium for the System $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{K}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}$ at 25°C 389
- Aniskova T. V., Romadenkina S. B., Kuzmina R. I.** Transformation of a Stable Catalyst of Catalytic Reforming Facility with Using the Catalyst R-98 394

Biology

- Alatortseva T. A., Apanasova N. V., Lobanova L. P.** Polyembryony Phenomenon in Apomictic Maize Line *in vivo* and *in vitro* 397
- Porshakov A. M., Chekashov V. N., Zakharov K. S.** Gamasid Mites of the Small Mammals Habitant in the Krasnoarmeisky Locality of the Saratov Region 405
- Verkhovsky R. A., Glinskaya E. V.** Study of the Polymorphism DEF4A Gene in Individuals Suffering from Periodontal Inflammatory Diseases 410
- Korobko V. V., Pchelintseva N. V., Samsonova E. A., Al Sammarrai Anes Ismail Saleh.** Effect of Polysubstituted Perchlorates Halkogen(Thio)Pyriium on Morphogenesis of Wheat Seedlings 413
- Lobanova L. P., Kolesova A. Yu., Alatortseva T. A., Nurusheva I. A.** The Specifics of Tobacco Gametophyte Mutations Display Depending on Temperature 420
- Egorova A. V., Brill G. E., Bugaeva I. O., Tuchina E. S., Nechaeva O. V.** Photodynamic Effect of Red Laser Radiation on the Growth of *Staphylococcus aureus* Strains with the Use of Photoditazine 428
- Belyachenko Yu. A., Belyachenko A. A.** Pollen Grain Size Polymorphism in Late Tulip (*Tulipa gesneriana* L., 1753) Cenopopulations within the Territory of "Ivanovo Field" Natural Boundary 432
- Kukhta A. E., Moskvitin S. S., Bolshakova N. P., Chapkina T. V.** The Influence of Roof Space Arrangement on Rock Pigeon Penetration Level (*Columba livia* Gmelin, 1789) 438
- Kozhevnikov V. A., Kurylina A. F., Kravtsov A. L., Shchukovskaya T. N., Bugorkova S. A.** Flow Cytometry Investigations Indicators Light Scattering in the Heterogeneous Population Immune System Cells from Mice Immunized with F1 Capsular Antigen, *Yersinia pestis* 446
- Sharavin D. Y., Solomennyi A. P.** Conserved and Variable Regions of the Methanol Dehydrogenase Gene Among Halotolerant Representatives of *Methylophaga* Genus 452
- Knyazeva T. V., Porshakov A. M., Zakharov K. S., Matrosov A. N., Tolokonnikova S. I., Chekashov V. N., Shilov M. M., Yakovlev S. A.** Mosquitos (Diptera; Culicidae) of the Saratov Region 459
- Shulgina T. A., Nechaeva O. V., Glinskaya E. V., Daryin N. I., Torgashova A. S., Teslyuk D. A., Babailova A. V., Panfilova E. A.** Antimycotic Activity of Silver Nanoparticles Depending on the Stabilizer Used 465

Ecology

- Sharov A. U., Chesnokova S. M., Trifonova T. A.** Assessment of Water Pollution Level, Processes of a Nitrification and Self-Treating of Ammonium Ions in a Small Water Reservoir of Ilevna 469
- Ivanova A. V.** Comparative Characteristics of the Hygromorphic Composition of the Leading Families of Florae of Different Regions of Russia 476
- Ivanova A. V., Kostina N. V., Kuznetsova R. S.** Interrelation of Floristic and Landscape Diversity of the Territory on the Example of the Physiographic Area of Forest-Steppe Zone 481



**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ ЖУРНАЛА
«ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА. НОВАЯ СЕРИЯ.
СЕРИЯ: ХИМИЯ. БИОЛОГИЯ. ЭКОЛОГИЯ»**

Главный редактор

Шляхтин Геннадий Викторович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Заместитель главного редактора

Федотова Ольга Васильевна, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)

Ответственный секретарь

Глинская Елена Владимировна, кандидат биологических наук, доцент (Саратов, Россия)

Члены редакционной коллегии:

Аникин Василий Викторович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия).

Болдырев Владимир Александрович, доктор биологических наук, профессор

(Саратов, Россия)

Грибов Лев Александрович, доктор физико-математических наук, профессор, чл.-кор. РАН

(Москва, Россия)

Кашин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Коннова Светлана Анатольевна, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Кузьмина Раиса Ивановна, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)

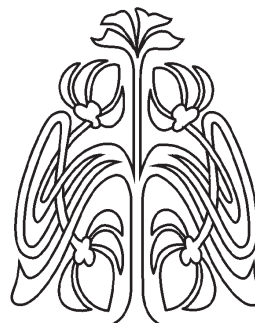
Муштакова Светлана Петровна, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)

Розенберг Геннадий Самуилович, доктор биологических наук, профессор, чл.-кор. РАН

(Тольятти, Россия)

Чернова Римма Кузьминична, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)

Шиповская Анна Борисовна, доктор химических наук, доцент (Саратов, Россия)



**EDITORIAL BOARD OF THE JOURNAL
«IZVESTIYA OF SARATOV UNIVERSITY. NEW SERIES.
SERIES: CHEMISTRY. BIOLOGY. ECOLOGY»**

**РЕДАКЦИОННАЯ
КОЛЛЕГИЯ**

Editor-in-Chief – Gennady V. Shlyakhtin (Saratov, Russia)

Deputy Editor-in-Chief – Olga V. Fedotova (Saratov, Russia)

Executive Secretary – Elena V. Glinskay (Saratov, Russia)

Members of the Editorial Board:

Vasilii V. Anikin (Saratov, Russia)

Vladimir A. Boldyrev (Saratov, Russia)

Rimma K. Chernova (Saratov, Russia)

Lev A. Gribov (Moscow, Russia)

Alexandr S. Kashin (Saratov, Russia)

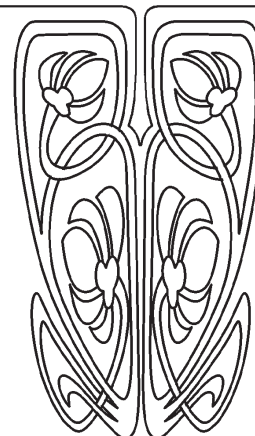
Svetlana A. Konnova (Saratov, Russia)

Raisa I. Kuzmina (Saratov, Russia)

Svetlana P. Mushtakova (Saratov, Russia)

Gennadiy S. Rozenberg (Toliaty, Russia)

Anna B. Shipovskay (Saratov, Russia)





ХИМИЯ

УДК 543.426

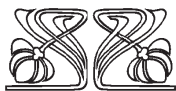
ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА ДОКСИЦИКЛИНА В ПРИСУТСТВИИ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ИОНАМИ ЕВРОПИЯ

Т. Д. Смирнова, Е. А. Желобицкая, Т. Г. Данилина

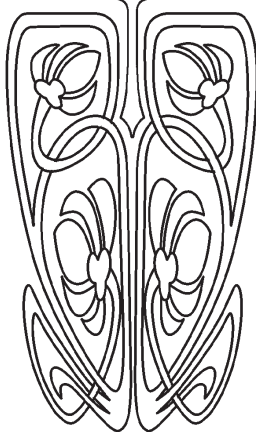
Смирнова Татьяна Дмитриевна, профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, доктор химических наук. E-mail: smirnovatd@mail.ru

Желобицкая Елена Александровна, аспирант кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: elen34444046@mail.ru

Данилина Татьяна Григорьевна, аспирант кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: danilina.tatyana.a@gmail.com



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ



В настоящей работе рассмотрено влияние наночастиц серебра на флуоресцентные свойства доксициклина (ДЦ) и его комплекса с европием. Полученные наночастицы имеют сферическую форму, узкий диапазон распределения по размерам со средним диаметром 20 ± 1.5 нм, ζ -потенциал -30 мВ. Стабильность характеристик сохраняется в течение 14 суток. С целью сокращения расстояния между металлической поверхностью и молекулой ДЦ наночастицы серебра модифицированы ионами европия. Ранее нами показано, что ДЦ образует хелат с ионами европия, который характеризуется переносом энергии возбуждения. Особенностью комплексообразования является появление в спектре флуоресценции ДЦ новой полосы, характерной для эмиссии иона европия ($\lambda_{\text{фл}} = 615$ нм). Нами установлено, что ζ -потенциал модифицированных наночастиц зависит от концентрации ионов европия в растворе. В присутствии ионов европия ζ -потенциал наночастиц возрастает от -30 мВ до нулевого значения ($4 \cdot 10^{-4}$ М) и в условиях дальнейшего роста концентрации ионов металла (до $1.25 \cdot 10^{-3}$ М) значение потенциала возрастает ($+85$ мВ), что обуславливает высокую стабильность коллоидной системы. Нами установлено, что сигнал сенсibilизированной флуоресценции в присутствии модифицированных наночастиц зависит от кислотности среды и концентрации серебряных наночастиц. Найдены оптимальные условия получения максимального аналитического сигнала. На основании проведенных исследований разработана флуориметрическая методика определения ДЦ в лекарственном препарате «Доксициклин», ООО «Озон».

Ключевые слова: доксициклин, люминесценция, европий, наночастицы серебра.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-370-375

Флуоресцентная спектроскопия является рутинным инструментом исследования клеточной и молекулярной визуализации, проточной цитометрии, медицинской диагностики, судебно-медицинской экспертизы, генетического анализа, а также аналитическим методом благодаря высокой чувствительности, низкой стоимости, простоте использования. Однако большинство доступных органических красителей, используемых для получения оптического сигнала, имеют ряд важных ограничений, таких как гидрофобность, низкий квантовый выход и невысокая фотостабильность. Дальнейшее развитие люминесцентного метода, связанное с совершенствованием



существующих флуорофоров, не всегда эффективно, поэтому в последние годы исследователи обращаются к применению различных наноматериалов, которые используются в качестве нанореакторов или участников пары донор–акцептор энергии электронного возбуждения.

Особый интерес представляют металлические наночастицы, которые могут увеличить или уменьшить время жизни флуоресценции флуорофоров, повысить эффективность резонансного переноса энергии в системе донор – акцептор в результате взаимодействия возбужденного состояния флуорофора со свободными электронами наночастицы металла. Согласно теории электронного газа электроны внешних валентных оболочек металла свободно перемещаются внутри металлической частицы, обуславливая высокую электропроводность. Под действием переменного электрического поля светового луча подвижные электроны смещаются. Если размер частицы много меньше длины волны падающего света, то перемещение электронов способствует возникновению диполя. В случае совпадения частоты колебаний падающего света с собственной частотой колебаний электронов проводимости наночастицы наблюдается явление поверхностного плазмонного резонанса (ППР). Колеблющийся диполь вблизи поверхности частицы называют поверхностным плазмоном. Возникающие заряды вблизи поверхности наночастицы вызывают поляризацию молекул окружения частицы металла. Такие эффекты выражены сильнее при возрастании способности к поляризации адсорбированных молекул и диэлектрической проницаемости окружающей среды.

В настоящей работе рассмотрено влияние наночастиц серебра на флуоресцентные свойства доксициклина и его комплекса с европием.

Широкое использование антибиотиков тетрациклинового ряда в клинике и ветеринарии вызывает опасность в превышении их остаточных концентраций предельно допустимых значений в пищевых продуктах и объектах окружающей среды. Совершенствование известных флуориметрических способов определения тетрациклинов с использованием наночастиц серебра является задачей настоящего исследования.

Материалы и методы

Реактивы. Доксициклин фирмы «Sigma», содержание основного вещества не менее 98%. Исходный раствор с концентрацией $1.0 \cdot 10^{-2}$ М готовили растворением точной навески в 0.1 М HCl; кислота уксусная, ГОСТ 61-75, х.ч.; аммиак водный, ГОСТ 3760-79, ч.д.а.; вода бидистиллированная ГОСТ 6709-72; серебро азотнокислое

99,9% ч.д.а. «РеаХим»; натрий лимоннокислый трехзамещенный 5,5-водный, ч.д.а., «РеаХим»; боргидрид натрия, х.ч., «РеаХим»; нитратевропия (III) шестиводный, 99.9% , «AcrosOrganics».

Аппаратура и техника измерений. Спектры флуоресценции регистрировали на спектрофлуориметре CaryEclipse «AgilentTechnologies» (Австралия) с источником возбуждения – импульсной ксеноновой лампой. Ширина щели возбуждения – 10 нм, флуоресценции – 20 нм. Скорость регистрации спектров – 300 нм/мин. Измерения проводили в кварцевой кювете с толщиной слоя 1 см. Сигнал регистрировали под углом 90° к возбуждающему свету. Оптическую плотность растворов в видимой и УФ-области спектра измеряли на спектрофотометре UV-1800 «Shimadzu» (Япония) на кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1 см, «Shimadzu». Значение pH контролировали на pH-метре (pH-673 M) со стеклянным индикаторным электродом и хлоридсеребряным электродом сравнения. Электронные аналитические весы HR-200 фирмы «A&Dcompany», Япония. Измерение размера и ζ -потенциала наночастиц серебра проводили с помощью «ZetasizerNanoZS», Великобритания.

Наночастицы серебра синтезировали по методике [1]: смешивали 1 мл раствора AgNO_3 (10 мМ), 1 мл цитрат-иона (500 мМ) и 47 мл бидистиллированной воды в течение 10 мин при комнатной температуре, добавляли 600 мкл NaBH_4 (10 мМ). Реакция восстановления продолжалась 30 мин, оставляли в холодильнике на 10–12 часов для завершения роста наночастиц. Концентрацию наночастиц рассчитывали согласно закону Бугера – Ламберта – Бера, где ϵ равно $2,87 \cdot 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ [2].

Результаты и их обсуждение

Свойства наночастиц серебра. Полученные наночастицы серебра (AgNPs) стабилизированы цитрат-ионом. Известно, что на положение полосы ППР наночастиц влияют характеристики индивидуальных частиц и диэлектрические свойства окружающей среды [3]. Нами установлена корреляция результатов структурно-фазовых и оптических исследований образцов полученных коллоидных растворов серебра. Так, в спектрах поглощения (рис. 1) синтезированных наночастиц присутствует ярко выраженная резонансная полоса ППР. Сравнительный анализ результатов просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) и оптической спектроскопии коллоидных растворов позволяет отметить период активного формирования наночастиц (первые 24 часа),



который сопровождается значительным увеличением оптической плотности и bathochromным смещением положения полосы ППР на 15 нм. В последующие 14 дней изменения в спектрах не значительны. По данным ПЭМ, полученные наночастицы имеют сферическую форму, узкий диапазон распределения по размерам со средним диаметром 20 ± 1.5 нм, ζ -потенциал – 30 мВ. Стабильность характеристик сохраняется в течение 14 суток.

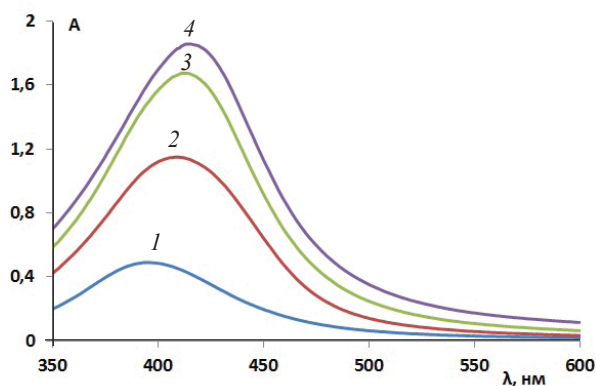


Рис. 1. Спектры поглощения наночастиц серебра, стабилизатор – цитрат-ион, полученные: 1 – через 20 мин после синтеза, 2 – 24 ч, 3 – 14 сут, 4 – 30 сут. $C_{\text{НЧ}} = 2 \cdot 10^{-4}$ М

Флуориметрические свойства доксициклина. Спектр флуоресценции ДЦ характеризуется невысокой интенсивностью ($\lambda_{\text{возб}} 390$ нм, $\lambda_{\text{фл}} = 520\text{--}550$ нм). Известно [4], что усиление собственной флуоресценции молекулы на поверхности наночастицы серебра возможно, если спектр ППР наночастиц перекрывается со спектром возбуждения флуоресцирующей молекулы (рис. 2). В случае сорбции молекул ДЦ на поверхности наночастицы серебра можно ожидать усиление сигнала флуоресценции ДЦ в результате межмолекулярного переноса энергии возбуждения. Однако в условиях высокой плотности заряда стабилизатора цитрат-ионов значительное расстояние между анионами тетрациклина и поверхностью наночастиц препятствует их взаимодействию и проявлению влияния локального поля поверхностного плазмона на флуориметрические свойства молекулы антибиотика. В таких условиях интенсивность флуоресценции ДЦ практически не изменяется.

Модификация наночастиц серебра ионами европия. С целью сокращения расстояния между донором энергии (металлической поверхностью) и акцептором (ДЦ) осуществлена модификация поверхности наночастиц серебра ионами Eu^{3+} .

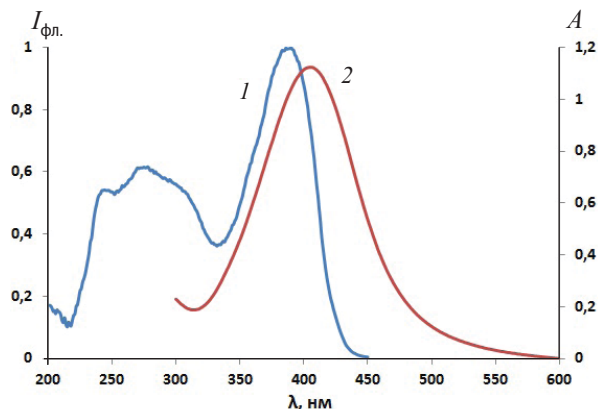


Рис. 2. Спектр возбуждения ДЦ (1); спектр поглощения наночастиц серебра (2). $C_{\text{AgNPs}} = 2 \cdot 10^{-4}$ М, $C_{\text{ДЦ}} = 1 \cdot 10^{-5}$ М

Известно [5], что ДЦ образует хелат с ионами европия, который характеризуется переносом энергии возбуждения. Особенностью комплексообразования является появление в спектре флуоресценции ДЦ новой полосы, характерной для эмиссии иона Eu^{3+} ($\lambda_{\text{фл}} = 615$ нм). Механизм возникновения сенсibilизированной флуоресценции заключается в поглощении электромагнитного излучения молекулой ДЦ и дальнейшего внутримолекулярного переноса энергии возбуждения на излучательные уровни иона редкоземельного элемента (РЗЭ) с последующей его флуоресценцией. Спектр флуоресценции комплексов Eu^{3+} характеризуется узкой полосой с $\lambda_{\text{фл}} = 615$ нм (${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_2$ переход). При этом интенсивность сенсibilизированной флуоресценции превышает собственную люминесценцию антибиотика и эмиссию самого иона Eu^{3+} до 30 раз. В то же время интенсивность флуоресценции бинарного комплекса европия с тетрациклином недостаточно высока для его эффективного использования во флуориметрическом определении остаточных содержаний антибиотиков в пищевых продуктах и биологических жидкостях. Использование наночастиц благородных металлов во флуориметрии позволяет в некоторых случаях увеличить сигнал эмиссии флуоресцирующих молекул [4].

Модификация наночастиц серебра ионами Eu^{3+} заключается в следующем: в пробирки объемом 2 мл вносят 1 мл раствора наночастиц серебра $2 \cdot 10^{-4}$ М, 1 мл Eu^{3+} 10^{-2} М, перемешивают и центрифугируют (12000 об/мин) 20 мин. Осадок модифицированных наночастиц растворяют в спирте (2 мл).

Нами установлено, что ζ -потенциал модифицированных наночастиц зависит от концентрации ионов Eu^{3+} в растворе (рис. 3). При увели-

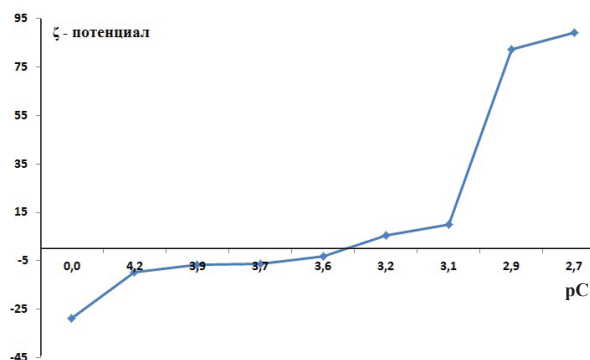


Рис. 3. Зависимость ζ -потенциала наночастиц серебра от концентрации ионов Eu^{3+} . $C_{ДЦ} = 7,5 \cdot 10^{-5}$ М

чении концентрации ионов металла ζ -потенциал наночастиц возрастает от -30 мВ до нулевого значения ($4 \cdot 10^{-4}$ М Eu^{3+}) и в условиях дальнейшего роста концентрации РЗЭ ($1,25 \cdot 10^{-3}$ М Eu^{3+}) значение потенциала увеличивается ($+85$ мВ), что обуславливает высокую стабильность коллоидной системы.

Комплексообразование положительно заряженной наночастицы серебра, модифицированной ионами европия, с анионами доксициклина способствует сближению компонентов, значительному повышению эффективности как межмолекулярного, так и внутримолекулярного переносов энергии возбуждения и усилению сигнала сенсibilизированной флуоресценции образующегося хелата. способствует также участие цитрат-иона в образовании разнолигандного комплекса европия с ДЦ.

Образование комплексов с переносом энергии в исследуемой системе подтверждается появлением в спектре флуоресценции ДЦ характерной полосы сенсibilизированной эмиссии РЗЭ ($\lambda_{фл} = 615$ нм, $\lambda_{возб} = 397$ нм). Установлено, что флуоресценция в растворе ДЦ в присутствии модифицированных наночастиц серебра увеличивается в 10 раз (рис. 4).

Изучены оптимальные условия получения максимального сигнала сенсibilизированной флуоресценции ДЦ в присутствии модифицированных наночастиц. Установлено, что интенсивность флуоресценции зависит от кислотности среды (рис. 5) и концентрации серебряных наночастиц.

Методика определения ДЦ. На основании проведенных исследований разработана флуориметрическая методика определения ДЦ в лекарственном препарате «Доксициклин» (ООО «Озон»). Методика определения: 5 таблеток препарата растирают в ступке, навеску, соответ-

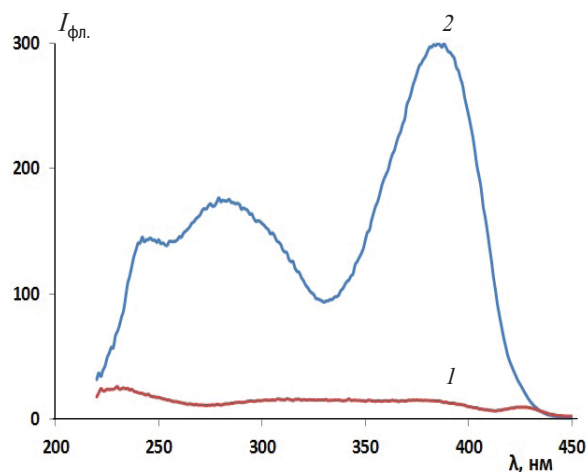


Рис. 4. Спектр возбуждения ДЦ в отсутствие (1) и в присутствии наночастиц серебра, модифицированных ионами Eu^{3+} (2). $C_{AgNPs} = 3,8 \cdot 10^{-7}$ М, $C_{Eu^{3+}} = 2,5 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{ДЦ} = 1 \cdot 10^{-6}$ М, $\lambda_{фл} = 615$ нм

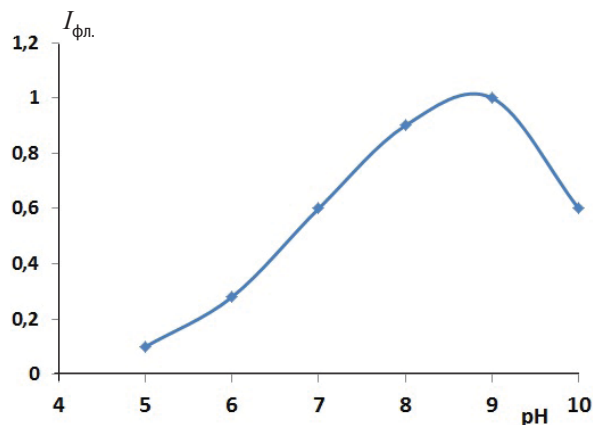


Рис. 5. Влияние кислотности среды на интенсивность флуоресценции ДЦ в присутствии модифицированных наночастиц серебра. $C_{ДЦ} = 1 \cdot 10^{-6}$ М, $C_{AgNPs} = 3,8 \cdot 10^{-7}$ М. $\lambda_{возб} = 395$ нм, $\lambda_{фл} = 615$ нм

ствующую одной таблетке, растворяют в колбе емкостью 25 мл, отделяют раствор фильтрованием (фильтр с синей лентой).

К аликвотной части раствора, предварительно разбавленного в 100 раз, добавляют 1 мл буфера (pH 9), 0,4 мл $2 \cdot 10^{-4}$ М модифицированных наночастиц серебра, 0,4 мл $7,5 \cdot 10^{-5}$ М Eu^{3+} , буфер до 4,0 мл. Измеряют интенсивность флуоресценции с временной задержкой 0,03 мс ($\lambda_{возб} = 397$ нм, $\lambda_{фл} = 615$ нм) и по градуировочному графику определяют содержание ДЦ в лекарственном препарате.

Кроме ДЦ в состав таблетки входит крахмал. Установлено, что при данных соотношениях крахмал не оказывает мешающего действия.



Диапазон определяемых концентраций составляет $5 \cdot 10^{-8} - 6 \cdot 10^{-5} \text{M}$. Предел обнаружения (3σ) $2 \cdot 10^{-8} \text{M}$, $S_r = 0.11$.

В табл. 1 представлены результаты определения ДЦ в лекарственном препарате. Правильность контролируют методом «введено – найдено» (табл. 2).

Таблица 1

Результаты определения доксициклина в лекарственном препарате «доксициклин» (ООО «Озон») ($n = 3, p = 0,95$)

Заявленное содержание, мг	Найдено, мг	
	$x \pm \Delta x$	S_r
100	103 ± 14	0.11

Таблица 2

Контроль правильности определения доксициклина методом «введено – найдено» ($n = 3, p = 0,95, t_{\text{табл.}} = 4,30$)

Введено, мг	Найдено, мг	S_r	$t_{\text{экспер}}$
8	8.2 ± 1.6	0.27	2.1
11	11.2 ± 2.8	1.2	2.8
57	49.8 ± 8.9	3.6	3.7

Выводы. Установлено, что эффект увеличения интенсивности флуоресценции раствора ДЦ в 10–30 раз в присутствии наночастиц серебра достигается только в случае предварительной модификации поверхности наночастиц ионами Eu^{3+} .

На основании проведенных исследований предложена флуориметрическая методика определения ДЦ, апробированная в анализе лекарственного препарата. Диапазон определяемых концентраций $5 \cdot 10^{-8} - 6 \cdot 10^{-5} \text{M}$. Предел обнаружения (3σ) составляет $2 \cdot 10^{-8} \text{M}$, $S_r = 0.11$.

Список литературы

1. *Tan H., Chen Y.* Silver nanoparticle enhanced fluorescence of europium (III) for detection of tetracycline in milk // *Sens. Actuators. B.* 2012. Vol. 173. P. 262–267.
2. *Штыков С. Н., Русанова Т. Ю.* Наноматериалы и нанотехнологии в химических и биохимических сенсорах: возможности и области применения // *Рос. хим. журн.* 2008. Т. LII, № 2. С. 92–100.
3. *Шевцова В. И., Гайду П. И.* Положение полосы поверхностного плазмонного резонанса в коллоидных растворах наночастиц серебра и золота // *Вестн. БГУ. Сер. 1.* 2012. № 2. С. 15–18.

4. *Ghosh D., Chattopadhyay N.* Gold and silver nanoparticle based Superquenching of fluorescence : Areview // *J. Lumin.* 2015. Vol. 160. P. 223–232.
5. *Смирнова Т. Д., Штыков С. Н., Кочубей В. И., Хрячкова Е. И.* Перенос энергии возбуждения в хелате европия с доксициклином в присутствии второго лиганда в мицеллярных растворах неионогенных ПАВ // *Оптика и спектроскопия.* 2011. Т. 110, № 1. С. 65–71.

Luminescent Properties of Doxycycline in the Presence of Silver Nanoparticles Modified by Ions of Europium

T. D. Smirnova, E. A. Zhelobitskaya, T. G. Danilina

Tatyana D. Smirnova, ORCID 0000-0002-3391-1092, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, smirnovatd@mail.ru

Elena A. Zhelobitskaya, ORCID 0000-0001-9918-3465, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, elen34444046@mail.ru

Tatiana G. Danilina, ORCID 0000-0001-7956-2716, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, danilina.tatyana.a@gmail.com

Fluorescence spectroscopy is a routine tool for studying cellular and molecular visualization, flow cytometry, medical diagnosis, forensic medical examination, genetic analysis, and also an analytical method. However, most available organic dyes used to produce an optical signal have a number of important limitations, such as hydrophobicity, low quantum yield, and low photostability. Further development of the luminescent method associated with the improvement of existing fluorophores is not always effective, so in recent years researchers have turned to the use of various nanomaterials that are used as nanoreactors or participants in the donor electron acceptor pair of electron excitation energy. Of particular interest are metallic nanoparticles that can increase or decrease the fluorescence lifetime of fluorophores, increase the efficiency of resonant energy transfer in the donor-acceptor system as a result of the interaction of the excited state of a fluorophore with free electrons in metal nanoparticles. In the present work, the influence of silver nanoparticles on the fluorescent properties of doxycycline (DC) and its complex with europium is considered. The nanoparticles obtained are spherical, a narrow range of size distribution with an average diameter of $20 \pm 1.5 \text{ nm}$, and a ζ -potential of -30 mV . The stability of the characteristics is maintained for 14 days. In order to reduce the distance between the metal surface and the DC molecule, the silver nanoparticles are modified by europium ions. Earlier we showed that the DC forms a chelate with europium ions, which is characterized by the transfer of excitation energy. A peculiarity of complexation is the appearance in the fluorescence spectrum of a new band, which is characteristic for the emission of the europium ion ($\lambda_{\text{em}} = 615 \text{ nm}$). We have established, that the ζ -potential of modified nanoparticles depends on the concentration of europium ions in the solution. In the presence of europium ions, the ζ -potential of the nanoparti-



cles increases from -30 mV to zero ($4 \cdot 10^{-4} \text{M Eu}^{3+}$) and under the conditions of further growth of the metal ion concentration (up to $1.25 \cdot 10^{-3} \text{M}$) the potential value increases (+85 mV), which causes a high stability of the colloidal system. We have established, that the signal of sensitized fluorescence in the presence of modified nanoparticles depends on the acidity of the medium and the con-

centration of silver nanoparticles. Optimal conditions for obtaining the maximum analytical signal are found.

Based on the studies carried out, a fluorimetric method for determination of DC in the drug "Doxycycline", LLC "Ozone" was developed.

Key words: doxycycline, luminescence, europium, silver nanoparticles.

Образец для цитирования:

Смирнова Т. Д., Желобицкая Е. А., Данилина Т. Г. Люминесцентные свойства доксициклина в присутствии наночастиц серебра, модифицированных ионами европия // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 370–375. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-370-375.

Cite this article as:

Smirnova T. D., Zhelobitskaya E. A., Danilina T. G. Luminescent Properties of Doxycycline in the Presence of Silver Nanoparticles Modified by Ions of Europe. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 370–375 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-370-375.



УДК 543. 25

О ВЗАИМОДЕЙСТВИИ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПИЩЕВОГО КРАСИТЕЛЯ E133 С КАТИОНАМИ ЦЕТИЛПИРИДИНИЯ



К. В. Стрелкова, О. В. Варыгина, Р. К. Чернова, О. Е. Коблова, А. Ю. Кострицкий

Стрелкова Кристина Викторовна, студент Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: tikoo95@ya.ru

Варыгина Ольга Владимировна, инженер кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: varigini@mail.ru

Чернова Римма Кузьминична, профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: chernov-ia@yandex.ru

Коблова Ольга Евгеньевна, инженер кафедры общей и неорганической химии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: Kablovaoe@mail.ru

Кострицкий Александр Юрьевич, магистр Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: sanok1993@mail.ru

Показано, что в водных растворах краситель существует в анионной форме и устойчив в интервале pH 3–9. При определенных условиях E133 образует гидрофобные трудно растворимые в воде осадки с катионами ПАВ, например цетилпиридиния (ЦП), которые представляют интерес как ионофоры для получения ион-селективных электродов; исследованы условия образования ассоциата синтетического пищевого красителя E133 с катионами цетилпиридиния. Методом спектра мутности оценен размер частиц дисперсной фазы при образовании ассоциата E133 (ЦП)₂, составивший 95 нм; показана агрегация частиц ассоциата с увеличением их размера до 220 нм. Показано растворение (диспергирование частиц) ассоциата при увеличении концентрации ЦП до ККМ. Дано объяснение наблюдаемому явлению с позиции гидрофобных взаимодействий ионов ПАВ, приводящих к

образованию заряженных ассоциатов более сложного состава и процессам солюбилизации ассоциата в мицеллах ПАВ. Брутто-формула ассоциата E133 (ЦП)₂ подтверждена данными элементного анализа. Для оценки брутто-формулы ассоциата проведен его элементный анализ. Экспериментальные значения данных элементного анализа получены усреднением двух параллельных определений. Найдено, %: С 66.7; Н 7.6; N 3.9; S 6.0. Вычислено, %: С 67.8; Н 8.4; N 4.1; S 7.0. Расхождение экспериментальных данных, % (ΔC 1.1, ΔH 1.0, ΔN 1.1, ΔS 1.2) с теоретическими не превышало 1.5%. Проведено ЯМР спектроскопическое и термogravиметрическое изучение ассоциата. Полученные данные подтверждают наличие в составе ассоциата как ионов цетилпиридиния, два синглета (1.79 и 9.08 м.д.), характерные для катиона ЦП: один дублет CH_2 протонов (3.63 и 3.62 м.д.), один синглет протонов (4.70 м.д.), так и красителя E133 (набор сигналов различной мультиплетности, характеризующих строение красителя E133 (6.71–8.22 м.д.). Рассмотрены особенности термического поведения ассоциата. Термический анализ ассоциата показал, что образец содержит воду ($\approx 2\%$), которая удаляется в интервале температур 60–140°C. Выше 140–260°C (удаление воды) начинается разложение образца.

Ключевые слова: пищевой краситель E133, цетилпиридиний хлорид, ионный ассоциат, ионофор.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-376-381

Синтетический пищевой краситель (СПК) α -[4-(N-Этил-3-сульфобензиламино)фенил]- α -[4-(N-этил-3-сульфобензилимино) циклогекса-2,5-диенилиден] толуол-2-сульфонат динатриевая соль (синий блестящий FCF, код E133) является одним из часто употребляемых в технологиях производства пищевых продуктов красителей, разрешенных к использованию в странах РФ, ЕС, США (по данным [1, 2]) (рис. 1).

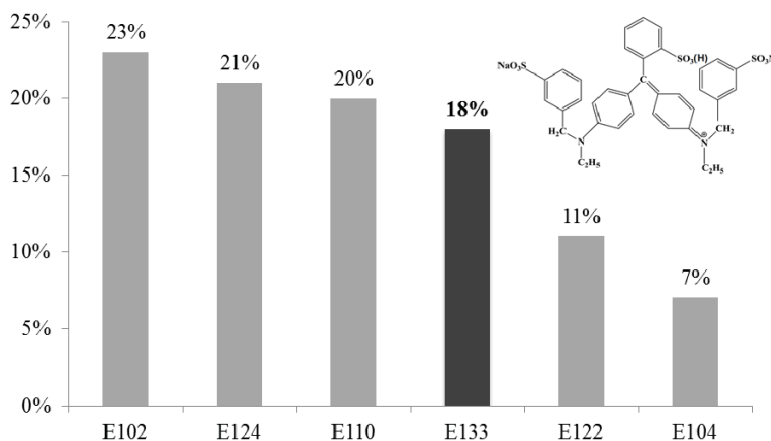
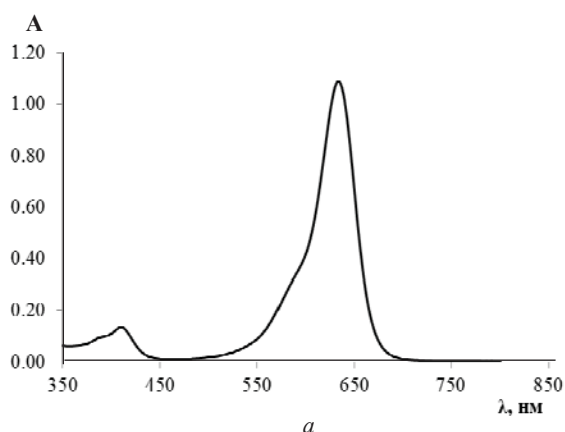


Рис. 1. Частота использования СПК в пищевых продуктах



Электронный спектр поглощения красителя приведен на рис. 2.

В водных растворах краситель существует в анионной форме и устойчив в интервале pH 3–9. При определенных условиях E133 образует гидрофобные трудно растворимые в воде осадки с катионами ПАВ, например ЦП, которые представляют интерес как ионофоры для получения ион-селективных электродов [2].



Для красителя E133 в связи с особенностями его строения предварительными исследованиями было установлено, что с катионами ЦП осадок E133 (ЦП)₂ образуется не всегда, он способен растворяться при небольших избытках ПАВ разного типа.

В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение условий образования и свойств ассоциата красителя E133 и катионного ПАВ – цетилпиридиний хлорида.

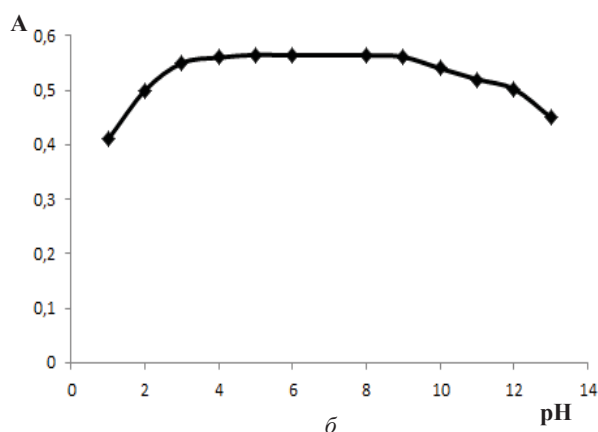


Рис. 2. Электронный спектр поглощения (а) водного раствора E133; б – зависимость A–pH ($\lambda_{\max}=629$ нм, $C_{E133}=5$ мг/л; водные растворы E133)

Материалы и методы

При выполнении работы использовались следующие реагенты и растворы: краситель «синий блестящий» (E133) «Merck», Германия (ч.д.а.); цетилпиридиния хлорид (ЦПХ) Fluka «Bio Chemia», Швейцария (ч.д.а.); дистиллированная вода ГОСТ 6709-77.

Для приготовления исходных растворов ($1 \cdot 10^{-2}$ М) навески красителя E133 ($m = 0.1980$ г) и цетилпиридиния хлорида ($m = 0.0900$ г) помещали соответственно в две мерных колбы вместимостью 25 см^3 , доводили до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивали.

Получение ассоциата красителя E133 с катионом цетилпиридиния: в стеклянную пробирку вместимостью 20 см^3 помещали 5.0 см^3 раствора красителя E133 ($1 \cdot 10^{-2}$ М) и 10.0 см^3 раствора ЦПХ ($1 \cdot 10^{-2}$ М), перемешивали и оставляли на несколько минут. В результате образовывался осадок темно-синего цвета, вязкой консистенции. Осадок отделяли центрифугированием, промывали методом декантации и высушивали на воздухе при комнатной температуре 5 дней до постоянной массы.

Элементный анализ осадка проводили на элементном анализаторе Vario MICRO Cube Elementar, Германия. Определялось содержание C, H, N, S.

ЯМР ^1H спектроскопическое исследование проводили на приборе Varian VNMR-400 при температуре 25°C , растворитель – дейтерированный хлороформ CDCl_3 .

Термическое поведение ассоциата изучали на дериватографе OD-102 с ПО «Paulik-Paulik-Erdey», с Pt-Rh термопарой, эталон – прокаленный оксид алюминия; масса исследуемого образца составляла 0.2 г, скорость нагрева 10 град/мин в интервале температур 0 – 1000°C . Регистрировали кривые: тепловых эффектов реакции ($\Delta T/\Delta t$, ДТА); изменения температуры во времени (Т); изменения массы образца при повышении температуры (ТГ).

С помощью температурной кривой (Т) определяли температуру в заданный момент времени проведения согласно схеме анализа (рис. 3).

Оптические свойства коллоидных растворов в систем (E133⁻) – (ЦП⁺) изучали методом спектроурбидиметрии дисперсных систем (метод спектра мутности) с использованием фотоэлектрического концентрационного колориметра КФК-2-УХЛ 4.2.

Результаты и их обсуждение

Для выяснения оптимальных условий образования твердой фазы в системе (E133⁻) – (ЦП⁺) нами был применен метод спектра мутности [4],

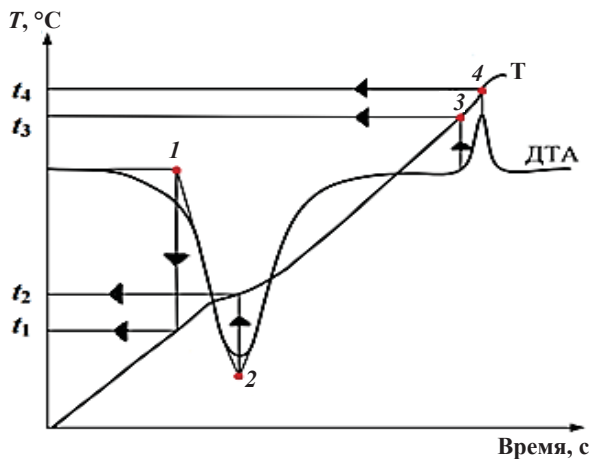


Рис. 3. Схема определения температур по кривой (Т): 1, 2 – точки, соответствующие температурам начала (t_1) и минимума (t_2) эндотермического эффекта; 3, 4 – точки, соответствующие температурам начала (t_3) и максимума (t_4) экзотермического эффекта

который позволяет определять средние размеры коллоидных частиц в растворах и оценивать их распределение по размерам.

По значениям оптических плотностей (A) (см. рис. 2) при рН 6–7 и равномолярных концентрациях красителя Е133 и ЦПХ $1 \cdot 10^{-4}$ М определяли мутность системы τ :

$$\tau_i = (2.3 \cdot A_i) / l,$$

где l – толщина поглощающего слоя.

Спектры мутности регистрировали сразу и через 1 час после сливания исходных растворов в интервале длин волн от 720 до 900 нм, в котором отсутствует поглощение, а имеет место лишь рассеивание света.

Строили зависимость $\lg \tau - \lg \lambda$ (рис. 4), затем по tg угла наклона прямых рассчитывали волновой экспонент (показатель длины волны n из уравнения Ангстрема: $\tau = A \cdot \lambda^{-n}$). В зависимости от значения n радиус частиц дисперсной фазы рассчитывали либо по формуле (1) либо (2):

$$r = \frac{\alpha \lambda_{\text{ср}}}{2\pi \mu_1} \quad (1), \quad r = \frac{\rho \lambda_{\text{ср}}}{4\mu_1(m-1)} \quad (2), \quad \lambda_{\text{ср}} = \sqrt{\lambda_{\sigma} \cdot \lambda_{\text{м}}} \quad (3)$$

где μ_1 – показатель преломления дисперсионной среды, $\lambda_{\text{ср}}$ – соответствует середине диапазона используемых длин волн (3), где λ_{σ} – максимальная, $\lambda_{\text{м}}$ – минимальная длины волн в диапазоне построения спектров мутности; α – относительный размер частиц; ρ – фазовый сдвиг, m – относительный показатель преломления.

Так, при $2 < n < 4$ для расчета r применяли формулу (1). В диапазоне $2 < n < 4$ параметр α рассчитывали по формуле Хеллера: $n = 4 - 0.68\alpha^{2.2}$.

Изучение спектра мутности системы Е133-ЦП в водной среде показало, что при сливании эк-

вимолярных растворов красителя Е133 и ЦПХ $1 \cdot 10^{-4}$ М в соотношении 1:2 [3] образуется коллоидный раствор с радиусом частиц 95 нм, спустя час происходит агрегация частиц, и радиус их увеличивается до 222 нм (см. рис. 4, а, б).

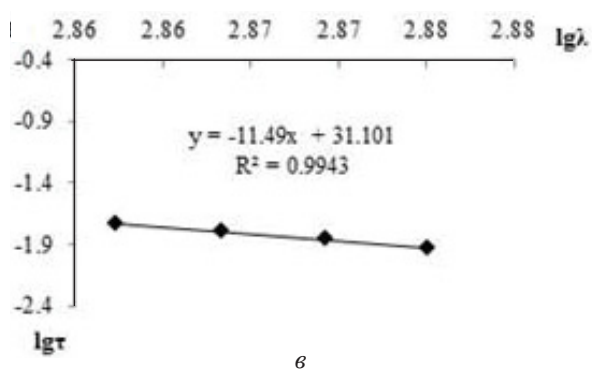
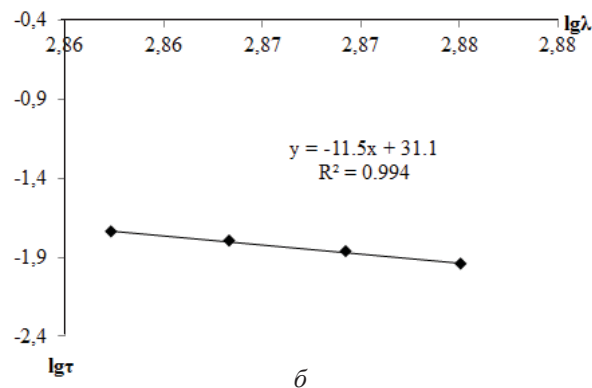
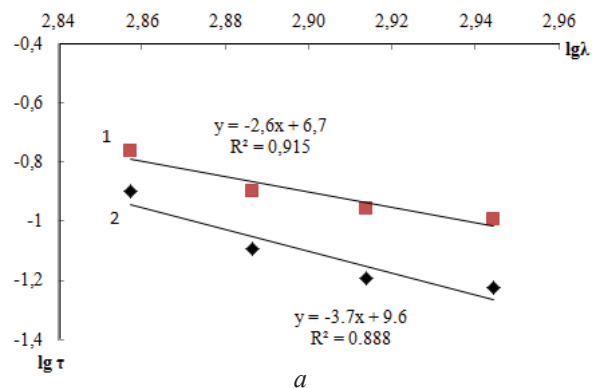


Рис. 4. Спектр мутности для системы Е133-ЦП: а – непосредственно после сливания растворов ($1 \cdot 10^{-4}$ М) (2); спустя час после сливания растворов ($1 \cdot 10^{-4}$ М) (1); б – при сливании раствора красителя Е133 ($1 \cdot 10^{-4}$ М) с раствором ЦП ($1 \cdot 10^{-4}$ М); в – при сливании раствора красителя Е133 ($1 \cdot 10^{-4}$ М) с раствором ЦП ($1 \cdot 10^{-2}$ М)

Изучали также спектр мутности системы Е133-ЦП при увеличении концентрации ЦП на два порядка (см. рис. 4, в). При сливании раствора красителя Е133 ($1 \cdot 10^{-4}$ М) с раствором ЦП



($1 \cdot 10^{-2}$ М) в соотношении 1:2 наблюдали диспергирование ионного ассоциата, спектр мутности получить не удалось, что свидетельствует об уменьшении размера частиц дисперсной фазы (приближение к молекулярной степени дисперсности). Выпадения осадка не наблюдалось, и система становилась агрегативно устойчивой длительное время.

Полученные данные подтверждают образование ассоциата с молярным соотношением компонентов E133:ЦП = 1:2 [3] и находят объяснение с учетом особенности строения красителя. Образование ионного ассоциата с молярным соотношением компонентов E133:ЦП = 1:2, а не 1:3 при наличии трех сульфогрупп, обусловлено стерическими и электронными факторами, связанными с особенностями строения молекулы красителя E133. Наличие положительно заряженного карбениевого катиона оказывает значительное влияние, снижая отрицательный заряд на сульфогруппе в орто-положении и, являясь ориентантом второго рода, направляет реагирующий катион ЦП в мета-положение. К тому же орто-положение сульфогруппы стерически не выгодно для подхода катиона ЦП с объемным углеводородным радикалом. В связи с этим образование ионного ассоциата осуществимо только по двум сульфогруппам в мета-положении.

Диспергирование частиц ассоциата, наблюдаемое при избытках ПАВ (концентрация вблизи ККМ) и подтвержденное методом спектра мутности, – явление достаточно типичное в системах: ассоциаты органических реагентов с ПАВ.

Причиной этого при небольших избытках ПАВ могут быть гидрофобные взаимодействия ионов ПАВ, приводящие к образованию не нейтральных, как в данном случае ионных ассоциатов, а заряженных «ионных тройников», которые менее подвержены агрегации. В присутствии неионных ПАВ или больших концентраций ионных ПАВ растворение осадка ассоциата происходит вследствие его солюбилизации в мицеллах ПАВ [5].

Для оценки брутто-формулы ассоциата проводился его элементный анализ. Экспериментальные значения данных элементного анализа получены усреднением двух параллельных определений.

Найдено, %: С 66.7; Н 7.6; N 3.9; S 6.0. Вычислено, %: С 67.8; Н 8.4; N 4.1; S 7.0. Расхождение экспериментальных данных, % (Δ С 1.1, Δ Н 1.0, Δ N 1.1, Δ S 1.2) с теоретическими не превышало 1.5%, что является допустимым и подтверждает полученные нами ранее данные о составе ассоциата как E133(ЦП)₂ [4].

Проводилось также ЯМР ¹H спектроскопическое исследование ассоциата. На рис. 5 приведен ЯМР-спектр в интервале 1.0–9.6 м.д., на котором присутствуют два синглета (1.79 и 9.08 м.д.) характерные для катиона ЦП: один дублет СН₂ протонов (3.63 и 3.62 м.д.), один синглет протонов (4.70 м.д.) и набор сигналов различной мультиплетности, характеризующих строение красителя E133 (6.71–8.22 м.д.). Полученные данные подтверждают наличие в составе ассоциата как ионов цетилпиридиния, так и красителя E133.

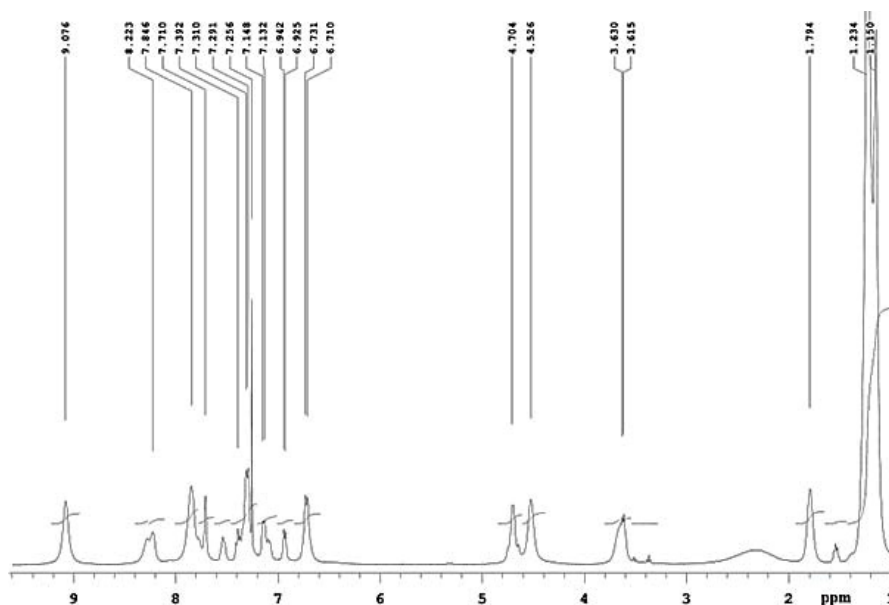


Рис. 5. ЯМР-спектр ассоциата E133(ЦП)₂ в CDCl₃



Термический анализ ассоциата (рис. 6) показал, что образец содержит воду ($\approx 2\%$), которая удаляется в интервале температур 60–140°C, о чем свидетельствует эндотермический эффект на кривой ДТА с минимумом при 100°C. Убыль массы, рассчитанная по кривой ТГ, составляет 5%. Безводное соединение мало устойчиво, о чем свидетельствует наклонная площадка кривой ТГ в интервале температур 140–260°C. Выше этой температуры начинается разложение образца: на кривой ТГ – отмечается убыль массы, на кривой ДТА – ряд небольших экзотермических эффектов

при 320, 360°C. Выше 500°C изменяется угол наклона кривой ТГ к нулевому положению и на кривой ДТА фиксируется резкий значительный экзотермический эффект окисления углеродсодержащих продуктов разложения. Выгорание образца происходит полностью, минерального остатка не обнаружено.

Как видно из приведенных данных, ассоциат устойчив при температуре не выше 100°C, что следует учитывать, в частности, при изготовлении ион-селективных мембран с включением данного ассоциата в качестве ионофора.

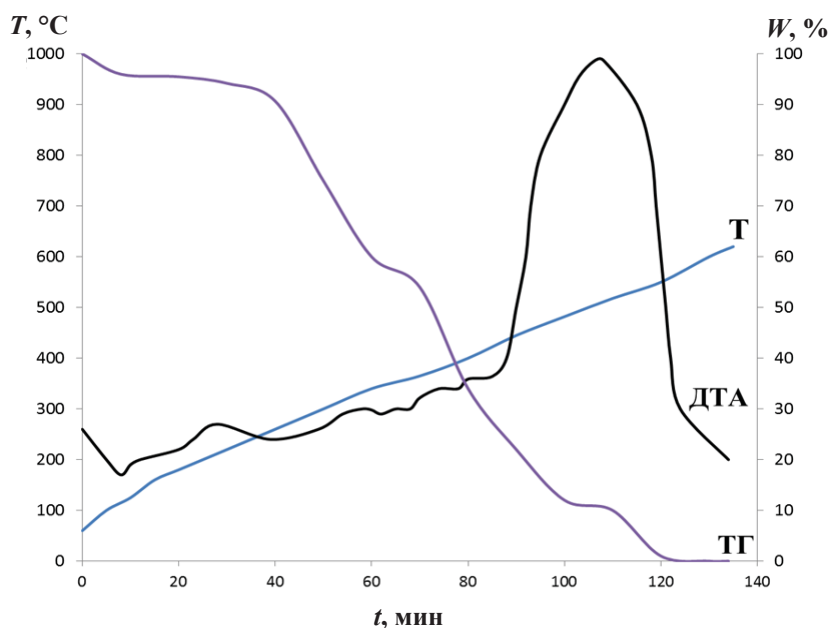


Рис. 6. Термогравиметрические кривые образца ионного ассоциата E133(ЦП)₂

Выводы

1. Методом ЯМР ¹H спектроскопии установлено наличие в составе ассоциата фрагментов катиона ЦП и красителя E133.

2. Методом элементного анализа подтверждена брутто-формула ассоциата E133 (ЦП)₂.

3. Методом спектра мутности оценен размер частиц дисперсной фазы при образовании ассоциата E133 (ЦП)₂, составивший 95 нм, показана агрегация частиц ассоциата с увеличением их размера до 220 нм.

4. Показано растворение (диспергирование частиц) ассоциата при увеличении концентрации ЦП до ККМ. Дано объяснение наблюдаемому явлению с позиции гидрофобных взаимодействий ионов ПАВ, приводящих к образованию заряженных ассоциатов более сложного состава и процессам сольubilизации ассоциата в мицеллах ПАВ.

5. Рассмотрены особенности термического поведения ассоциата E133(ЦП)₂ и найдена граница его термической устойчивости (до 100°C).

Список литературы

1. Шестопалова Н. Б. Системы НПАВ – H₂O – электролиты в мицеллярной экстракции и фотометрическом определении синтетических пищевых красителей : дис. ... канд. хим. наук. Саратов, 2014. 203 с.
2. Бессонов В. В. Разработка методов и системы гигиенического контроля за использованием красителей в производстве пищевой продукции : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2011. 48 с.
3. Кленин В. И. Практикум по коллоидной химии : метод. пособие. М. : Соль, 2008. 74 с.
4. Чернова Р. К., Варыгина О. В., Стрелкова К. В. Электростатические и гидрофобные взаимодействия в системе: синтетический пищевой краситель E133 – цетилпиридиний хлорид – H₂O // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 4. С. 382–388.



On Interaction of Synthetic Food Dye E133 with Cetylpyridinium Cations

K. V. Strelkova, O. V. Varygina, R. K. Chernova, O. E. Koblova, A. Yu. Kostritsky

Kristina V. Strelkova, ORCID 0000-0003-0391-7714, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, tikoo95@ya.ru

Olga V. Varygina, ORCID 0000-0003-3640-5299, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, varigini@mail.ru

Rimma K. Chernova, ORCID 0000-0002-1693-2836, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, chernov-ia@yandex.ru

Olga E. Koblova, ORCID 0000-0001-7718-6972, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, varigini@mail.ru

Alexander Yu. Kostritsky, ORCID 0000-0002-9154-3005, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, sanok1993@mail.ru

Synthetic food colorings (SPK) are widely used to impart consumer properties to food. But, many of them are allergens. Therefore, their definition in food objects is relevant. The rapid method of determining the SPK is ionometry. It is based on the use of ion-selective electrodes. Such an electrode for determining the food coloring E133 is not described in the literature. The purpose of this work is the study of the ionophore. Used to determine the E133 in a variety of food products. The objectives of this study were to establish the conditions for the formation of the dye associate E133 with cetylpyridinium cations (SP). Evaluation of the composition of the associate and the size of the cysts with its formation in time. For this, the following methods were used: NMR spectroscopy, elemental analysis, turbidity spectrum method. The presence of a cation of CP and E133 is established in the composition. The gross of the forum of associate E133 (CP) 2. It is shown that the particles of the precipitated asocyanate have an average size of 95 nm. Aggregation of particles within an hour increases their size to 220 nm. In excess of the CPU, the precipitate is soluble. The sediment is stable up to 100 C.

Key words: food coloring E133, cetylpyridinium chloride, ion associate, ionophore.

Образец для цитирования:

Стрелкова К. В., Варыгина О. В., Чернова Р. К., Коблова О. Е., Кострицкий А. Ю. О взаимодействии синтетического пищевого красителя E133 с катионами цетилпиридиния // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 376–381. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-376-381.

Cite this article as:

Strelkova K. V., Varygina O. V., Chernova R. K., Koblova O. E., Kostritsky A. Yu. On Interaction of Synthetic Food Dye E133 with Cetylpyridinium Cations. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 376–381 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-376-381.

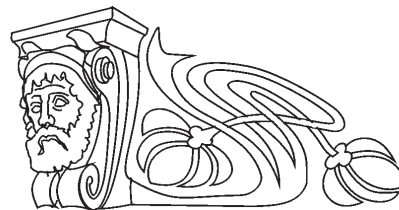


УДК [544.344.016+536.44]:[544.344.013-16-14+544.344.3]

ФАЗОВЫЕ РАВНОВЕСИЯ В ТРОЙНОЙ СИСТЕМЕ ИОДИД КАЛИЯ – ВОДА – ТРЕТИЧНЫЙ БУТИЛОВЫЙ СПИРТ ПРИ 5–30 °С

Т. М. Варламова

Варламова Тамара Михайловна, доцент кафедры общей и неорганической химии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат химических наук. E-mail: VarlamovaTM@info.sgu.ru



Визуально-политермическим методом в интервале 5–30 °С исследованы фазовые равновесия и критические явления в тройной системе иодид калия–вода–третичный бутиловый спирт. Построены политермы фазовых равновесий изученных сечений системы KI–H₂O–t-BuOH. Определена температура критической точки монотектического равновесия, соответствующая началу расслаивания в тройной системе. Установлены зависимости содержания иодида калия и третичного бутилового спирта в критических растворах от температуры. Результаты политермических исследований использованы для построения изотермических фазовых диаграмм тройной системы KI–H₂O–t-BuOH при различных температурах.

Ключевые слова: фазовые равновесия, критические явления, тройная система, фазовая диаграмма, монотектическое и эвтоническое равновесие, иодид калия, третичный бутиловый спирт.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-382-388

Настоящее исследование является продолжением работ по изучению фазовых диаграмм тройных систем иодид калия – вода – спирт (этиловый, пропиловый, изопропиловый) при 25 °С [1]. Данные системы входят в состав четверных систем иод-иодид калия – вода – спирт, изучение которых является актуальным и представляет практический интерес при разработке методологии направленного выбора оптимального растворителя вода – спирт, обладающего наиболее высокой иодрастворяющей способностью [2]. Кроме того, системы иод – иодид – растворитель являются перспективным объектом исследования в электротехнике в качестве электролитных композиций для химических источников тока, молекулярных сенсоров и т.д. Технологические процессы с использованием иодидов различных металлов нашли применение для извлечения и рафинирования металлов, пропитки иодных фильтров в ядерных установках для улавливания радиоактивного иода из газообразных отходов [3].

В работе [1] дана сравнительная характеристика изменения растворимости иодида калия в смесях вода – спирт (этиловый, пропиловый, изопропиловый) в широком концентрационном

интервале. Линии растворимости на концентрационных треугольниках этих систем непрерывны, что отвечает кристаллизации в них одной твердой фазы – иодида калия. Проведенное исследование выявило, что в системах иодид калия – вода – спирт при 25 °С происходит монотонное уменьшение растворимости соли с увеличением массового содержания спирта в смешанном растворителе. Такая закономерность изменения растворимости иодида калия в водно-спиртовых растворах позже была объяснена нами с позиций экспериментальных результатов изучения ассоциации в смесях вода – спирт методами спектроскопии, квантовой химии, и подтверждена методом ЯМР-спектроскопии в [4].

Диаграмма растворимости системы иодид калия – вода – третичный бутиловый спирт при 25 °С отличается от ранее изученных диаграмм растворимости систем иодид калия – вода – спирт в [1] и относится к диаграммам тройных систем с высаливанием. Последнее, очевидно, связано как со строением индивидуальных спиртов, так и с данными о составе, строении, полярности и устойчивости водно-спиртовых ассоциатов [4]. Кроме того, известно [5], что третичный бутиловый спирт заметно слабее ассоциирован в жидком состоянии, чем спирты нормального строения. Поэтому процесс растворения воды в нем приобретает некоторые черты процесса растворения ассоциированной жидкости в неполярном растворителе, в частности, происходит возрастание эндотермичности растворения воды в спирте при уменьшении ее концентрации [6]. Принимая во внимание вышесказанное, наблюдаемое явление высаливания в системе KI–H₂O–t-BuOH при 25 °С обусловлено, по видимому, уменьшением прочности межмолекулярных водородных связей компонентов смешанного растворителя.

Настоящая работа посвящена исследованию фазовых равновесий и построению изотермических фазовых диаграмм тройной системы



KI–H₂O–t-BuOH в интервале 5–30°C. Обзор литературы выявил наличие единичного сообщения по изучению растворимости иодида калия в смесях вода – третичный бутиловый спирт при 30°C [7]. К сожалению, в этой работе не указаны время и методы контроля установления термодинамического равновесия, а также не описаны фазовые состояния в системе KI–H₂O–t-BuOH при температуре исследования.

Экспериментальная часть

Подготовку иодида калия осуществляли, как описано в [8]. Третичный бутиловый спирт квалификации «х.ч.» (содержание основного вещества не менее 99.7 %) дополнительной очистке не подвергали. Содержание воды в спирте, измеренное методом хромато-масс-спектрометрии на газовом хроматографе модели «Agilent 6890» с МС-детектором «Agilent 6974N», составило 0.19 масс. %. Погрешность определения не превышала 5% [9]. Полученное содержание воды в спирте учитывали при взвешивании бинарных смесей вода – третичный бутиловый спирт. Для работы использовали бидистиллированную воду. При выполнении эксперимента смеси компонентов заданного состава готовили взвешиванием в ампулах на аналитических весах ВЛР-200М с абсолютной точностью $\pm 5.0 \times 10^{-5}$ г. Относительная погрешность определения составов смесей, отвечающих точкам фазовых переходов, составила ± 0.5 –1%.

Для политермического исследования фазовых равновесий в системе KI–H₂O–t-BuOH использовали визуально-политермический метод [10]. Запаянные ампулы со смесями компонентов заданного состава выдерживали в ультратермостате Mechanik Medingen U-10 при периодическом перемешивании до установления равновесия, а затем поочередно помещали в термостатируемый химический стакан. Температуры фазовых переходов измеряли с погрешностью ± 0.1 °C калиброванными децимальными ртутными термометрами. Каждое значение температуры фазового перехода являлось средним результатом нескольких повторных измерений. Признаком установления равновесия в смесях жидкость – жидкость явилась воспроизводимость результатов измерений температур фазовых переходов при подходе к ним как со стороны более низких, так и более высоких температур. Равновесие в смесях жидкость – твердая фаза устанавливалось в течение семи дней. Температуры фазовых переходов с образованием/растворением твердой

фазы определяли только путем последовательного медленного нагревания при непрерывном интенсивном перемешивании содержимого ампул, отмечая визуально исчезновение последнего кристалла (в изучаемой системе твердая фаза, отвечающая иодиду калия, характеризовалась положительным температурным коэффициентом растворимости). Затем ампулы охлаждали до выпадения кристаллов, и опыт повторяли до получения результатов, совпадающих в пределах погрешности определения ± 0.1 °C.

Равновесную твердую фазу в смесях компонентов изучаемой системы идентифицировали методом термического анализа. Термограмму регистрировали на дериватографе Paulik-Paulik-Erdey OD-102 со скоростью нагрева образца 10 град/мин с постоянным сопротивлением в цепи ДТА – 1/10 и ДТГ – 1/10 в керамическом тигле. Навеска образца составляла $2 \cdot 10^{-4}$ кг, цена деления весовой шкалы $2 \cdot 10^{-6}$ кг, эталон – оксид алюминия. Абсолютная погрешность определения температуры равнялась ± 5 град. Твердая фаза по составу отвечала индивидуальной соли.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе нами проведено изучение растворимости смесей компонентов двойной системы H₂O–t-BuOH в интервале 5–30°C в области высоких концентраций спирта, поскольку такие данные в литературе отсутствуют. Полученные значения растворимости использованы в дальнейшем для построения фазовых диаграмм тройной системы KI–H₂O–t-BuOH при выбранных температурах.

Для изучения фазовых равновесий в системе KI–H₂O–t-BuOH в интервале 5–30°C исследовано достаточное количество смесей компонентов по шестнадцати сечениям треугольника состава. Для определения температуры критической ноды монотектического равновесия и в дальнейшем состава критической точки был осуществлен выбор I сечения, как описано в [11], которое характеризовалось переменным содержанием третичного бутилового спирта и постоянным соотношением масс иодида калия и воды 62:38 мас. % соответственно. Политерма фазовых равновесий по данному сечению (рис. 1) состоит из двух кривых, разделяющих поля насыщенных растворов в отношении иодида калия ($\ell_1 + S_{KI}$, $\ell_2 + S_{KI}$) и монотектического равновесия ($\ell_1 + \ell_2 + S_{KI}$), где ℓ_1 – органическая фаза, ℓ_2 – водная фаза, S_{KI} – твердая фаза, отвечающая

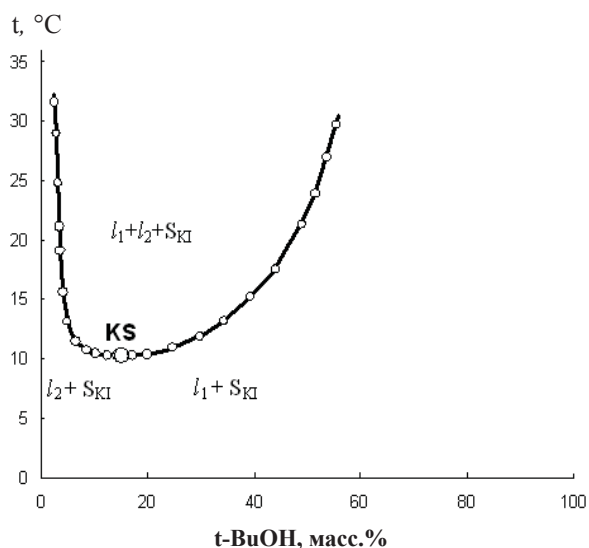


Рис. 1. Политерма фазовых равновесий I сечения системы KI – H₂O – t-BuOH

индивидуальной соли. Кривые соединяются в критической точке KS, отвечающей смеси с примерно равными объемами двух жидких фаз, которые находятся в равновесии с кристаллами соли при 10.3°C. Точка KS принадлежит критической ноде монотектики, а температура 10.3°C является температурой образования критической ноды монотектики и температурой начала расщепления в изучаемой системе. Смеси компонентов II–XII сечений характеризовались переменным содержанием иодида калия и постоянным соотношением масс воды и спирта. Смеси компонентов сечений XIII – XVI характеризовались переменным содержанием воды и постоянным соотношением масс соли и спирта. В смесях компонентов сечений II–XVI осуществлялись различные фазовые состояния: гомогенные растворы, насыщенные растворы соли, двухфазное жидкое состояние, монотектическое и эвтоническое. Рисунки политерм фазовых состояний этих сечений не приводятся.

Следующим этапом работы явилось нахождение зависимости состава раствора, соответствующего критической точке растворимости области расслоения, от температуры. С этой целью исследовали дополнительные смеси компонентов, характеризующиеся переменным содержанием соли и постоянным соотношением масс воды и спирта. На рис. 2 представлены зависимости содержания иодида калия и третичного бутилового спирта в критических точках от температуры. Как следует из рис. 2, состав критического раствора с ростом температуры изменяется незначительно.

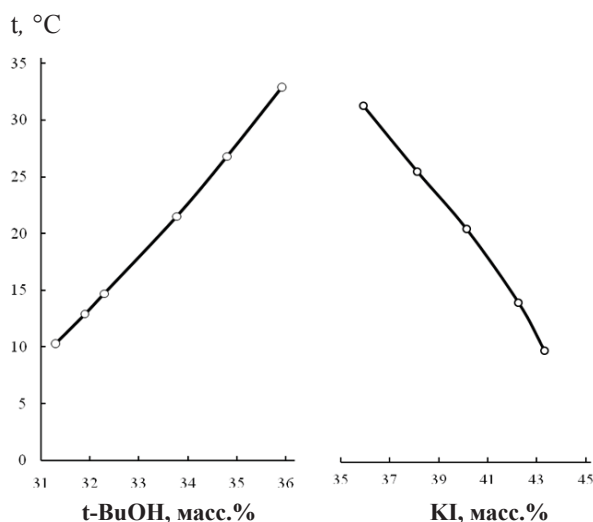


Рис. 2. Зависимости содержания иодида калия и третичного бутилового спирта в критических растворах от температуры в системе KI – H₂O – t-BuOH

Результаты политермических исследований использовали для графического определения составов смесей, соответствующих точкам фазовых переходов при выбранных температурах и для построения изотермических фазовых диаграмм тройной системы KI–H₂O–t-BuOH при 5.0, 10.3, 15.0, 25.0 и 30.0°C. Данные по растворимости компонентов тройной системы иодид калия – вода – третичный бутиловый спирт приведены в таблице.

Линия растворимости на фазовой диаграмме системы KI–H₂O–t-BuOH при 5.0°C (рис. 3) состоит из двух ветвей, что отвечает кристаллизации в данной системе двух твердых фаз: индивидуальной соли и спирта. При графической экстраполяции до взаимного пересечения этих ветвей получена точка на линии изменения состава жидкой фазы двойной эвтоники. Проекция этой точки, проведенная из вершины концентрационного треугольника, отвечающей H₂O, на сторону двойной системы KI – t-BuOH, находится между точками, отвечающими составам равновесных твердых фаз KI и t-BuOH. Это указывает на эвтонический характер трехфазного равновесия [12]. К сторонам эвтонического треугольника $l+S_{KI}+S_{t-BuOH}$ примыкают поля кристаллизации соли $l+S_{KI}$ и спирта $l+S_{t-BuOH}$.

При 10.3°C на линии растворимости фазовой диаграммы (рис. 4) появляется критическая точка K, соответствующая смеси, в которой две жидкие фазы (органическая l_1 и водная l_2) идентичны по составу и свойствам. Так как критическая жидкая фаза K находится в равновесии с твердой фазой (KI), возникает критическая нода KS



Растворимость компонентов тройной системы иодид калия – вода – третичный бутиловый спирт

t, °C	Состав насыщенного раствора, масс.%					
	KI	H ₂ O	t-BuOH	KI	H ₂ O	t-BuOH
5.0	0.00	7.14	92.86	28.33	5.56	66.11
	0.30	1.99	97.71	29.26	33.96	36.78
	0.65	7.02	92.33	39.17	39.54	21.29
	0.75	4.96	94.29	46.12	43.10	10.78
	1.00	6.64	92.36	50.00	44.50	5.50
	2.67	9.73	87.60	53.86	44.29	1.85
	8.00	18.40	73.60	56.70	43.30	0.00
	16.39	25.92	57.69	57.50	4.16	38.24
23.63	30.55	45.82	–	–	–	
10.3	0.00	4.30	95.70	31.10	33.07	35.83
	0.55	1.99	97.46	41.80	37.83	20.37
	0.67	4.03	95.30	44.23*	39.08*	16.69*
	1.00	3.96	95.04	48.83	40.94	10.23
	3.00	13.30	83.70	51.04	34.03	14.93
	7.50	18.50	74.00	52.33	42.43	5.24
	17.38	25.61	57.01	55.50	42.72	1.78
	24.42	30.23	45.35	57.50	42.50	0.00
29.00	3.32	67.68	58.50	2.50	39.00	
15.0	0.00	2.70	97.30	41.53*	4.00*	54.47*
	0.64	1.99	97.37	42.64	28.93	28.43
	0.68	2.68	96.60	43.37	36.81	19.82
	0.89	2.68	96.43	47.70	41.84	10.46
	3.00	13.30	83.70	49.70	40.24	10.06
	9.15	18.17	72.68	52.03	42.69	5.28
	20.17	24.75	55.08	53.20	41.65	5.15
	29.35	2.17	68.48	56.20	42.05	1.75
	31.20	33.02	35.78	58.20	41.80	0.00
	33.03	32.15	34.82	59.02	1.64	39.34
37.86	23.20	38.94	68.08	14.97	16.95	
40.53	38.66	20.81	–	–	–	
25.0	0.00	0.03	99.97	38.97*	39.67*	21.36*
	3.75	9.62	86.63	45.13	43.90	10.97
	12.33	17.53	70.14	46.13	35.02	18.85
	20.30	24.71	54.99	50.60	15.66	33.74
	23.25	30.70	46.05	52.33	38.14	9.53
	23.33	23.77	52.90	52.83	41.98	5.19
	27.85	17.07	55.08	55.50	39.60	4.90
	29.49	28.20	42.31	57.63	40.68	1.69
	29.58	33.80	36.62	59.80	40.20	0.00
	29.85	0.51	69.64	60.20	36.90	2.90
36.97	30.25	32.78	73.24	8.45	18.31	
30.0	0.00	0.01	99.99	46.13	43.10	10.77
	3.00	13.30	83.70	46.67	34.66	18.67
	10.55	17.89	71.56	51.17	43.46	5.37
	19.33	25.01	55.66	52.16	13.07	34.77
	23.76	23.63	52.61	53.50	37.20	9.30
	24.27	30.29	45.44	56.33	38.87	4.80
	24.45	14.99	60.56	58.57	39.77	1.66
	28.67	34.24	37.09	60.40	39.60	0.00
	29.60	28.16	42.24	60.76	37.24	2.00
	37.57	29.97	32.46	74.68	6.65	18.67
38.27*	40.12*	21.61*	–	–	–	

Примечание. *Критическая точка растворимости.

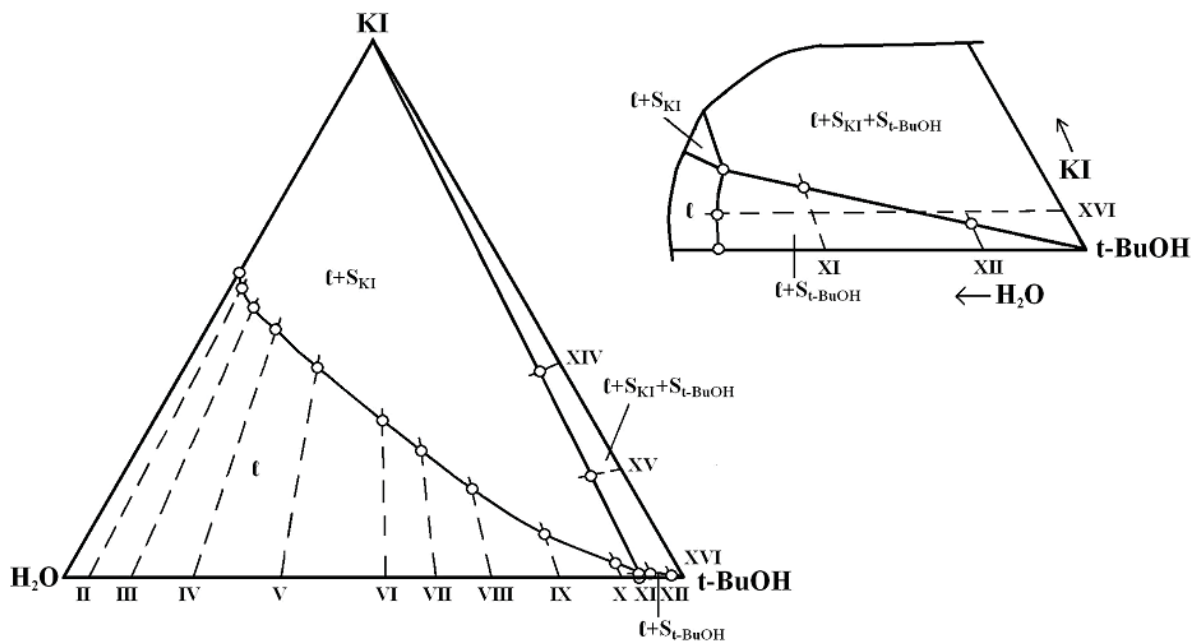


Рис. 3. Фазовая диаграмма системы KI–H₂O–t-BuOH при 5°C

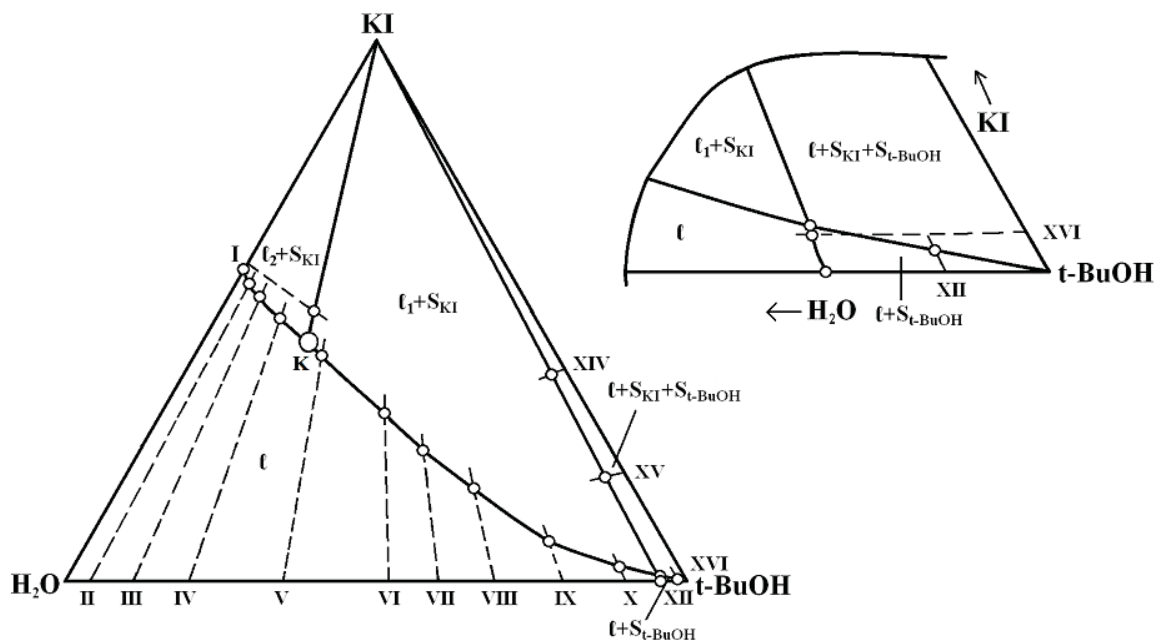


Рис. 4. Фазовая диаграмма системы KI–H₂O–t-BuOH при 10,3°C

монотектического равновесия. Состав критической жидкой фазы K и ноды KS определили графически на концентрационном треугольнике по точке пересечения критической ноды с линией растворимости при 10,3 °C. Следует отметить, что на фазовой диаграмме при 10,3 °C наблюдается уменьшение размера поля кристаллизации спирта. С увеличением температуры (рис. 5) критическая нода трансформируется в монотектический треугольник $l_1+l_2+S_{KI}$ с примыкающими

к нему полями расслоения l_1+l_2 и насыщенных растворов соли в водной l_2+S_{KI} и органической l_1+S_{KI} фазах.

Как видно из рис. 6, с дальнейшим повышением температуры (25.0 °C) размеры полей монотектического равновесия и расслоения увеличиваются, а полей насыщенных растворов соли в водной и органической фазах уменьшаются. Предельная нода эвтонического треугольника почти сливается со стороной

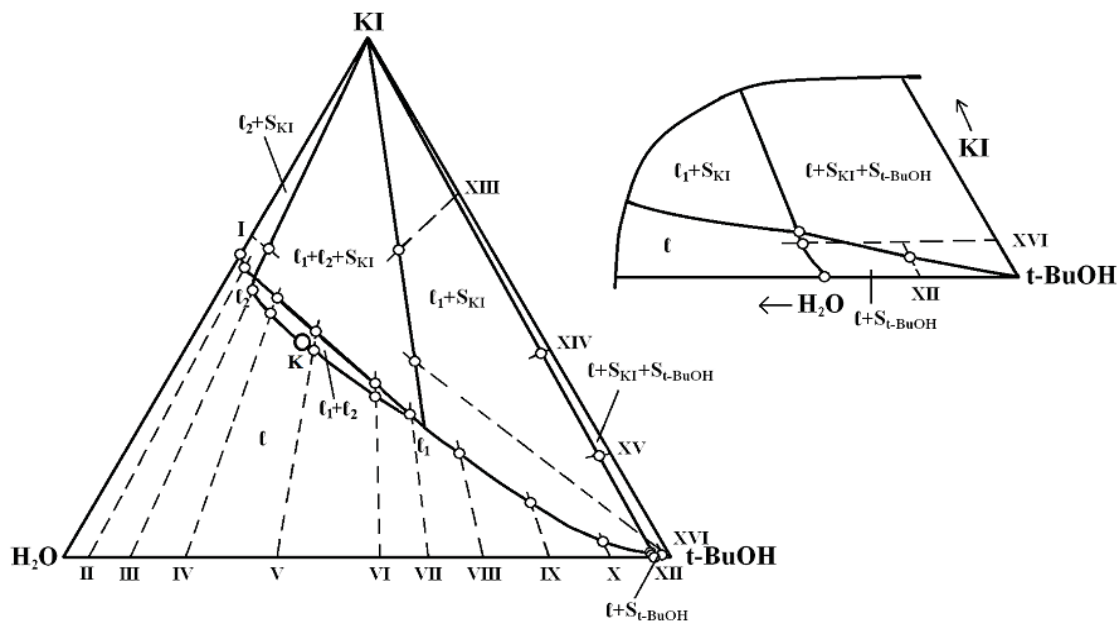


Рис. 5. Фазовая диаграмма системы KI–H₂O–t-BuOH при 15°C

KI–t-BuOH концентрационного треугольника, а поле кристаллизации спирта практически не наблюдается. Фазовая диаграмма системы при 30°C, представленная на рис. 7, отлича-

ется от предыдущей полным исчезновением трехфазного равновесия эвтонического типа, поскольку при 25,5°C третичный бутиловый спирт плавится.

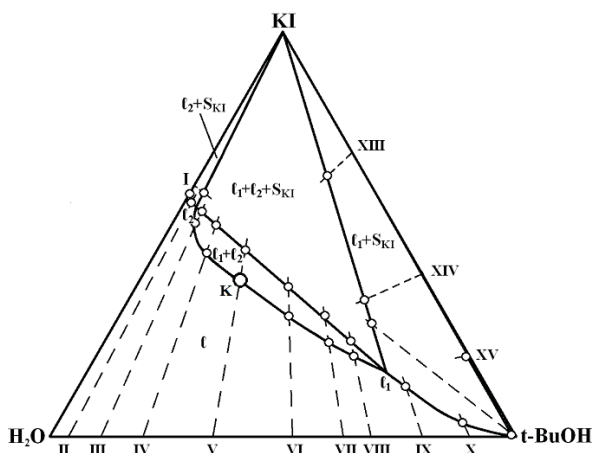


Рис. 6. Фазовая диаграмма системы KI–H₂O–t-BuOH при 25°C

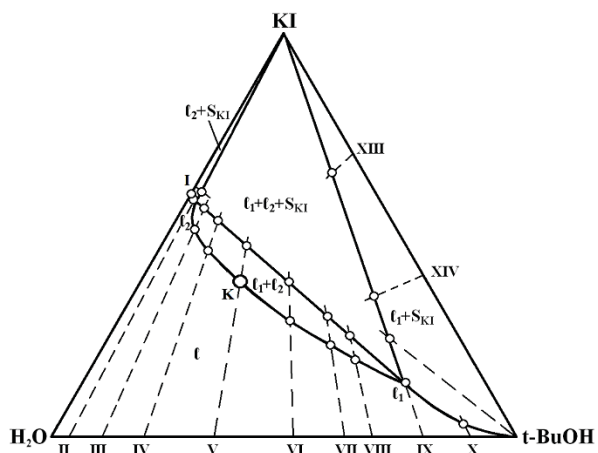


Рис. 7. Фазовая диаграмма системы KI–H₂O–t-BuOH при 30°C

На основании экспериментальных данных, полученных в настоящей работе, следует отметить, что высаливающий эффект иодида калия возрастает с повышением температуры. Фазовые диаграммы изученной тройной системы в исследованном интервале температур подтверждают схему топологической трансформации фазовых диаграмм тройных расслаивающихся систем соль – бинарный растворитель, опубликованную в сообщении [13].

Список литературы

1. Варламова Т. М., Герасимова Г. В., Антонова Е. В., Голубничева Е. М. Растворимость иодида калия в водно-спиртовых смесях // Химические науки-2006 : сб. науч. тр. Саратов : Науч. кн., 2006. Вып. 3. С. 32–35.
2. Рубцова Е. М., Варламова Т. М., Монахова Ю. Б., Муштакова С. П. Фазовая диаграмма системы иод – иодид калия – вода – пропиловый спирт при 298.15 К // Журн. физ. химии. 2015. Т. 89, № 6. С. 927–932.



3. Туркин А. Д. Дозиметрия радиоактивных газов. М. : Атомиздат, 1973. 160 с.
4. Монахова Ю. Б., Варламова Т. М., Рубцова Е. М., Муштакова С. П. Фазовые диаграммы систем иод – вода – алканол, иодид калия – вода – алканол и закономерности ассоциации по данным ИК- и ЯМР-спектроскопии // Журн. физ. химии. 2015. Т. 89, № 4. С. 611–616.
5. Сперкач В. С., Шахпаронов М. И. Физика и физико-химия жидкости. М. : Изд-во МГУ, 1976. Вып. 3. С. 64–86.
6. Белоусов В. П., Морачевский А. Г. Теплоты смешения жидкостей. М. : Химия, 1970. 256 с.
7. Ginnings P. M., Robbins D. Ternary systems : water, tertiary butanol and salts at 30° // J. Amer. Chem. Soc. 1930. Vol. 52. P. 2282–2283.
8. Рабинович В. А., Хавин З. Я. Краткий химический справочник / под ред. А. А. Потехина, А. И. Ефимова. Л. : Химия, Ленингр. отд-ние, 1991. 432 с.
9. Инструкция. Хроматографы газовые Agilent модели 6890. Методика поверки / ГПИ СИ ФГУП «ВНИИМС». М., 2007. 8 с.
10. Аносов В. Я., Озерова М. И., Фиалков Ю. Я. Основы физико-химического анализа. М. : Наука, 1976. 504 с.
11. Il'in K. K., Cherkasov D. G. Solid–Liquid and Solid–Liquid–Liquid Equilibria in the KI+H₂O+i-C₃H₇OH Ternary System within 10–120°C // Chem. Eng. Commun. 2016. Vol. 203, iss. 5. P. 642–648 (DOI: 10.1080/00986445.2015.1076802).
12. Никурашина Н. И., Мерцлин Р. В. Метод сечений. Приложение его к изучению многофазного состояния многокомпонентных систем. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 1969. 114 с.
13. Ильин К. К. Обобщенная схема топологической трансформации фазовых диаграмм тройных рас-

слаивающихся систем соль – бинарный растворитель // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2009. Т. 9, вып. 1. С. 3–7.

**Phase Equilibria in the Ternary System
“Potassium Iodide – Water – Tert-Butyl Alcohol”
within 5–30°C**

T. M. Varlamova

Tamara M. Varlamova, ORCID 0000-0002-9760-8607, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, VarlamovaTM@info.sgu.ru

Studying of the influence of the salt nature and temperature on the liquid-liquid equilibrium in the ternary systems “salt – binary solvent” is topical for the development of the salting-in–salting-out theory. In addition, the ternary potassium iodide-water-alcohol systems are constituents of the quaternary iodine – potassium iodide – water – alcohol ones, studying of which is of practical interest in terms of determining the mixed solvent compositions with the highest iodine-dissolving power. In this paper, phase equilibria and critical phenomena in the ternary system “potassium iodide – water – tert-butyl alcohol” were studied by the visual-polythermal method within 5–30°C and salt solubility values in the water-alcohol mixtures were obtained. The temperature of the critical tie line of monotectic equilibrium was found (10.3°C), corresponding to the beginning of delamination in the system under study. Phase equilibria polytherms of the studied cuts of the KI–H₂O–t-BuOH system were plotted and the dependences of the contents of potassium iodide and tert-butyl alcohol in critical solutions on temperature were established. The results of our polythermal studies were used to construct the isothermal phase diagrams of the ternary KI–H₂O–t-BuOH system at several temperatures.

Key words: phase equilibria, critical phenomena, ternary system, phase diagram, monotectic and eutonic equilibrium, potassium iodide, tertiary butyl alcohol.

Образец для цитирования:

Варламова Т. М. Фазовые равновесия в тройной системе иодид калия – вода – третичный бутиловый спирт при 5–30°C // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 382–388. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-382-388.

Cite this article as:

Varlamova T. M. Phase Equilibria in the Ternary System “Potassium Iodide – Water – Tert-Butyl Alcohol” within 5–30°C. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 382–388 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-382-388.

УДК 546: 544.344.4: 631.812.2

ФАЗОВЫЕ РАВНОВЕСИЯ В СИСТЕМЕ $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{K}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}$ ПРИ 25°C

Н. С. Кистанова, С. А. Коротких

Кистанова Наталья Сергеевна, доцент кафедры неорганической химии, химической технологии и техносферной безопасности, Пермский государственный национальный исследовательский университет, кандидат химических наук. E-mail: natalya.kistanova@gmail.com

Коротких Сергей Александрович, студент кафедры неорганической химии, химической технологии и техносферной безопасности, Пермский государственный национальный исследовательский университет. E-mail: natalya.kistanova@gmail.com

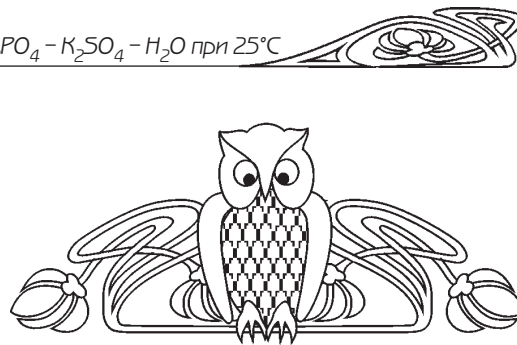
Исследованы фазовые равновесия в системе $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{K}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}$ при 25°C оптимизированным методом сечений. Составы твердых фаз, находящихся в невариантном равновесии с жидкой фазой, определены по экспериментально установленным составам двух точек на каждой предельной ноде. Для определения границ невариантных фазовых областей исследованы два изогидрических разреза, с содержанием воды 58.0 и 69.0 % мас. соответственно. Определен состав эвтонического раствора (% масс.): 16.51, KH_2PO_4 ; 5.72, K_2SO_4 ; 77.77, H_2O . Установлено, что в системе в твердой фазе присутствуют только дигидрофосфат калия и сульфат калия. По экспериментальным данным построена фазовая диаграмма системы. Определены границы областей кристаллизации каждой соли. Показано, что область кристаллизации сульфата калия имеет большую площадь, чем поле кристаллизации дигидрофосфата калия.

Ключевые слова: дигидрофосфат калия, сульфат калия, фазовые равновесия, оптимизированный метод сечений, фазовая диаграмма.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-389-393

Дигидрофосфат калия находит широкое применение в промышленности и сельском хозяйстве. Монокристаллы этого вещества используют в электрооптике для модуляции добротности лазеров, управления световыми пучками; в нелинейной оптике для преобразования частоты лазеров. Дигидрофосфат калия, содержащий макроэлементы N и P, является компонентом жидких комплексных удобрений в гидропонике.

Основным способом получения дигидрофосфата калия является взаимодействие термической фосфорной кислоты с водным раствором КОН или K_2CO_3 [1]. При этом получают дигидрофосфат калия особой чистоты. Этот способ имеет один недостаток – высокую стоимость исходных веществ. В качестве альтернативного рассматривается способ получения дигидрофосфата



калия из экстракционной фосфорной кислоты и хлорида калия в присутствии органического растворителя, содержащего первичный амин с числом атомов углерода от 6 до 28, при температуре 0–100°C [2, 3]. Катионы железа, алюминия, магния, а также фторид и сульфат анионы, содержащиеся в экстракционной фосфорной кислоте, извлекаются амином и удаляются в большей степени во время реакции.

В работе изучено влияние сульфат анионов, содержащихся в водной фазе после экстракции, на растворимость дигидрофосфата калия. Для этого исследованы фазовые равновесия в трехкомпонентной системе $\text{K}^+ // \text{H}_2\text{PO}_4^-, \text{SO}_4^{2-} - \text{H}_2\text{O}$ при 25°C.

Растворимость сульфата калия в воде и дигидрофосфата калия в воде изучена в широком интервале температур [4]. Для трехкомпонентной системы $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{KNO}_3 - \text{H}_2\text{O}$ при 25°C обнаружены следующие данные (табл. 1), охватывающие узкую концентрационную область системы без указания равновесной твердой фазы.

Таблица 1

Данные по растворимости в трехкомпонентной системе $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{K}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}$ при 25°C

Состав насыщенного раствора, % масс.		
KH_2PO_4	K_2SO_4	H_2O
19.46	1.39	79.15
18.24	3.13	78.63
17.70	6.27	76.03
17.02	6.79	76.19
16.74	6.27	76.99

Результаты и их обсуждение

Исходные смеси компонентов (ИСК) заданного состава готовили взвешиванием на аналитических весах AND GR-200 ($\pm 0,0001\text{г}$). Показатель преломления жидкой фазы измеряли на рефрактометре ИРФ-454 Б2М ($\pm 1 \cdot 10^{-4}$). Термостатирование навесок осуществляли при помощи циркуляционного термостата LOIP LT-316a ($\pm 0.2^\circ\text{C}$) и шейкера DAIHAN WiseShake SHO-2D.

В работе использовали дигидрофосфат калия и сульфат калия марки «х.ч». Установлено,



что содержание соли в насыщенном растворе (% масс.) $\frac{3}{4}$ 20.0 и 10.7 для дигидрофосфата калия и сульфата калия соответственно. Растворы готовились на дистиллированной воде, $n_D^{25} = 1.3325$.

Фазовые равновесия в системе $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{K}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}$ исследованы оптимизированным методом сечений [5, 6]. Метод сечений, разработанный на кафедре неорганической химии Пермского университета, относится к изотермическим методам исследования. В этом методе используется зависимость показателя преломления (реже плотность) жидкой фазы от состава исходной смеси компонентов. Смеси компонентов располагаются в сечениях концентрационного треугольника таким образом, чтобы пересекали поля фазовой диаграммы вдоль лучей кристаллизации или область невариантного равновесия в системе. Изотерму растворимости строят по составам реперных точек, лежащих на границах гомогенных и гетерогенных фазовых

областей. Оптимизация метода заключается в применении только таких сечений, в которых функциональные зависимости показателя преломления от состава исходных смесей компонентов имеют горизонтальный участок. Точка излома на данных зависимостях определяется максимально точно. Преимуществом метода сечений является возможность определения составов точек на предельных нодах, направление которых позволяет установить составы твердых и жидких фаз, находящихся в невариантном равновесии.

Исследование невариантных равновесий

При планировании эксперимента в качестве предполагаемого (искомого) состава эвтонического раствора системы $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{K}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}$ при 25°C выбрали состав ($e_{\text{пр}}$, табл. 2), содержание компонентов в котором рассчитывали как среднее арифметическое между составами эвтонических растворов при 20 и 30°C.

Таблица 2

Составы ИСК для определения границ невариантной области изогидрического разреза системы $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{K}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}$

Точка	Состав исходной смеси компонентов, % масс.			Соотношение	
	KH_2PO_4	K_2SO_4	H_2O	$\{\text{KH}_2\text{PO}_4\}/\{\text{H}_2\text{O}\}$	$\{\text{K}_2\text{SO}_4\}/\{\text{H}_2\text{O}\}$
Сечение F_1M_1					
f_1^*	25.98	5.01	69.01		0.0726
m_1^*	14.61	16.39	69.01	0.2117	
Сечение F_2M_2					
f_2^*	37.68	4.32	58,00		0.0745
m_2^*	12.36	29.64	52,00	0.2131	
Средний коэффициент				0.2124	0.0736
Точка	Состав насыщенного раствора, % масс.				
	KH_2PO_4	K_2SO_4	H_2O		
$e_{\text{пр}}$	17.30	5.90	76.80		
e	16.51	5.72	77.77		

Примечание. * – вычисленный состав.

Состав невариантного раствора и насыщающих его твердых фаз установили по экспериментально определенным составам на предельных нодах KH_2PO_4-e , K_2SO_4-e . Для определения границ невариантных фазовых областей исследованы два изогидрических разреза F_1M_1 и F_2M_2 с содержанием воды 58.0 и 69.0% масс. соответственно (рис. 1).

В каждом сечении точки составов исходных смесей компонентов 1÷3 и 6÷9 располагаются в

поле кристаллизации дигидрофосфата калия и сульфата калия соответственно, а смеси 4 и 5 – в невариантной области системы.

Функциональная зависимость показателя преломления жидкой фазы насыщенных растворов от состава в сечении F_1M_1 изображена на рис. 2, а. Показатель преломления жидкой фазы для смесей 4–5 имеет постоянное значение, что подтверждает нахождение составов этих точек в невариантной области системы. Так как се-

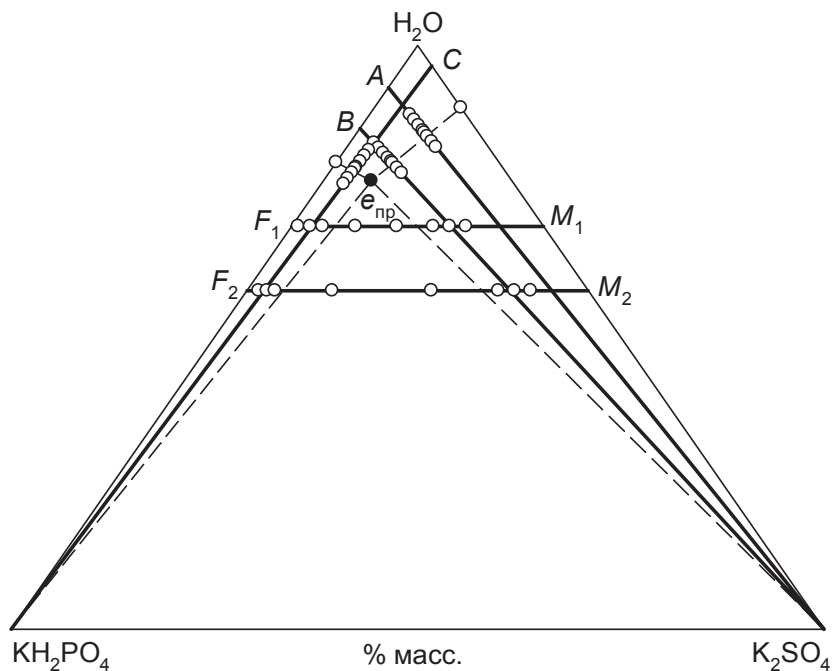


Рис. 1. Составы исходных смесей компонентов в исследованных сечениях F_1M_1 , F_2M_2 , $A-K_2SO_4$, $B-K_2SO_4$, $C-KH_2PO_4$ системы $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{KNO}_3 - \text{H}_2\text{O}$

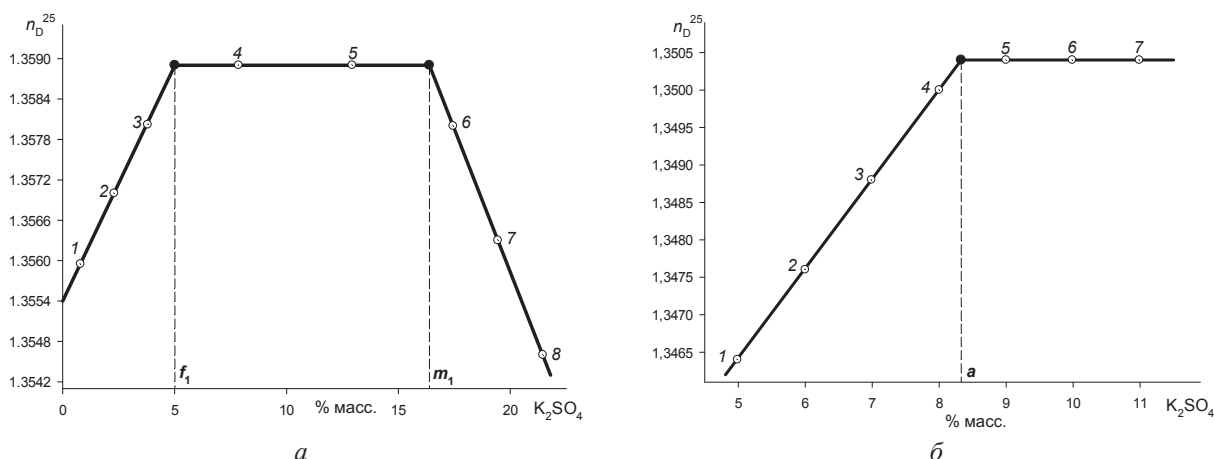


Рис. 2. Функциональные зависимости показателей преломления жидкой фазы от состава исходной смеси компонентов в сечениях: $a - F_1M_1$, $b - K_2SO_4-A$

чение F_1M_1 пересекает три фазовых области, то на графике функциональной зависимости имеются три линии, пересекающиеся в двух точках f_1 и m_1 . Точка f_1 находится на предельной ноде KH_2PO_4-e , точка m_1 располагается на ноде K_2SO_4-e . Функциональная зависимость показателя преломления жидкой фазы насыщенных растворов от состава для сечения F_2M_2 выглядит аналогично.

Экспериментальные данные по составам точек f_1 , m_1 и f_2 , m_2 использовали для расчета состава (% масс.) двойного эвтонического рас-

творя системы e (см. табл. 2) по формулам (1) и (2):

$$W = \frac{100}{(K_c + K_d + 1)}, \quad (1)$$

$$X = K_x \cdot W, \quad (2)$$

где W – содержание воды в эвтоническом растворе; K_c – отношение содержания сульфата калия к содержанию воды; K_d – отношение содержания дигидрофосфата калия к содержанию воды; X – содержание солевого компонента в эвтоническом растворе; K_x – соответствующий коэффициент (K_c , K_d).



Экспериментальный состав эвтонического раствора *e* и предполагаемый состав двойного невариантного раствора $e_{пр}$ сведены в табл. 2.

Составы твердых фаз, равновесных невариантному раствору, оптимизированным методом сечений определили следующим образом. В точках, отвечающих составам на предельных нодах (f_1, m_1 и f_2, m_2), вычислили отношения содержания компонента, которого нет в донной фазе, к содержанию воды (коэффициенты K_c и K_d). Парное равенство коэффициентов доказывает, что предельные ноды исходят из вершин составов солевых компонентов, а эвтонический раствор насыщен дигидрофосфатом калия и сульфатом калия.

Исследование линий моновариантного равновесия

На рис. 1 изображены составы исходных смесей компонентов и направления сечений для установления составов на линиях моновариантного равновесия (*a, b* и *c*).

Сечения K_2SO_4-A (7.20% раствор KH_2PO_4) и K_2SO_4-B (14.20% раствор KH_2PO_4), прохо-

дящие через ветвь кристаллизации сульфата калия, выявляют положение точек *a* и *b*. Сечение KH_2PO_4-C (3.50% раствор K_2SO_4), проходящее через ветвь кристаллизации дигидрофосфата калия, определяет положение точки *c*. Функциональная зависимость показателя преломления жидкой фазы от состава исходных смесей компонентов для сечения K_2SO_4-A представлена на рис. 2, б. Для двух других сечений функциональная зависимость имеет тот же вид.

Результаты исследования представлены в табл. 3 и изображены на рис. 3.

Таким образом, исследованы фазовые равновесия в системе $KH_2PO_4-K_2SO_4-H_2O$ при 25°C. По экспериментальным данным построена фазовая диаграмма системы (см. рис. 3). Определен состав невариантного раствора. Установлено, что в системе в твердой фазе присутствуют только дигидрофосфат калия и сульфат калия. Определены границы областей кристаллизации каждой соли. Поле кристаллизации сульфата калия занимает большую площадь, чем поле дигидрофосфата калия.

Таблица 3

Экспериментальные составы насыщенных растворов в системе $KH_2PO_4 - K_2SO_4 - H_2O$ при 25°C

Состав насыщенного раствора, % масс.			Твердая фаза
KH_2PO_4	K_2SO_4	H_2O	
20.03	0.00	79.97	KH_2PO_4
18.23	2.86	78.91	То же
16.51	5.72	77.77	$KH_2PO_4 + K_2SO_4$
6.63	8.33	85.04	K_2SO_4
13.21	6.70	80.08	То же
0.00	10.68	89.32	–

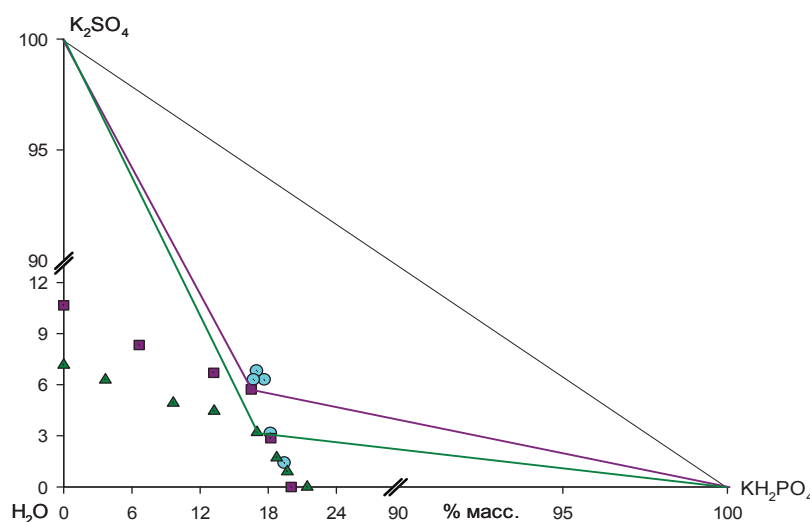


Рис. 3. Фазовая диаграмма трехкомпонентной системы $KH_2PO_4 - K_2SO_4 - H_2O$ при 25°C: ○ – данные взяты из справочника по растворимости [4]; ▲ – результаты исследования авторов [7]; ■ – данные, полученные в работе



Для сравнения на рис. 3 представлены результаты исследования системы [4, 7]. Данные по растворимости в области кристаллизации дигидрофосфата калия [4] хорошо согласуются с полученными в работе. Результаты исследования [7] отличаются, главным образом в области кристаллизации сульфата калия. Очевидно, что расхождения в данных по растворимости сульфата калия в присутствии дигидрофосфата калия обусловлены качеством использованных в работе солей.

Список литературы

1. Химическая энциклопедия : в 5 т. / гл. ред. И. Л. Кнунянц. М. : Сов. энцикл. 1990. Т. 2. С. 571.
2. Pat. 3,661,513 U.S. Manufacture of Alkali Metal Phosphates / Barker J. E., Freehold N. J. 1972.
3. Pat. 4,836,995 U.S. Process for the Manufacture of Monopotassium Phosphate / Manor S., Pipko G., Langham A., Friedman N., Steiner A. 1989.
4. Справочник по растворимости солевых систем : в 3 т. Т. 3, кн. 2. Тройные и многокомпонентные системы, образованные неорганическими веществами / под ред. В. В. Кафаров и др. Л. : Наука. Ленингр. отд-ние, 1969.
5. Журавлев Е. Ф., Швецова А. Д. Изучение растворимости в водно-солевых системах графоаналитическим методом сечений // Журн. неорг. химии. 1960. Т. 5, вып. 11. С. 2630–2637.
6. Кистанова Н. С., Мазунин С. А., Фролова С. И. Разработка нового метода изучения растворимости в многокомпонентных водно-солевых системах // Техническая химия. От теории к практике : материалы междунар. конф. : в 3 т. Пермь : Институт технической химии УрО РАН, 2007. Т. 2. С. 140–144.
7. Wang P., Li J., Luo J., Jin Y., Yang Z. Solid–Liquid Phase Equilibrium for the Ternary System $\text{K}_2\text{SO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{H}_2\text{O}$ at (298.15 and 333.15) K. // J. Chem. Eng. Data. 2012. Vol. 57. P. 836–839.

Phase Equilibrium for the System $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{K}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}$ at 25°C

N. S. Kistanova, S. A. Korotkikh

Natalya S. Kistanova, ORCID 0000-0002-3423-8709, Perm State University, 15, Bukireva Str., Perm, 614990, Russia, natalya.kistanova@gmail.com

Sergei A. Korotkikh, ORCID 0000-0002-0067-7914, Perm State University, 15, Bukireva Str., Perm, 614990, Russia, natalya.kistanova@gmail.com

Potassium dihydrogen phosphate is widely used in industrial and agriculture. The solvent extraction method for producing KH_2PO_4 from the more cheap extraction phosphoric acid and potassium chloride has gained growing attention recently. To evaluation influence SO_4^{2-} on the crystallization KH_2PO_4 it is necessary comprehensive knowledge of the phase equilibria in the system $\text{K}^+//\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}, \text{SO}_4^{2-} - \text{H}_2\text{O}$. The ternary system $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{K}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}$ was determined at 25°C by the improved isothermal method of section. The heart of the method lies in determining the position of two fixed points on each limiting node that intersect the coordinate system at the composition of equilibrium solid phases. This allowed us to calculate the composition of nonvariant solution and established the composition of the solid phase equilibrium to nonvariant solution. The eutonic solution (% wt) was determined: 16.51, KH_2PO_4 ; 5.72, K_2SO_4 ; 77.77, H_2O . Equilibrium solid phases saturating nonvariant solution were determined without isolating them from the liquid phase. The crystallization field of potassium sulfate and potassium dihydrogen phosphate were determined. The phase diagram was constructed based on the experimental results. The crystallization region of K_2SO_4 is the largest, while that of KH_2PO_4 is the smallest.

Key words: potassium dihydrogen phosphate, potassium sulfate, phase equilibria, method of section, phase diagram.

Образец для цитирования:

Кистанова Н. С., Коротких С. А. Фазовые равновесия в системе $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{K}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}$ при 25°C // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 389–393. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-389-393.

Cite this article as:

Kistanova N. S., Korotkikh S. A. Phase Equilibrium for the System $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{K}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}$ at 25°C . *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 389–393 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-389-393.



УДК 544.478.13

ПРЕВРАЩЕНИЕ СТАБИЛЬНОГО КАТАЛИЗАТА УСТАНОВКИ КАТАЛИТИЧЕСКОГО РИФОРМИНГА НА КАТАЛИЗАТОРЕ R-98

Т. В. Аниськова, С. Б. Ромаденкина, Р. И. Кузьмина

Аниськова Татьяна Владимировна, доцент кафедры нефтехимии и техногенной безопасности, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат химических наук. E-mail: aniskovatv@mail.ru

Ромаденкина Светлана Борисовна, доцент кафедры нефтехимии и техногенной безопасности, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат химических наук. E-mail: gomadenkina@yandex.ru

Кузьмина Раиса Ивановна, зав. кафедрой нефтехимии и техногенной безопасности, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, доктор химических наук. E-mail: kuzminaraisa@mail.ru

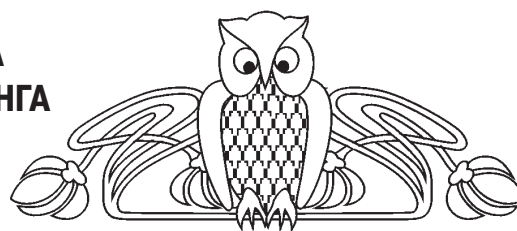
Одной из важнейших задач современных нефтеперерабатывающих заводов является модернизация существующих установок с целью увеличения объемов производства и улучшения качества товарного продукта. В связи с этим проведено исследование каталитической активности промышленного катализатора процесса риформинга R-98 (содержащего в своем составе платину и рений, в количестве 0,25 масс. % каждого) в превращении стабильного катализатора. Стабильный катализатор выходит из стабилизационной колонны реакторного блока установки каталитического риформинга. Серия опытов осуществлена на лабораторной установке проточного типа в интервале температур 400–550 °С (с шагом 50 °С) при атмосферном давлении и подаче водородсодержащего газа в систему. В результате экспериментов получены газообразные и жидкие продукты превращения. Анализ газообразных и жидких продуктов осуществлен с привлечением хроматографических методов исследования. Полученные данные позволяют говорить об увеличении октанового числа в среднем на 6 пунктов, при уменьшении суммарного содержания углеводородов ароматического ряда. При этом необходимо отметить, что с ростом температуры содержание бензола растет и максимальное его значение отмечено при температуре 550 °С и соответствует 4,4 масс. %.

Ключевые слова: стабильный катализатор, превращение, октановое число, каталитический риформинг.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-394-396

В связи с неуклонным ростом потребления высококачественных моторных топлив и исчерпанием запасов нефти остается актуальным модернизация существующих технологий и процессов по производству высокооктановых бензинов [1–6].

В настоящее время процесс каталитического риформинга остается одним из основных про-



цессов современной нефтеперерабатывающей промышленности, который позволяет получать товарные продукты – бензины с высокой детонационной стойкостью и сырьё для нефтехимической промышленности – ароматические углеводороды.

Целью данной работы явилась разработка предложения по усовершенствованию существующей установки каталитического риформинга за счет введения рецикла между колонной стабилизации (К-7) и первым реактором реакторного блока Р-2 установки каталитического риформинга.

Исходным сырьем для опытов служил стабильный катализатор, выходящий из стабилизационной колонны реакторного блока установки каталитического риформинга.

Превращения стабильного катализатора проводили на лабораторной установке проточного типа в интервале температур от 400 до 450–500–550 °С, объемной скорости подачи сырья 0,35 ч⁻¹, при атмосферном давлении, в качестве катализатора использовался катализатор R-98 (табл. 1).

Таблица 1
Характеристики стабильного катализатора

Класс углеводородов	Содержание масс. %
Парафины	9,3
Изопарафины	21,1
Ароматические соединения	51,8
Олефины	4,4
Нафтены	6,4
Октановое число (ИМ/ММ)	101/85

Активация катализатора происходила в токе воздуха при атмосферном давлении в течение двух часов. Опыт проводился при подаче водородсодержащего газа.

В результате конверсии стабильного катализатора на исследуемом катализаторе получены жидкие продукты сложного многокомпонентного состава с количеством углеродных атомов в цепи от C₁ до C₁₅ и газы, содержащие в своем составе водород, моно- и диоксид углерода и углеводороды C₁ – C₅, анализ которых осуществлялся на



хроматографах Кристалл-5000 и Кристалл-2000 с линейным программированием температуры с 35°C до 250°C. Расчет производили с помощью программы «Хроматэк Аналитик», позволяющей установить детальный состав углеводородных смесей (вес., об., моль. %), относительную плотность, фракционный состав и октановое число продукта.

Основными критериями качества получаемого продукта в процессе риформинга являются

показатель октанового числа (ОЧ) и содержание ароматических углеводородов.

В данном случае при превращении стабильного катализата на катализаторе с ростом температуры увеличивается показатель октанового числа при уменьшении суммарного содержания ароматических углеводородов. Максимальное значение октанового числа отмечено при температуре 550°C 112 пунктов по исследовательскому методу (табл. 2).

Таблица 2

Результаты превращения стабильного катализата на катализаторе R-98

T, °C	ОЧ		Содержание, масс. %				
	ИМ	ММ	C ₁ -C ₃	аром. углев.	C ₆ H ₆	изопараф.	парафин.
400	106	90	4,6±0,3	41,3±0,3	2,5±0,1	19,9±0,3	1,4±0,2
450	108	91	22,5±0,1	32,7±0,2	2,8±0,1	19,8±0,2	0,6±0,2
500	107	90	21,0±0,1	26,7±0,1	4,0±0,2	9,7±0,1	0,2±0,1
550	112	94	34,6±0,2	23,2±0,2	4,4±0,3	8,7±0,3	0,2±0,3

С ростом температуры наблюдается интенсификация реакций крекинга, о чем свидетельствует увеличение суммарного содержания газообразных продуктов масс. % с 4,6 до 34,6 для ΣC_1-C_3 и с 11,2 до 40,7 % ΣC_1-C_5 .

В исходном катализате в максимальном количестве представлены толуол (16,1 масс.%) и ксилолы (20,1 масс. %).

Вероятно, газообразные продукты образуются за счет деалкилирования толуола и ксилола (об этом свидетельствует уменьшение содержания толуола и ксилола в продуктах превращения до 10,3 и 10,7 масс.% соответственно). Также образование продуктов крекинга возможно за счет разрыва связи С-С алканов и изоалканов, что подтверждается уменьшением содержания данных классов углеводородов с ростом температуры.

С увеличением температуры осуществления процесса суммарное содержание ароматических соединений (бензол, толуол, ксилолы) уменьшается с 41,5 до 23,2 масс. %. Минимальное содержание ароматических углеводородов отмечено при температуре 550 °C, которое соответствует 23,2 масс. %. При данной температуре ароматические соединения представлены в основном толуолом и ксилолами.

При характеристике продуктов превращения немаловажным показателем является содержание бензола. Анализ продуктов превращения показал, что с ростом температуры содержание бензола растет и максимальное его значение отмечено при температуре 550°C и соответствует 4,4 масс. %.

В результате проведенных исследований показано, что введение рецикла с циркуляцией стабильного катализата целесообразно при температуре 450°C. При данной температуре отмечено увеличение октанового числа до 108 пунктов и 91 пункта по исследовательскому и моторному методу соответственно. Также при данной температуре отмечено умеренное содержание бензола в продуктах превращения до 2,8 масс.% при суммарном содержании ароматических углеводородов 32,7%.

Газообразные компоненты, представленные в основном пропан-бутановой фракцией, образующиеся в большом количестве в промышленности, выделяются посредством двух стабилизационных колонн и могут быть использованы в качестве топлива, хладагентов и в качестве ценного реагента в химической промышленности.

Таким образом, показано, что введение рецикла между реактором и стабилизационной колонной в реакторном блоке установки каталитического риформинга позволит увеличить октановое число товарного продукта на 9 пунктов по моторному методу.

Список литературы

1. Кузьмина Р. И., Афонин А. А., Ливенцев В. Т., Аниськова Т. В. Модифицированные высококремнистые цеолитные катализаторы // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2010. Т. 10, вып. 2. С. 23–26.



2. Алиев Р. Р., Ёлиин Н. А. Стратегия усовершенствования процесса гидроочистки нефтяных фракций // Нефтепереработка и нефтехимия. 2013. № 4. С. 8–10.
3. Смирнов В. К., Талисман Е. Л., Капустин В. М., Бабаева И. А. Промышленный опыт среднетемпературной изомеризации легкой бензиновой фракции // Нефтепереработка и нефтехимия. 2005. № 2. С. 14–17.
4. Степанов В. Г., Ионе К. Г. Цеолитные катализаторы в процессах переработки углеводородного сырья в высокооктановые автобензины // Хим. пром-ть. 1996. № 3. С. 59–70.
5. Степанов В. Г., Ионе К. Г. Цеоформинг перспективный процесс производства неэтилированных автомобильных бензинов // Химия и технология топлив и масел. 2000. № 1. С. 8–12.
6. Алиев Р. Р., Трофимова М. В., Целютина М. И., Резниченко И. Д. Синтез катализаторов гидропроцессов переработки нефти : экологические процессы // Экология и промышленность России. 2005. № 7. С. 14–17.

Transformation of a Stable Catalyst of Catalytic Reforming Facility with Using the Catalyst R-98

T. V. Aniskova, S. B. Romadenkina, R. I. Kuzmina

Tatyana V. Aniskova, ORCID 0000-0003-1988-323X, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, aniskovatv@mail.ru

Svetlana B. Romadenkina, ORCID 0000-0001-6707-4774, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, romadenkina@yandex.ru

Raisa I. Kuzmina, ORCID 0000-0001-6850-4510, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, kuzminaraisa@mail.ru

One of the most important tasks of modern refineries is the modernization of existing plants to increase production and improve the quality of the commodity. In this connection, the catalytic activity of the industrial catalyst of the reforming process R-98 (containing in its composition platinum and rhenium, in the amount of 0.25% by weight of each) in the conversion of a stable catalyst was studied. Stable catalyst is released from the stabilizer column of the catalytic reforming unit. A series of experiments was carried out on a laboratory installation of flow type in the temperature range 400–550°C (in increments of 50°C) at atmospheric pressure and supply of hydrogen-containing gas to the system. As a result of the experiments, gaseous and liquid conversion products were obtained. Analysis of gaseous and liquid conversion products was carried out by GC. The obtained data indicate an increase in the octane number by 6 points, with a decrease in the content of aromatic hydrocarbons. It should be noted that with increasing temperature, the content of benzene increases and its maximum value is noted at a temperature of 550°C and corresponds to 4.4 w. %.

Key words: stable catalysis, conversion, octane number, catalytic reforming.

Образец для цитирования:

Аниськова Т. В., Ромаденкина С. Б., Кузьмина Р. И. Превращение стабильного катализата установки каталитического риформинга на катализаторе R-98 // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 394–396. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-394-396.

Cite this article as:

Aniskova T. V., Romadenkina S. B., Kuzmina R. I. Transformation of a Stable Catalyst of Catalytic Reforming Facility with Using the Catalyst R-98. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 394–396 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-394-396.



БИОЛОГИЯ

УДК 581.143.6: 58.085

ЯВЛЕНИЕ ПОЛИЭМБРИОНИИ *IN VIVO* И *IN VITRO* У АПОМИКТИЧНОЙ ЛИНИИ КУКУРУЗЫ

Т. А. Алаторцева, Н. В. Апанасова, Л. П. Лобанова

Алаторцева Татьяна Алексеевна, доцент кафедры генетики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат биологических наук. E-mail: alatorsevata@mail.ru

Апанасова Наталья Владимировна, ведущий биолог отдела генетики и репродуктивной биологии УНЦ «Ботанический сад СГУ», Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: apanasova.natasha@mail.ru

Лобанова Людмила Петровна, доцент кафедры генетики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат биологических наук. E-mail: lobanova-lp@yandex.ru

Статья посвящена изучению цитоэмбриологических предпосылок к полиэмбрионии в неопылённых завязях апомиктической линии кукурузы АТ-1 в условиях *in vitro* и *in vivo*. Для оценки роли питательной среды в индукции полиэмбрионии был проведен сравнительный анализ зародышевых мешков в завязях, культивируемых *in vitro*, и в завязях интактных растений. Прослежена динамика формирования в них апомиктических близнецовых проэмбрио. Установлено, что причиной многозародышевости у изученной линии могут быть либо независимые деления в дериватах яйцеклетки, либо деления в дополнительных яйцеклетках. Как в условиях *in vivo*, так и *in vitro* женские гаметофиты характеризуются одинаковыми особенностями развития и спектром аномалий, идентичными предпосылками к полиэмбрионии и синхронностью процессов эмбриогенеза. Это свидетельствует о сохранении в культивируемых завязях генетически детерминированной склонности к апомиксису и полиэмбрионии. Искусственная питательная среда играет в данном случае лишь трофическую роль, компенсируя отсутствие полноценного эндосперма, необходимого для развития зародышей. Роль культуры *in vitro* как фактора, индуцирующего полиэмбрионии у апомиктической линии кукурузы АТ-1, исключается.

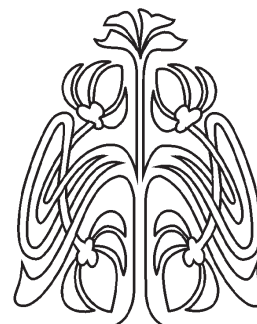
Ключевые слова: кукуруза, апомиксис, полиэмбриония, зародышевый мешок, *in vitro*, *in vivo*.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-397-404

Многозародышевость, или полиэмбриония, открытая три столетия назад Антони ван Левенгуком, в настоящее время считается общеботаническим явлением и обнаружена у представителей многих семейств покрытосеменных растений [1, 2].

Как правило, полиэмбриония вызывает у исследователей только чисто научный интерес. Между тем перспективность её практического применения очевидна, например, в селекции: для получения гаплоидов и чистых линий, для улучшения посевных качеств семян и выведения высокоурожайных сортов сельскохозяйственных растений. Использовать в полной мере прикладной потенциал многозародышевости затрудняет недостаточная изученность механизмов её индукции [3].

Ряд авторов неоднократно отмечали тесную связь полиэмбрионии с апомиксисом и его элементами [4–13]. В ходе развития женских генеративных структур у апомиктических видов нередко создаются цитоэмбриологические предпосылки к полиэмбрионии. К их числу относятся: формирование нескольких зародышевых мешков в одном семязачатке, нескольких яйцеклеток в одном



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





мегагаметофите (полигаметия), яйцеклеткоподобных синергид или антипод (апогаметия) [14, 15]. В единичных случаях аналогичные явления могут иметь место и у половых видов. При этом в случае развития неоплодотворенных яйцеклеток у них могут формироваться гаплоидные близнецы. На этой закономерности основан близнецовый метод выявления гаплоидов, используемый ещё с 1933 года [16] и достаточно популярный в настоящее время. С его помощью обнаружены гаплоиды в десятках семейств и сотнях видов цветковых растений [1, 17].

Кроме того, у амфимиктичных форм многозародышевость может быть индуцирована экспериментальным воздействием: повышенной температурой [18], обработкой химическими мутагенами, физиологически активными веществами, рентгеновским облучением, а также условиями культуры *in vitro* [1, 19], когда наличие в составе питательной среды определенных фитогормонов может спровоцировать многократное «почкование» даже изолированных семязачатков [20, 21].

Целью проведенного исследования была оценка возможной индуцирующей роли условий культуры *in vitro* на возникновение предпосылок к полиэмбрионии у апомиктичной линии кукурузы АТ-1. В задачи работы входило: 1) изучить особенности строения женского гаметофита в неопыленных завязях кукурузы, развивающихся в условиях *in vivo* и *in vitro*; 2) проследить в динамике последовательные этапы развития *in vivo* и *in vitro* апомиктичных проэмбрио; 3) оценить частоту полиэмбрионии в зрелых зерновках и эксплантированных неопыленных завязях кукурузы.

Материалы и методы

Объектом исследования являлась апомиктичная линия кукурузы АТ-1, задержка опыления у которой ведет к увеличению частоты встречаемости полиэмбрионии и гаплоидии. Цитоэмбриологически подтверждено, что для линии характерен неиндуцированный тип гаплоидии. Линия сходна с псевдогамными апомиктами, у которых зародыш развивается партеногенетически, а для нормального развития эндосперма необходимо оплодотворение [22].

Растения выращивали в полевых условиях. Чтобы исключить случайное опыление, початки до начала цветения накрывали пергаментными изоляторами. За начало цветения принимали появление на початке первых пестичных нитей. Неопыленные женские соцветия фиксировали в ацеталкоголе (1: 3) темпорально через 1, 3, 5, 7, 10, 14 суток после появления пестичных нитей.

Для эксперимента *in vitro* отбирали початки спустя одни сутки после появления рылец.

Одна часть завязей от каждого початка использовалась для цитоэмбриологического анализа, другая – для культивирования.

Питательная среда содержала макро- и микроэлементы MS, витамины, сахарозу (9,0%), 2,4-Д (2,0 мг/л), агар-агар. В качестве дезинфицирующих средств для эксплантов использовали этанол (70%) и раствор натриевой соли этилмеркуртиосалициловой кислоты (30 мг/л) с последующей промывкой стерильной дистиллированной водой.

В ходе культивирования эксплантированные завязи по достижении ими «возраста» 3, 5, 7, 10, 14 суток (от момента появления рылец на початке, включая период *in vitro*) извлекали из пробирок, фиксировали в ацеталкоголе.

Из всех завязей, зафиксированных как в полевых условиях, так и после культивирования на искусственной питательной среде, выделяли зародышевые мешки методом ферментативной мацерации [23, 24]. Структуру женских гаметофитов анализировали с помощью микроскопов «AxioStar Plus» и «AxioScope» (С. Zeiss, Германия). Фотографирование осуществляли с использованием программ визуализации изображения «Zoombrowser».

Результаты и их обсуждение

В процессе исследования установлено, что к моменту появления рылец на початке зародышевые мешки были сформированы, и большинство из них имело типичное строение. Они включали яйцеклетку, две синергиды, центральную клетку с двумя полярными ядрами, около двадцати антипод (рис. 1).

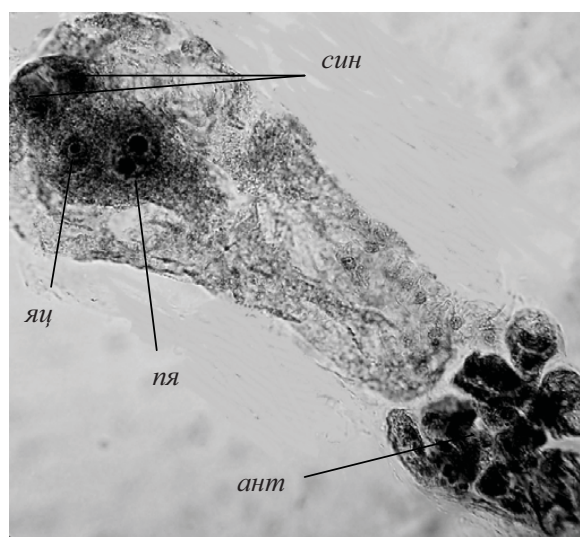


Рис. 1. Зародышевый мешок кукурузы линии АТ-1 нормального строения: *яц* – яйцеклетка, *син* – синергиды, *пя* – полярные ядра, *ант* – антиподы



При задержке опыления (трое и более суток) в завязях интактных растений и в условиях *in vitro* наряду с зародышевыми мешками нормального строения встречались мегagamетофиты с различными структурными аномалиями (рис. 2), которые могли служить предпосылками к появлению полиэмбрионов [5, 9, 14, 25, 26, 27]. К их числу можно отнести: дополнительные

яйцеклетки, одну или две яйцеклеткоподобные синергиды, дополнительные проэмбрио, проэмбрио в присутствии яйцеклетки. Формирование дополнительных яйцеклеток и яйцеклеткоподобных элементов (синергид или антипод), как правило, является результатом нарушения процессов поляризации и дифференцировки зародышевых мешков [28].

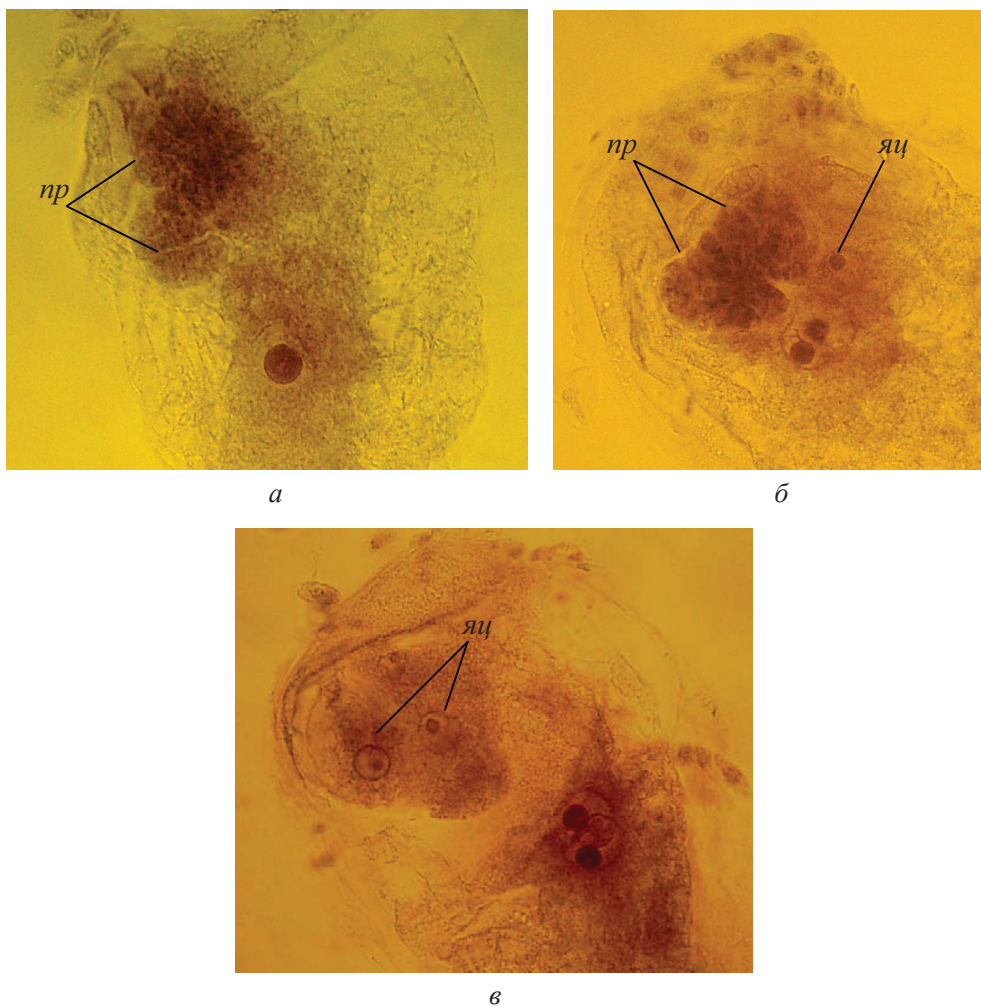


Рис. 2. Зародышевые мешки кукурузы линии АТ-1 с различными аномалиями: а – с двумя проэмбрио (*пр*), б – с яйцеклеткой (*яц*) и двумя проэмбрио (*пр*), в – с двумя яйцеклетками (*яц*)

Частота образования мегagamетофитов с предпосылками к полиэмбрионии была практически одинаковой, как в случае их развития на интактных растениях в поле, так и в культуре изолированных завязей *in vitro* (таблица).

Статистическая обработка результатов не выявила достоверных различий по количеству зародышевых мешков атипичного строения и по спектру аномалий, способных быть потенциальными предпосылками к полиэмбрионии.

При этом отмечается общая тенденция к возрастанию их частоты с увеличением длительности задержки опыления (рис. 3).

Кроме того, в обоих вариантах эксперимента наблюдалась сходная динамика развития партеногенетических зародышей. Неоплодотворенные яйцеклетки приступают к делению на 5–7-е сутки от момента появления пестичных нитей на початке. Яйцеклетка делится поперечной перегородкой к оси зародышевого мешка, образуя две дочерние клетки (рис. 4).



Структура зародышевых мешков в завязях кукурузы линии АТ-1 при задержке опыления в условиях *in vivo* и *in vitro*

Задержка опыления, сутки	Условия развития	Всего исследовано зародышевых мешков	Количество зародышевых мешков, %							
			типичного строения	с партеногенетическим проэмбрио	с двумя яйцеклеткоподобными синергидами	с одной яйце клеткоподобной синергидой	с двумя яйцеклетками	с двумя проэмбрио	с яйцеклеткой и проэмбрио	дегенерирующих
3	<i>in vivo</i>	109	96,3	0	0	0,9	0,9	0	0	1,8
	<i>in vitro</i>	108	95,4	0	0,9	1	0	1	0	4
5	<i>in vivo</i>	106	85,8	5,7	0,0	0,9	1,9	0,9	0,9	3,8
	<i>in vitro</i>	104	91,3	2,9	0,0	1,0	0,0	1,0	0,0	3,8
7	<i>in vivo</i>	105	86,7	3,8	1,0	1,9	1,0	1,0	0,0	4,8
	<i>in vitro</i>	107	88,8	2,8	1,9	0	1,9	1,9	0	2,8
10	<i>in vivo</i>	103	80,6	5,8	1,0	3,9	1,9	2,9	1,9	1,9
	<i>in vitro</i>	110	71,8	6,4	2,7	0,9	2,7	3,6	0,9	10,9
14	<i>in vivo</i>	103	69,9	4,9	0,0	5,8	4,9	2,9	1,0	10,7
	<i>in vitro</i>	107	74,8	8,4	4,7	0,0	0,0	4,7	0,9	6,5

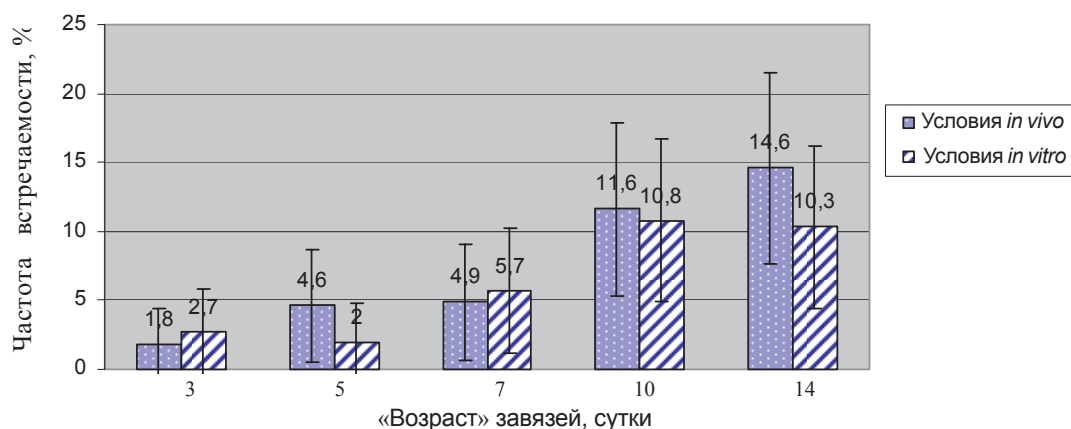


Рис. 3. Количество предпосылок к полиэмбрионии в неопылённых завязях кукурузы линии АТ-1 *in vivo* и *in vitro*

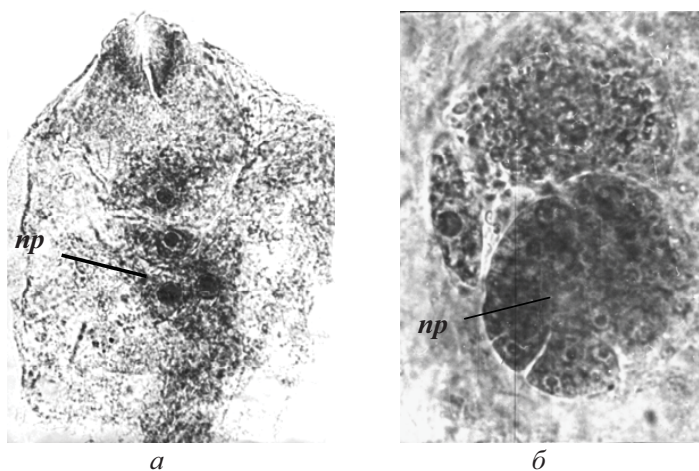


Рис. 4. Зародышевые мешки с проэмбрио (*пр*):
а – с двухклеточным проэмбрио, *б* – с многоклеточным проэмбрио



Затем обе или одна (чаще апикальная) клетки делятся продольно с образованием 3-4-клеточного зародыша. Последующие деления происходят в разных плоскостях. Если перегородка при первом делении яйцеклетки закладывается параллельно (или слегка под углом) к оси зародышевого мешка, то две дочерние клетки фактически становятся самостоятельными инициалами двух зародышей. Асинхронные деления в дериватах яйцеклетки приводят к образованию двух неравноценных по размерам и жизнеспособности зародышей.

В интактных и изолированных завязях были обнаружены также зародышевые мешки с проэмбрио и дополнительными яйцеклетками, с двумя и тремя проэмбрио, расположение которых позволяет предполагать их происхождение из дополнительных яйцеклеток или яйцеклеткоподобных синергид.

В культуре *in vitro* встречались также женские гаметофиты, у которых на месте синергид располагалась бесформенная масса недифференцированных клеток. Возможно, условия культуры *in vitro* провоцировали к пролиферации типичную (неяйцеклеткоподобную) синергиду, в результате чего и появлялись данные каллусоподобные структуры, не приводящие к формированию проэмбрио.

Таким образом, причиной многозародышевости у линии кукурузы АТ-1 могут быть либо независимые деления в дериватах единственной яйцеклетки, либо деления в дополнительных яйцеклетках. Известно, что аналогичные предпосылки к полиэмбрионии были обнаружены в культивируемых *in vitro* завязях ячменя и риса, где отмечалась индукция делений всех четырёх элементов зародышевого мешка, хотя митозы происходили с разной частотой и результатами [29, 30]. По данным других авторов [31], для культуры риса более вероятна синергидная апогаметия, так как сильно вакуолизованная яйцеклетка чаще всего приводит к образованию ценоцита. В неопылённых завязях сахарной свёклы зародыши развиваются из яйцеклетки или антипод [32], а также из синергид [33]. Для завязей табака были описаны случаи образования эмбриоидов из антиподальных клеток [34].

В нашем эксперименте в завязях кукурузы линии АТ-1 в отсутствие оплодотворения полноценный эндосперм не формировался. В некоторых случаях после слияния полярных ядер центральной клетки и последующих каркинезов образовывалась лишь ценоцитная ткань (рис. 5).

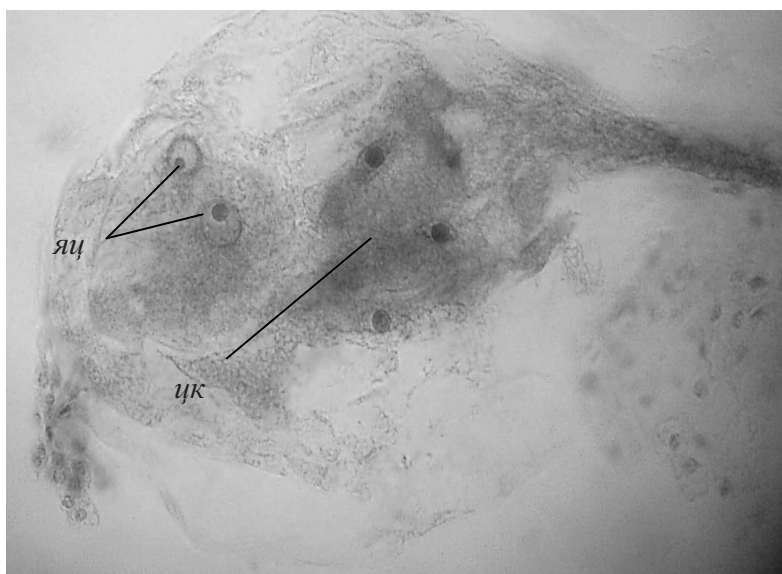


Рис. 5. Зародышевый мешок с двумя яйцеклетками (яц) и 4-ядерной центральной клеткой (цк)

Аномалии в развитии эндосперма или полное его отсутствие, в свою очередь, сказываются на «судьбе» апомиктического проэмбрио.

С увеличением «возраста» завязи (задержка опыления) количество обнаруживаемых в них автономно возникших зародышей возрастало,

и в 14-суточных завязях, находящихся на питательной среде, составляло 13,1%, в то время как в завязях, развивающихся на материнских растениях, – 7,8% (рис. 6).

Жизнеспособность проэмбрио в неопылённых завязях зависит от наличия источника

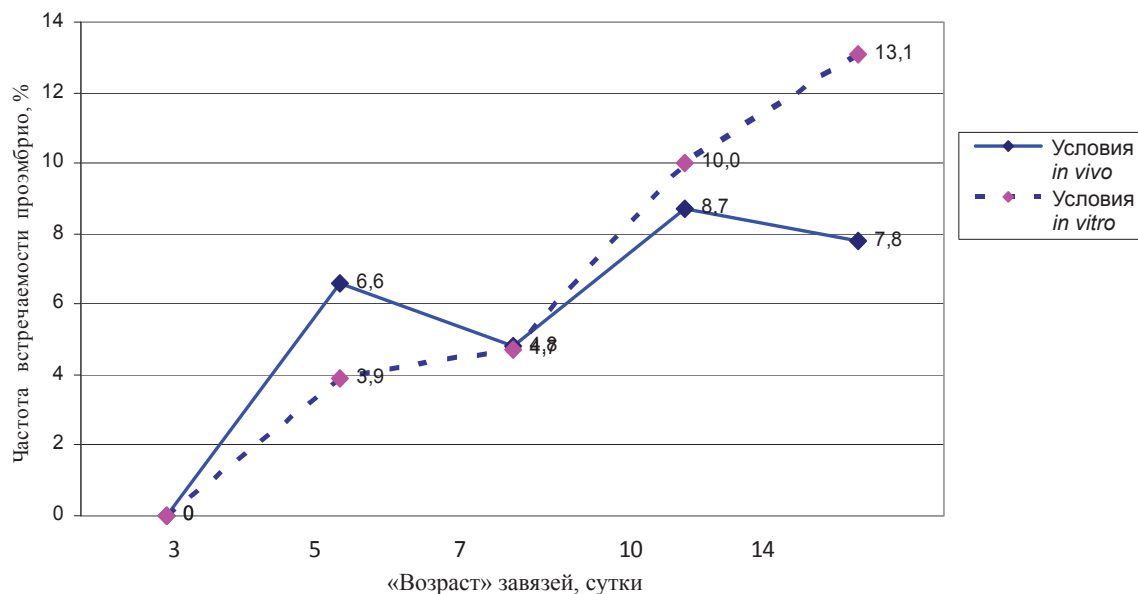


Рис. 6. Развитие парthenогенетических проэмбрио в неопыленных завязях в условиях *in vivo* и *in vitro*

его питания. Экспериментально доказано, что только в культуре *in vitro*, где роль питающего фактора в отсутствие эндосперма берёт на себя искусственная среда, возможно доразвитие проэмбрио до целого растения [35].

Зародыши, возникшие без участия спермия и развивающиеся в завязях початков под изоляторами на материнских растениях, вскоре дегенерировали. Отсутствие полноценного эндосперма или его аномальность являются существенным препятствием для реализации цитозембриологических предпосылок к полиэмбрионии [36]. Однако опыление соцветий с некоторой задержкой ведёт к оплодотворению центральной клетки зародышевого мешка и формированию гаплоидных зародышей на фоне триплоидного эндосперма. При опылении початков в начале

цветения развиваются нормальные зиготические зародыши и полноценные семена.

При проращивании зрелых зерновок (при позднем и нормальном опылении) среди них обнаруживаются семена с двумя, реже тремя близнецовыми проростками (рис. 7).

Следует отметить, что в выборках семян урожая одного года отмечается варьирование частоты проявления многозародышевости в зависимости от растения. При этом могут встречаться в смысле полиэмбрионности «продуктивные» и «непродуктивные» растения. Так, в один из сезонов в завязях, развивающихся в условиях *in vitro*, только у 9 растений из 30 исследованных была зафиксирована многозародышевость. В это же время среди зрелых зиготических зерновок у 11 початков из 25 были выявлены семена с двумя проростками.



Рис. 7. Зерновки кукурузы линии АТ-1: а, б – с двумя близнецовыми проростками, в – тремя близнецовыми проростками



В среднем на один исследуемый сезон частота формирования многозародышевых семян (*in vivo*) составила 1,9% и достоверно не отличалась от частоты неопыленных завязей с несколькими проэмбрио в культуре *in vitro* (1,1%).

Заключение

Таким образом, подводя итог проведённому исследованию, можно констатировать, что установленное сходство в развитии женского гаметофита в условиях *in vivo* и *in vitro*, формирование в нём идентичных предпосылок к полиэмбрионии и синхронность в возникновении проэмбрио в зародышевых мешках без опыления являются выражением склонности данной линии кукурузы к апомиктическому способу размножения. Эта тенденция сохраняется при эксплантации завязей *in vitro* [37].

Мы полагаем, что в данном случае искусственная питательная среда играет лишь трофическую роль, компенсируя отсутствие полноценного эндосперма, необходимого для развития зародышей. Роль культуры *in vitro* как фактора, индуцирующего полиэмбрионию для апомиктической линии кукурузы АТ-1, исключается.

Список литературы

1. Селиванов А. С. Многозародышевость семян и селекция. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1983. Ч. 1. 83 с.
2. Лакиманан К. К., Амбегаокар К. Б. Полиэмбриония // Эмбриология растений: использование в генетике, селекции, биотехнологии : в 2 т. Т. 2 / под ред. В. М. Джори. М. : Агропромиздат, 1990. С. 5–38.
3. Виноградова Г. Ю. Полиэмбриония у *Allium ramosum* L. и *Allium schoenoprasum* L. (сем. Alliaceae) : автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2009. 21 с.
4. Maheschwari P. Polyembryony in Angiosperms // Paleobotanist. 1952. Vol. 1. P. 319–329.
5. Магешвари П. Эмбриология покрытосеменных. М. : Изд-во иностр. лит., 1954. 439 с.
6. Strasburger Ed. Über Polyembryonie. Jena : Zeitschr. Naturw., 1878 Bd. 12. N.F. Bd. 5. S. 647–670.
7. Хохлов С. С. К методике выявления апомиксиса у покрытосеменных растений // Апомиксис и цитоэмбриология растений. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 1968. С. 136–141.
8. Селиванов А. С. Отбор линий с повышенной встречаемостью полиэмбрионии для получения апомиктических форм растений // Апомиксис и цитоэмбриология растений. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 1978. Вып. 4. С. 106–107.
9. Звержанская Л. С. Цитоэмбриологическое изучение партеногенеза и многозародышевости у инбредной и двух реституционных линий кукурузы // Апомиксис и цитоэмбриология растений. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 1983. Вып. 5. С. 104–110.
10. Шишкинская Н. А., Юдакова О. И. Репродуктивная эмбриология дикорастущих злаков // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. 2001. № 5. С. 166–175.
11. Кутлунина Н. А. Эмбриологическое изучение апомиксиса и полиэмбрионии у мятлика лугового // Итоги интродукции и селекции травянистых растений на Урале. Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2001. С. 197–214.
12. Батыгина Т. Б., Виноградова Г. Ю. Феномен полиэмбрионии. Генетическая гетерогенность семян // Онтогенез. 2007. Т. 38, № 3. С. 166–191.
13. Юдакова О.И., Шишкинская Н.А. Особенности эмбриологии апомиктических злаков. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2008. 83 с.
14. Шишкинская Н.А., Юдакова О.И., Тырнов В.С. Явление полигаметии у растений и его возможные эволюционно-генетические эффекты // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2005. Т. 5, вып. 2. С. 25–32.
15. Юдакова О. И., Тырнов В. С. Реализация предпосылок к полиэмбрионии у апомиктических видов мятликов // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2014. Т. 14, вып. 1. С. 81–88.
16. Kappert H. Erbliche Poliembryonie bei *Linum usitatissimum* // Biol. Zbl. 1933. Bd. 53, № 5–6. S. 276–307.
17. Селиванов А. С., Тырнов В. С. Полиэмбриония и гаплоидия // Гаплоидия и селекция. М. : Наука, 1976. С. 77–87.
18. Лобанова Л. П. Изменчивость макроспорогенеза табака под влиянием высокой температуры и её возможные последствия // Бюл. Бот. сада Саратов. гос. ун-та. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2007. Вып. 6. С. 104–108.
19. Селиванов А. С., Тырнов В. С. Опыт получения поли- и моноэмбрионных гаплоидов у перца (*Capsicum annuum* L.) // Вопросы интродукции и акклиматизации растений : сб. работ молодых ученых бот. садов СССР. М. : Наука, 1971. С. 66–67.
20. Алаторцева Т. А., Лобанова Л. П., Еналеева Н. Х. Репродукция *de novo* элементов гинеза в культуре неопыленных завязей и семян табака // Вестн. Башкир. ун-та. 2001. Спец. вып., № 20. С. 102.
21. Алаторцева Т. А., Лобанова Л. П., Еналеева Н. Х. Морфогенетические преобразования неопыленных завязей и семян табака в культуре *in vitro* // Репродуктивная биология, генетика и селекция. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2002. С. 76–82.
22. Тырнов В. С., Еналеева Н. Х. Автономное развитие зародыша и эндосперма у кукурузы // Докл. АН СССР. 1983. № 3. С. 722–725.
23. Курпьянов П. Г. Ускоренные методы исследования зародышевого мешка // Выявление апомиктических форм во флоре цветковых растений СССР. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 1978. С. 155–163.
24. Юдакова О. И., Гуторова О. В., Беляченко Ю. А. Методы исследования репродуктивных структур и органов растений. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2012. 38 с.
25. Webber J. M. Polyembryony // Bot. Rev. 1940. Vol. 6, № 11. P. 575–598.
26. Алаторцева Т. А., Апанасова Н. В. Полиэмбриония *in vivo* и *in vitro* у апомиктической линии кукурузы АТ-1 // Биотехнология как инструмент сохранения биораз-



- нообразия растительного мира (физиолого-биохимические, эмбриологические, генетические и правовые аспекты): материалы VII междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 30-летию отд. биотехнологии растений Никитского бот. сада. Симферополь: Ариал, 2016. С. 304, 305.
27. Гуторова О. В., Апанасова Н. В., Юдакова О. И. Создание генетически маркированных линий кукурузы с наследуемым и индуцированным типами партеногенеза // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2016. Т. 18, № 2 (2). С. 341–344.
28. Юдакова О. И. Аномалии развития женского гаметофита у апомиктичных форм мятликов // Онтогенез. 2009. Т. 40, № 3. С. 38–46.
29. San Noeum L. H. *In vitro* induction of gynogenesis in higher plants // Proc. Conf. Broadening Genet. Base Crops. Wageningen, 1978. P. 327–329.
30. Zhou C., Yang H. Y. Induction of haploid rice plantlets by ovary culture // Plant Sci. Lett. 1981. Vol. 20. P. 231–237.
31. Tian H.-G., Yang H.-Y. Synergid apogamy and egg cell anomalous division in cultured ovaries of *Oryza sativum* L. // Acta Bot. Sin. 1983. Vol. 25, № 5. P. 403–408.
32. Bossoutrot D., Hosemans D. Gynogenesis in *Beta vulgaris* L.: From *in vitro* culture of unpollinated ovules to the production of doubled haploid plants in soil // Plant Cell Rep. 1985. Vol. 4. P. 300–303.
33. Beloos A. E., Berdyshev A. G., Oleynik N. A., Perphlyeva L. P. Sugar beet embryos development during cultivation of isolated ovules *in vitro* // Embryology and seed reproduction: Proc. XI Intern. Symp. Leningrad. USSR. 1990. St. Petersburg: Nauka, 1992. P. 71.
34. Yang H. Y., Zhou C. *In vitro* induction of haploid plants from unpollinated ovaries and ovules // Theor. Appl. Genet. 1982. Vol. 63 (2). P. 97–104.
35. Alatoritseva T. A., Tyrnov V. S. *In vitro* and *in vivo* endospermo-genesis in partheno-genetical maize lines // Maize Genetics Coop. USA. 2001. Vol. 75. P. 55–56.
36. Юдакова О. И., Тырнов В. С. Реализация предпосылок к полиэмбрионии у апомиктичных видов мятликов // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2014. Т. 14, вып. 1. С. 25–32.
37. Алаторцева Т. А., Тырнов В. С. Гормоннезависимое проявление эмбриогенеза *in vitro* у партеногенетической линии кукурузы // Бюл. Бот. сада Саратов. гос. ун-та. Саратов: Науч. кн., 2003. Вып. 2. С. 158–160.

Polyembryony Phenomenon in Apomictic Maize Line *in vivo* and *in vitro*

T. A. Alatoritseva, N. V. Apanasova, L. P. Lobanova

Tatyana A. Alatoritseva, ORCID 0000-0001-5280-5933, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, alatoritsevata@mail.ru

Natalia V. Apanasova, ORCID 0000-0002-5496-0862, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, apanasova.natasha@mail.ru

Ludmila P. Lobanova, ORCID 0000-0001-7982-3621, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, lobanova-lp@yandex.ru

The article is focused on studying of cytoembryological preconditions of polyembryony in the not pollinated ovary of the apomictic maize line AT-1 under *in vitro* and *in vivo* conditions. For an assessment of a nutrient medium role in polyembryony induction a relative analysis of the embryo sacs in cultivated *in vitro* and native plants ovaries has been lead. Dynamics of formation in them an apomictic twin proembryo is traced. In the study line the cause of polyembryony can be either an independent divisions in derivatives of egg cell, or division in additional egg cells. The female gametophytes are characterized by identical peculiarity of its development, spectrum of anomalies, preconditions of a polyembryony and synchronism of embryogenesis. It is evidence about a conservation of genetical determined propensity to apomixis and polyembryony in the cultivated ovaries. The artificial nutrient medium plays only trophic role, compensating absence of a native endosperm, that necessary for embryos development. A role of *in vitro* culture as a factor inducing a polyembryony in the apomictic maize line AT-1 is excluded.

Key words: corn, apomixis, polyembryony, embryo sac, *in vitro*, *in vivo*.

Образец для цитирования:

Алаторцева Т. А., Апанасова Н. В., Лобанова Л. П. Явление полиэмбрионии *in vivo* и *in vitro* у апомиктичной линии кукурузы // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 397–404. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-397-404.

Cite this article as:

Alatoritseva T. A., Apanasova N. V., Lobanova L. P. Polyembryony Phenomenon in Apomictic Maize Line *in vivo* and *in vitro*. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 397–404 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-397-404.



УДК 595.42+599.32 (470.44)

ГАМАЗОВЫЕ КЛЕЩИ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ КРАСНОАРМЕЙСКОГО РАЙОНА САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

А. М. Поршаков, В. Н. Чекашов, К. С. Захаров

Поршаков Александр Михайлович, старший научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов), кандидат биологических наук. E-mail: pam_82@mail.ru

Чекашов Владимир Николаевич, старший научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов), кандидат биологических наук. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Захаров Кирилл Сергеевич, младший научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов). E-mail: zaharov_ks@mail.ru

Введение. Гамазовые клещи – группа наземных членистоногих имеющая древние и прочные связи с рядом возбудителей природноочаговых инфекций и составляют значительную часть эктопаразитов мелких млекопитающих. По литературным данным и собственным исследованиям фауна гамазовых клещей Саратовской области насчитывает 44 вида. **Цель исследования.** Изучение современного состояния фауны гамазовых клещей, экологически связанных с грызунами на территории Красноармейского района Саратовской области. **Материалы и методы.** Исследование проводилось в сентябре-октябре 2010 г. и в августе 2012 г. На наличие эктопаразитов было осмотрено 309 мелких млекопитающих. Было собрано 274 экземпляра гамазид. **Результаты и их обсуждение.** В статье представлены новые данные о видовом составе гамазовых клещей, обитающих на мелких млекопитающих Красноармейского района Саратовской области. На основании литературных данных и собственных исследований зарегистрировано 17 видов гамазовых клещей (11 родов, 7 семейств). Выявлено два вида гамазовых клещей, ранее не отмечавшихся в этом районе: *Myonyssus rossicus* Bregetova, 1956, *Hirstionyssus musculi* (Johnston, 1849). **Ключевые слова:** гамазовые клещи, паразитические членистоногие, мелкие млекопитающие, Саратовская область.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-405-409

Введение

Гамазовые клещи – значительная по количеству видов группа наземных членистоногих. Они имеют древние и прочные связи с рядом возбудителей природноочаговых инфекций и составляют существенную часть эктопаразитов мелких млекопитающих. Паразитические гамазовые клещи участвуют в поддержании и распространении многих природно-очаговых болезней (туляремия, чума, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС), лептоспироз, риккетсиоз, лихорадка Ку и др.) [1–4].



Эти особенности определили повышенное внимание к изучению эколого-эпизоотологических показателей при эпидемиологическом надзоре за инфекционной заболеваемостью в регионе. По литературным данным и собственным исследованиям фауна гамазовых клещей Саратовской области насчитывает 44 вида [5–9].

Целью работы являлось изучение современного состояния фауны гамазовых клещей, экологически связанных с грызунами на территории Красноармейского района Саратовской области.

Материалы и методы

Материалы получены в процессе эпизоотологического мониторинга популяций животных – потенциальных носителей и переносчиков возбудителей зоонозов в Красноармейском районе Саратовской области [10]. Красноармейский район расположен в юго-восточной части Правобережья в Волго-Карамышском ландшафтном районе Саратовской области [11], граничит с Волгоградской областью на западе и юге, Лысогорским и Саратовским районами на севере, с востока омывается водами Волгоградского водохранилища [12]. Сбор гамазовых клещей проводили в сентябре-октябре 2010 г. и в августе 2012 г.

В полевой работе использовали стандартные методики количественного учета и отлова мелких млекопитающих ловушками Геро (давилками). Сбор членистоногих проводили при осмотре мелких млекопитающих. Необходимым условием, обеспечивающим ценность собранного материала, являлась изоляция добытых животных (помещение в мешочки по видам), чтобы эктопаразиты не попали с одного вида на другой.

При проведении эпизоотологического мониторинга в Красноармейском районе Саратовской области отработано 1690 ловушко-ночей. Отловлено и осмотрено на наличие эктопаразитов 309 мелких млекопитающих. Номенклатура млекопитающих принята по работе Павлинова, Лисовского [13]. С отловленных животных собрано 274 экземпляра гамазовых клещей. Номенклатура гамазовых клещей принята по работам Брежетовой и Beaulieu (2011) [1, 14, 15].

Видовую диагностику клещей проводили путем микроскопирования временных препара-



тов, изготовленных с использованием смеси Фора-Берлезе [1] или 80 % молочной кислоты. При приготовлении препарата с молочной кислотой клеща переносили из спирта на предметное стекло в 1–2 капли реактива и накрывали покровным стеклом. Препараты оставляли просветляться при комнатной температуре на 3–4 ч, после чего можно было рассмотреть под микроскопом все детали клещей, необходимые для видовой диагностики. Этот способ требует минимальных затрат времени и позволяет проводить повторное изучение объекта.

Для количественного учета эктопаразитов, собранных с мелких млекопитающих, проводили расчеты индекса обилия (ИО) и индекса доминирования (ИД). Результаты камеральной обработки суммировали в таблицы, где представлены абсолютные значения и числовые индексы (доминирования, обилия) по видам клещей на животных-хозяевах.

Результаты и их обсуждение

В период проведения исследований на территории Красноармейского района Саратовской области нами проанализированы сборы гамазовых клещей с 309 мелких млекопитающих 6 видов: малая лесная мышь (*Sylvaemus uralensis* Pallas, 1811), домовая мышь (*Mus musculus* Linnaeus, 1758), полевая мышь (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771), желтогорлая мышь (*Sylvaemus flavicollis* Melchior, 1834), лесная соня (*Dryomys nitedula* Pallas, 1778), обыкновенная полёвка (*Microtus arvalis* Pallas, 1778). Основную массу в сборах составили три вида (90,3 %) грызунов (малая лесная, домовая и полевая мыши), остальные виды (желтогорлая мышь, обыкновенная полёвка, лесная соня) составили 9,7 % (табл. 1).

Таблица 1

Видовой состав мелких млекопитающих и количество собранных с них гамазовых клещей в Красноармейском районе Саратовской области в 2010 и 2012 гг.

Виды мелких млекопитающих	Количество			
	зверьков		гамазовых клещей	
	абс.	%	абс.	%
Малая лесная мышь	131	42,4	103	37,6
Домовая мышь	97	31,4	112	40,9
Полевая мышь	51	16,5	0	0,0
Желтогорлая мышь	21	6,8	59	21,5
Лесная соня	5	1,6	0	0,0
Обыкновенная полёвка	4	1,3	0	0,0
Итого:	309	100,0	274	100,0

По данным Давидович [7], паразитофауна мышевидных грызунов Красноармейского района Саратовской области включала 15 видов (10 родов, 7 семейств) гамазовых клещей. Таксономический состав гамазовых клещей, собранных нами с мелких млекопитающих в этом районе в 2010 и 2012 гг., представлен 7 видами, 6 родами и 3 семействами (Laelapidae, Hirstionyssidae, Haemogamasidae): *Androlaelaps glasgowi* Ewing, 1925, *Eulaelaps stabularis* (C. L. Koch, 1836), *Laelaps algericus* Hirst, 1925, *L. agilis* C. L. Koch, 1836, *Myonyssus rossicus* Bregetova, 1956, *Haemogamasus nidi* Michael, 1892, *Hirstionyssus musculi* (Johnston, 1849). Нами выявлено два вида гамазовых клещей, ранее не отмечавшихся в Красноармейском районе: *M. rossicus* и *Hi. musculi*. Распределение гамазовых клещей по мелким млекопитающим приведено в табл. 2.

Androlaelaps glasgowi – типичный гнездово-норовый факультативный кровосос, способен высасывать кровь из напившихся кровью личинок иксодовых клещей и нимф с проколом покровов [16]. Паразитирует на многих видах животных (около 60). Может хранить до года и передавать своему потомству риккетсии, способен сохранять вирус клещевого энцефалита 12 дней. От *A. glasgowi* выделены штаммы возбудителя нефрозо-нефрита, туляремии, ГЛПС. Установлено спонтанное носительство лихорадки Ку, участвует в циркуляции и резервации вирусов клещевого энцефалита и ЛЗН [2, 17, 18]. По результатам наших исследований в Красноармейском районе *A. glasgowi* обнаружен на трех видах мелких млекопитающих и составил 21,7% от общего количества всех собранных гамазовых клещей.

Eulaelaps stabularis – факультативный гематофаг в равной степени с зоофагией в сочетании с некрофагией, схизофагией, каннибализмом и способностью нападать на личинок иксодовых клещей. Массовый вид на зверьках и в их гнездах [16]. При исследовании суспензии клещей нескольких видов, куда входил *E. stabularis*, выделяли штаммы вируса клещевого энцефалита и риккетсии Бернета. Установлена способность *E. stabularis* сохранять вирус клещевого энцефалита до 18 дней [2]. Данный вид является обычным на всей территории Саратовской области. В наших сборах в Красноармейском районе *E. stabularis* собран с трех видов мелких млекопитающих.

Laelaps agilis – облигатный гематофаг, паразит желтогорлой и лесной мышей. Единично обнаруживается на других грызунах. Сопутствует своим основным хозяевам по всему их



Таблица 2

Видовой состав и показатели количественного распределения гамазовых клещей на мелких млекопитающих в Красноармейском районе Саратовской области в 2010 и 2012 гг.

Виды клещей и показатели обилия	Виды млекопитающих						Всего клещей	Индекс доминирования, %
	малая лесная мышь	домовая мышь	полевая мышь	желтогорлая мышь	лесная соя	обыкновенная полевка		
<i>A. glasgowi</i>	40	12	–	6	–	–	58	21,7
<i>E. stabularis</i>	13	12	–	9	–	–	34	12,0
<i>L. agilis</i>	4	–	–	29	–	–	33	12,0
<i>L. algericus</i>	72	56	–	–	–	–	128	46,7
<i>Hg. nidi</i>	–	–	–	7	–	–	7	2,5
<i>Hi. musculi</i> *	6	–	–	7	–	–	13	4,7
<i>M. rossicus</i> *	–	–	–	1	–	–	1	0,4
Количество клещей	135	80	0	59	0	0	274	100,0
Число грызунов	131	97	51	21	5	4	309	–
Общий индекс обилия	1,0	0,8	0,0	2,8	0,0	0,0	0,9	–

Примечание. * – виды, впервые отмеченные для данной территории.

ареалу. От *L. agilis* выделяли возбудителя лимфоцитарного хориоменингита [2, 18]. В наших сборах данный вид был собран со своих основных хозяев.

Laelaps algericus – облигатный гематофаг. Предпочитает в качестве хозяина домовую мышь, но может встречаться и на других видах мышей [16]. Служит переносчиком лимфоцитарного хориоменингита. В природном очаге чумы Урало-Эмбинского междуречья в условиях разлитой эпизоотии среди домашних мышей от *L. algericus*, снятых с погибшей мыши, выделена культура *Yersinia pestis* [2]. Данный вид гамазовых клещей может иметь большое эпидемиологическое значение как специфический паразит домашней мыши. По данным Давидович [7], этот вид обнаружен во всех районах Саратовской области. В наших исследованиях в Красноармейском районе *L. algericus* собран с малой лесной и домашней мышью.

Haemogamasus nidi – факультативный гематофаг, один из многочисленных видов гамазид в европейской части России, где его основными прокормителями являются рыжая, обыкновенная полевка, лесная и полевая мыши [19]. Инфицируется риккетсиями Бернета при кормлении на морских свинках, белых мышках, пеструшках и золотистых хомячках с высоким уровнем риккетсий. Риккетсии проникают из кишечника в полость тела и заселяют слюнные железы и яичники, в результате чего происходит инокулятивная и трансвариальная передача возбудителя. Зарегистрирована спонтанная зараженность вирусом клещевого энцефалита; выделены культуры воз-

будителя туляремии [20]. Не исключена возможность участия в циркуляции возбудителя лихорадки Ку и лимфоцитарного хориоменингита [2]. По литературным данным [7] этот вид обнаружен во всех районах Саратовской области. В наших исследованиях *Hg. nidi* собран с желтогорлой мышью.

Hirstionyssus musculi – облигатный кровосос, паразитирует на многих видах мышей: домашней, полевой, лесной, желтогорлой, мыши-малютке, на серой крысе и обыкновенной, общественной, узкочерепной, рыжей и др. полевках. *Hi. musculi* при кровососании может воспринимать вирус клещевого энцефалита, возбудителя лихорадки Ку и бруцеллеза. От данного вида клещей выделяли культуру туляремийного микроба. Предполагают, что в природе в организме *Hi. musculi* микроб сохраняется до 6 месяцев. Может участвовать в циркуляции этих возбудителей [2]. По данным Давидович, *Hi. musculi* отмечался в шести районах Саратовской области (Саратовский, Энгельский, Балаковский, Ровенский, Краснокутский, Самойловский). При обследовании нами Красноармейского района *Hi. musculi* собран с малой лесной (6 экз.), желтогорлой (7 экз.) мышью.

Myonyssus rossicus (1 экз., 0,4%) является облигатным гематофагом. Редкий и малочисленный паразит рыжих и серых полевков, серой крысы, водяной полевки, домашней и лесной мышью [2]. *M. rossicus* ранее не регистрировался в Красноармейском районе, нами встречена всего одна особь данного вида на желтогорлой мышью. По литературным данным [7] *M. rossicus* регистрировался в трех районах Саратовской области (Ро-



мановский, Турковский, Ровенский) при осмотре малой лесной, полевой, желтогорлой мышей и водяной полевки.

Исходя из литературных данных и собственных исследований, таксономический состав гамазовых клещей Красноармейского района Саратовской области следующий:

Отряд Mesostigmata G. Canestrini, 1891

Подотряд (коготка) Gamasina Leach, 1815
Сем. Laelapidae Berlese, 1892

Род *Androlaelaps* Berlese, 1903

A. glasgowi Ewing, 1925

Род *Eulaelaps* Berlese, 1903

E. stabularis (C. L. Koch, 1836)

Род *Laelaps* C. L. Koch, 1836

L. agilis C. L. Koch, 1836

L. algericus Hirst, 1925

L. hilaris C. L. Koch, 1836

L. muris (Ljungh, 1799)

L. arvalis Zachvatkin, 1948 (= *Hyperlaelaps arvalis*)

Род *Hyperlaelaps* Zachvatkin, 1948

H. amphibious Zachvatkin, 1948

Род *Myonyssus* Tiraboschi, 1904

M. rossicus Bregetova, 1956

Сем. Rhodacaridae Oudemans, 1902

Род *Cyrtolaelaps* Berlese, 1887

C. mucronatus G. et. R. Canestrini, 1881

Сем. Haemogamasidae Oudemans, 1926

Род *Haemogamasus* Berlese, 1889

Hg. nidi Michael, 1892

Hg. nidiformes Bregetova, 1955

Сем. Hirstionyssidae Evans et Till., 1966

Род *Hirstionyssus* Fonseca, 1948

Hi. isabellinus Oudemans, 1913

Hi. musculi (Johnston, 1849)

Сем. Macrochelidae Vitzthum, 1930

Род *Macrocheles* Latreille, 1829

M. decoloratus (C. L. Koch, 1839)

Сем. Parasitidae Oudemans, 1902

Род *Poecilochirus* G. et. R. Canestrini, 1882

P. necrophori Vitzthum, 1930

Сем. Euryparasitus Oudemans, 1901

Род *Euryparasitus* Oudemans, 1902

E. emarginatus (C. L. Koch, 1839)

Таким образом, на основании проведенных исследований установлено, что на территории Красноармейского района Саратовской области на мелких млекопитающих паразитирует 17 видов гамазовых клещей. Нами выявлено два вида гамазовых клещей, ранее не отмечавшихся на территории Красноармейского района. Некоторые виды гамазид могут принимать участие в поддержании природно-очаговых болезней. На данный период на территории Саратовской обла-

сти зарегистрировано 44 вида гамазовых клещей. Можно предположить, что указанный список гамазид для Красноармейского района далеко не исчерпывающий и при последующем изучении, несомненно, будет пополняться новыми видами.

Список литературы

1. *Брежетова Н. Г.* Гамазовые клещи (Gamasoidea) : краткий определитель. М. ; Л. : Изд-во АН СССР, 1956. 247 с.
2. *Земская А. А.* Паразитические гамазовые клещи и их медицинское значение. М. : Медицина, 1973. 166 с.
3. *Тарасов В. В.* Медицинская энтомология. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1996. С. 307.
4. *Аганова И. Н.* К фауне и экологии гамазовых клещей грызунов в эпидохагах Воронежской области // Первое акарологическое совещание АН СССР : тез. докл. М. ; Л. : Наука, 1966. С. 7–8.
5. *Давидович В. Ф.* Многолетние колебания численности водяной полевки и ее контакт с другими животными в природном очаге туляремии Саратовской области // Десятое совещание по паразитологическим проблемам и природно-очаговым болезням : тез. докл. М. ; Л. : Изд-во АН СССР, 1959. С. 8–9.
6. *Давидович В. Ф.* Ландшафтно-географические особенности фауны гамазовых клещей мышевидных грызунов Саратовской области. Первое акарологическое совещание АН СССР : тез. докл. М. ; Л. : Наука, 1966. С. 76–77.
7. *Давидович В. Ф.* Экологические факторы природной очаговости туляремии в Саратовской области : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 1968. 18 с.
8. *Давидович В. Ф., Игонина И. Л.* К экологии водяной полевки в пойме р. Волги Саратовской области // Грызуны и борьба с ними. 1957. Вып. 5. С. 175–189.
9. *Поршаков А. М., Яковлев С. А., Курняева А. Д.* Гамазовые клещи мелких млекопитающих полупустынной зоны саратовского Заволжья // Паразитология. 2017. № 2. С. 132–142.
10. *Захаров К. С., Матросов А. Н., Чекашов В. Н., Поршаков А. М., Шилов М. М., Яковлев С. А., Князева Т. В., Кузнецов А. А., Красовская Т. Ю., Казорина Е. В., Найденова Е. В., Казанцев А. В.* Биоценологическая структура антропоургического и природно-антропоургического очагов лихорадки Западного Нила в Саратовской области // Пест-менеджмент (РЭТ-инфо). 2016. № 3. С. 9–18.
11. *Макаров В. З., Пичугина В. А., Данилова А. В., Фёдорова А. В.* Ландшафтное картографирование : учеб. пособие для студентов. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2013. 100 с.
12. *Дёмина А. М., Макарецова Л. В., Уставщикова С. В.* География Саратовской области. Саратов: Лицей, 2005. 336 с.
13. *Павлинов И. Я., Лисовский А. А.* Млекопитающие России : систематико-географический справочник. М. : Т-во науч. изд. КМК, 2012. 604 с.
14. *Брежетова Н. Г.* О таксономической структуре системы паразитиформных клещей (Acarina, Parasitiformes) //



- Морфология и диагностика клещей. Л. : ЗИН АН СССР, 1977. С. 69–78.
15. *Beaulieu F.* Superorder Parasitiformes Reuter, 1909. // *Animal biodiversity : an outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness* / ed. Z.-Q. Zhang. Zootaxa. 2011. № 3148. P. 123–128.
 16. *Никулина Н. А.* Эколого-фаунистическая характеристика некоторых видов паразитических гамазовых клещей мелких млекопитающих в природных комплексах России // *Вестн. ИрГСХА. Иркутск*, 2008. Вып. 32. С. 55–82.
 17. *Никулина Н. А.* Каталог паразитических гамазовых клещей млекопитающих Северной Евразии. СПб. : Акционер и Ко, 2004. 170 с.
 18. *Сенотрусова В. Н.* Гамазовые клещи – паразиты диких животных Казахстана. Алма-Ата : Наука АН КазССР, 1987. 224 с.
 19. *Никулина Н. А.* Население гамазовых клещей мелких млекопитающих в природных комплексах России : дис. ... д-ра биол. наук. Красноярск, 2007. 344 с.
 20. *Никулина Н. А.* Эпизоологическая и эпидемиологическая значимость гамазовых клещей (сем. *Haemogamasidae*, Oudms., 1926, р. *Haemogamasus* Berl., 1889) мелких млекопитающих на территории Прибайкалья // *Бюл. ВСНЦ СО РАМН*. 2006. № 2 (48). С. 111–114.

Gamaside Mites of the Small Mammals Habitant in the Krasnoarmeisky Locality of the Saratov Region

A. M. Porshakov, V. N. Chekashov, K. S. Zakharov

Alexandr M. Porshakov, ORCID 0000-0003-3363-765X, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, pam_82@mail.ru

Vladimir N. Chekashov, ORCID 0000-0002-9593-4353, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru

Kirill S. Zakharov, ORCID 0000-0002-4726-309X, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, zaharov_ks@mail.ru

Introduction. Gamaside mites have ancient, strong links to a number of pathogens of natural-focal diseases. They constitute a considerable part of ectoparasites living on small mammals. According to literature data and own research results, the fauna of Gamaside mites in the Saratov Region includes 44 species. Objective of the study was to investigate the current state of Gamaside mite fauna ecologically associated with rodents in the territory of the Krasnoarmeisk District of the Saratov Region. **Materials and methods.** The research was conducted in September-October, 2010 and in August, 2012. 309 small mammals were caught and examined for presence of ectoparasites; 274 specimens of gamaside mites were collected. Index of dominance and abundance index were then calculated. **Results and conclusions.** The article reports the new data on the species composition of gamaside mites and presents comparative analysis of the species living on small mammals, habitant in the Krasnoarmeisk District of the Saratov Region. Registered have been 17 species of gamaside mites (11 genus, 7 families). Identified have been 2 species of gamaside mites never found in this area earlier: *Myonyssus rossicus* (Bregetova, 1956), *Hirstionyssus musculi* (Johnston, 1849).

Key words: gamaside mites, parasitic arthropods, small mammals, Saratov Region.

Образец для цитирования:

Поршаков А. М., Чекашов В. Н., Захаров К. С. Гамазовые клещи мелких млекопитающих Красноармейского района Саратовской области // *Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология*. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 405–409. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-405-409.

Cite this article as:

Porshakov A. M., Chekashov V. N., Zakharov K. S. Gamaside Mites of the Small Mammals Habitant in the Krasnoarmeisky Locality of the Saratov Region. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 405–409 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-405-409.



УДК 575.224.22

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА DEFБ4А У ЛИЦ, СТРАДАЮЩИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА

Р. А. Верховский, Е. В. Глинская

Верховский Роман Аркадьевич, магистр биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: r.a.verhovskiy@mail.ru

Глинская Елена Владимировна, доцент кафедры микробиологии и физиологии растений, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат биологических наук. E-mail: elenavg-2007@yandex.ru

Ключевые слова: ВЗП, пародонтит, гингивит, SNP, β -дефензин-2, DEFБ4А.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-410-412

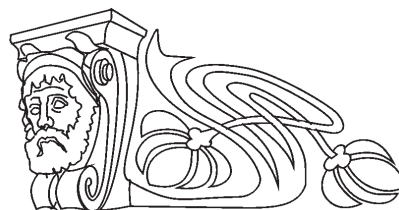
Воспалительные заболевания пародонта (ВЗП) относят к числу массовых стоматологических заболеваний, этиология которых на данный момент еще не до конца изучена. Одной из главных причин возникновения ВЗП является дисбаланс нормальной микрофлоры полости рта, вызванный увеличением доли пародонтопатогенных микроорганизмов [1]. Исход и течение инфекционного процесса в пародонте может быть предопределен не только вирулентностью микробов, но и генетическим полиморфизмом организма человека. За последнее десятилетие накоплен значительный объем данных, свидетельствующих об активном участии α - и β -дефензинов в процессах сано- и патогенеза широкого круга заболеваний [2, 3].

Цель работы

Изучение полиморфизма гена DEFБ4А, кодирующего β -дефензин-2 у людей больных ВЗП.

Задачи

1. Изучить микробный состав зубного налета и десневой жидкости у больных ВЗП и у лиц со здоровым пародонтом.
2. Сконструировать 2 пары праймеров, фланкирующих регионы гена DEFБ4А.
3. Амплифицировать и выделить ДНК двух фрагментов гена DEFБ4А.
4. Определить нуклеотидную и аминокислотную последовательности.
5. Провести анализ нуклеотидной последовательности фрагментов ДНК методом множественного выравнивания.



Работа выполнена на базе лаборатории молекулярной биологии и кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, лаборатории кафедры стоматологии общей практики и подготовки зубных техников, факультета последиplomного образования Московского государственного медико-стоматологического университета имени А. И. Евдокимова. Синтез праймеров и секвенирование амплифицированных фрагментов осуществлялись на базе ОАО «СИНТОЛ» г. Москва.

Определение видового состава пародонтопатогенной микрофлоры производилось методом ПЦР с использованием набора реагентов «Мультиидент-5» производства ООО НПФ «Генлаб».

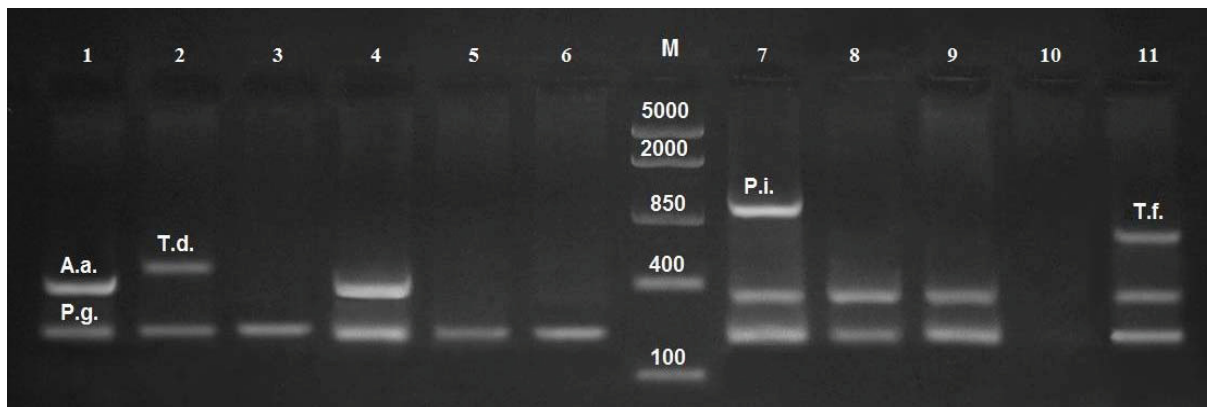
Конструирование фланкирующих праймеров осуществлялось на основе данных, взятых из базы NCBI, с использованием компьютерной программы GeneRunner.

Детекция результатов ПЦР проводилась методом электрофореза в 1% агарозном геле, приготовленном на 10-кратном буфере TAE. Для просмотра и фотографирования гелей использовали ультрафиолетовый трансиллюминатор УВТ-1 (Biokom). В исследуемых образцах при положительном результате ПЦР определялось от одной до пяти светящихся полос (рисунок).

Очистка амплифицированных фрагментов производилась на колонках с использованием набора реагентов «QIAquick PCR Purification Kit».

Анализ полученных последовательностей ДНК осуществлялся методом множественного выравнивания с использованием программы MEGA 7.

Объектом исследования явились образцы ДНК пародонтопатогенных микроорганизмов, выделенных из содержимого десневой борозды, и образцы тотальной ДНК, полученные из крови больных воспалительными заболеваниями пародонта. Забор биологического материала и последующее выделение ДНК осуществлялись сотрудниками лаборатории кафедры



Электрофореграмма продуктов ПЦР, амплифицированных в реакции с образцами десневой жидкости: P.g. – *P. gingivalis* (197 п. н.), P.i. – *P. intermedia* (1000 п.н.), T.d. – *T. denticola* (512 п.н.), T.f. – *T. forsythia* (747 п.н.), A.a. – *A. actinomycetemcomitans* (360 п.н.)

стоматологии общей практики и подготовки зубных техников факультета последипломного образования Московского государственного медико-стоматологического университета имени А. И. Евдокимова.

В ходе исследования у 110 человек, вошедших в исследуемую группу, была определена пародонтопатогенная микрофлора. *P.gingivalis* вне комплекса встречалась в 24,5% случаев. Комплекс *P.gingivalis* и других пародонтопатогенных микроорганизмов из числа исследуемых встречался в 62,7% случаев. Комплексы, в состав которых не входила *P.gingivalis*, были выявлены у 7,3% человек. Пародонтопатогенные микроорганизмы не были обнаружены у 5,5% человек.

Последовательности участков гена DEF4A были определены у 28 человек. В результате анализа полученных данных нами было выявлено 27 точечных нуклеотидных замен. В пределах 5'-UTR было выявлено две SNP, часто встречаемых у представителей со средней и тяжелой формами течения заболевания. Первая мутация встречалась в 30,4, вторая – 60% случаев.

В ходе исследования было выявлено две SNP, в пределах 5'-UTR, наиболее часто встречаемых у представителей со средней и тяжелой формами течения заболевания. Таким образом, можно предположить, что данные SNP выступают в качестве маркеров предрасположенности к возникновению ВЗП.

Список литературы

1. Аболмасов Н. Н. Стратегия и тактика профилактики заболеваний пародонта // Стоматология. 2003. № 4. С. 34–39.

2. Greer A., Zenobia C., Darveau R. P. Defensins and LL-37: a review of function in the gingival epithelium // Periodontol 2000. 2013. Vol. 63, № 1. P. 67–79.
3. Li X., Duan D., Yang J., Wang P., Han B., Zhao L., Jepsen S., Dommisch H., Winter J., Xu Y. The expression of human β -defensins (hBD-1, hBD-2, hBD-3, hBD-4) in gingival epithelia // Arch. Oral Biol. 2016. Vol. 66. P. 15–21.

Study of the Polymorphism DEF4A Gene in Individuals Suffering from Periodontal Inflammatory Diseases

R. A. Verkhovskiy, E. V. Glinskaya

Roman A. Verkhovskiy, ORCID 0000-0003-1830-4582, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, r.a.verhovskiy@mail.ru

Elena V. Glinskaya, ORCID 0000-0002-1675-5438, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, elenavg-2007@yandex.ru

Key words: inflammatory periodontal disease, periodontitis, gingivitis, SNP, β -defensin-2, DEF4A.

Inflammatory periodontal disease is considered a mass dental disease, the etiology of which is not yet fully understood. One of the main reasons occurrence of inflammatory periodontal disease is an imbalance in the normal microflora of the oral cavity, caused by an increase in the proportion of parodontopathogenic microorganisms [1]. The outcome of the infectious process in the periodontium can be predetermined not only by the virulence of microbes, but also by the genetic polymorphism of the human body. Over the past decade, a significant amount of data has been accumulated, indicating the active participation of α - and β -defensins in the processes of the pathogenesis of a wide range of diseases [2, 3].



Aim

Study the polymorphism of the DEFB4A gene, which codes for β -defensin-2 in people suffering from periodontal inflammatory diseases.

The work was carried out on the basis of the Laboratory of Molecular Biology of the SSU named after N. G. Chernyshevsky, the laboratory of the Department of General Practitioner Dentistry and Training of Dental Technicians of Moscow State University of International Relations named after A. I. Evdokimov (Moscow). Synthesis of primers and sequencing of amplified fragments was carried out on the basis of OJSC «СИНТОЛ» (Moscow).

Determination of the species composition of the parodontopathogenic microflora was carried out using the PCR method using the Multident-5 reagent kit (LLC NPF Genlab).

The flanking primers were designed on the basis of data from the NCBI database using computer program the GeneRunner.

Detection of the PCR results was carried out by electrophoresis in a 1% agarose gel prepared on a 10-fold TAE buffer.

Purification of the amplified fragments was performed on the columns using the QIA quick PCR Purification Kit.

Analysis of the obtained DNA sequences was carried out by the method of multiple alignment using the program MEGA 7.

The subjects of the study were DNA of parodontopathogenic microorganisms and total human DNA.

In the course of study, the parodontopathogenic microflora was determined in 110 patients included in the study group. *P. gingivalis* outside the complex was found in 24.5% of cases. The complex of *P. gingivalis* and other parodontopathogenic microorganisms was found in 62.7% of cases. Complexes, which did not include *P. gingivalis*, were found in 7.3% of people. Parodontopathogenic microorganisms were not found in 5.5% of people.

Sequences of DEFB4A gene sites were determined in 28 patients. As a result of the analysis of the obtained data, we detected 27 point nucleotide substitutions. Within the 5'-UTR, were detected two SNPs, often found in people suffering from periodontal inflammatory diseases. The first mutation is found in 30.4%, the second - in 60% of cases.

In the course of the study, within the 5'-UTR were detected two SNPs, the most common in representatives with moderate to severe forms of the disease. The data obtained suggest that SNP data can act as markers of predisposition to periodontal inflammatory diseases.

Образец для цитирования:

Верховский Р. А., Глинская Е. В. Изучение полиморфизма гена DEFB4A у лиц, страдающих воспалительными заболеваниями пародонта // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 410–412. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-410-412.

Cite this article as:

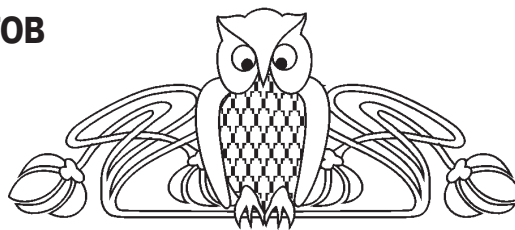
Verkhovsky R. A., Glinskaya E. V. Study of the Polymorphism DEFB4A Gene in Individuals Suffering from Periodontal Inflammatory Diseases. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 410–412 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-410-412.



УДК 581.144

ВЛИЯНИЕ ПОЛИЗАМЕЩЕННЫХ ПЕРХЛОРАТОВ ХАЛЬКОГЕН(ТИО)ПИРИЛИЯ НА МОРФОГЕНЕЗ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

В. В. Коробко, Н. В. Пчелинцева, Е. А. Самсонова,
Аль Саммарраи Анес Исмаил Салех



Коробко Валерия Валерьевна, доцент кафедры микробиологии и физиологии растений, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат биологических наук. E-mail: v.v.korobko@mail.ru

Пчелинцева Нина Васильевна, профессор кафедры органической и биоорганической химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, доктор химических наук. E-mail: pchelincevanv555@mail.ru

Самсонова Елена Александровна, студент биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: elena.smsnv@mail.ru

Аль Саммарраи Анес Исмаил Салех, магистрант Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: anasdaf@yahoo.com

Проведено биологическое тестирование синтетических гетероциклических соединений – перхлоратов (тио)пирилия, отличающихся природой гетероатома (O,S) и характером заместителей (CH_3 , Cl, OCH_3 , C_6H_5) в катионе халькогенопирилия. Объектом исследования служили проростки яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Саратовская 36. Для оценки физиологической активности испытуемых соединений использовали анализ морфометрических показателей проростка и количественного содержания фотосинтетических пигментов в пластинке первого листа. Все гетероциклические соединения оказали стимулирующее действие на рост влагалища первого листа. Положительное воздействие испытуемых соединений на рост листовой пластинки в длину менее выражено. Несмотря на различное влияние гетероциклических соединений на рост влагалища и пластинки, существенных различий по длине первого листа опытных и контрольных растений не наблюдается. Анализ кривых скорости роста показал, что присутствие в соединениях атома кислорода в качестве гетероатома приводит к сокращению периода роста листа в длину. Установлено влияние испытуемых веществ на количественный состав фотосинтезирующих пигментов в пластинке первого листа. Действие испытуемых растворов (за некоторым исключением) приводит к повышению соотношения хлорофиллов *a/b*. Определение количественного содержания хлорофилла *a* и *b* в листовых пластинках позволяет предположить, что ингибирующее действие соединений на хлорофилл *b* и стимулирующее на хлорофилл *a* в большей степени связано с наличием атома кислорода в качестве гетероатома и атома хлора в качестве заместителя в катионе халькогенопирилия. Испытуемые соединения положительно воздействуют на показатель корнеобеспеченности и длину корневой системы проростков. Наибольший стимулирующий эффект на длину корневой системы оказали соединения в

концентрации 10^{-12} М, имеющие S в качестве гетероатома. Растворы некоторых концентраций гетероциклических соединений с одинаковыми заместителями в катионе оказали ингибирующее действие на рост главного корня проростка, при этом общая длина корневой системы несущественно отличалась от контрольных значений. Анализ полученных данных позволяет сделать вывод, что испытуемые синтетические гетероциклические соединения – перхлораты (тио)пирилия – обладают росторегулирующей активностью. Проведенное лабораторное исследование может служить основой для дальнейших исследований росторегуляторных свойств этих соединений.

Ключевые слова: гетероциклические соединения, регуляторы роста, биотестирование, рост и развитие растений.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-413-419

По разнообразию гетероциклические соединения занимают одно из первых мест среди органических соединений и благодаря широкому спектру биологических свойств интерес к синтезу и изучению активности препаратов очень высок [1,2]. Использование анализа морфометрических показателей роста и развития побега, а также корневых тестов позволяет в кратчайшие сроки объективно оценить физиологическую активность испытуемых соединений, что является преимуществом по сравнению с применением более углубленных приемов, основанных на различных цитологических методах [3].

Целью данного исследования является изучение влияния на растительный тест-объект гетероциклических соединений ряда солей халькогенопирилия, отличающихся природой гетероатома (O,S) и характером заместителей (CH_3 , Cl, OCH_3 , C_6H_5) в катионе халькогенопирилия.

Материалы и методика

Исследования проводились в 2016 г. на кафедре микробиологии и физиологии растений Саратовского национального исследовательского государственного университета. Биотестированию подвергнуты гетероциклические соединения ряда солей халькогенопирилия – перхлораты 3,5-диметил-4-(4-метоксифенил)-2,6-дифенилтиопирилия (МФТП), 3,5-диметил-4-(4-метоксифенил)-2,6-дифенилпирилия (МФП) и 2,4,6-трифенил-3-хлортиопирилия



(ХТП), отличающиеся природой гетероатома (O,S) и характером заместителей (CH_3 , Cl, OCH_3 , C_6H_5) в катионе халькогенопирилия. Из исследуемых перхлоратов халькогенопирилия МФП известен, МФТП впервые получен при окислении тиопирана [4], ХТП в результате

гетероциклизации 1,3,5-трифенил-2,4-дихлор-2-пентен-1,5-диона в присутствии сероводорода [5] на кафедре органической и биоорганической химии Института химии Саратовского национального исследовательского государственного университета (рис. 1).

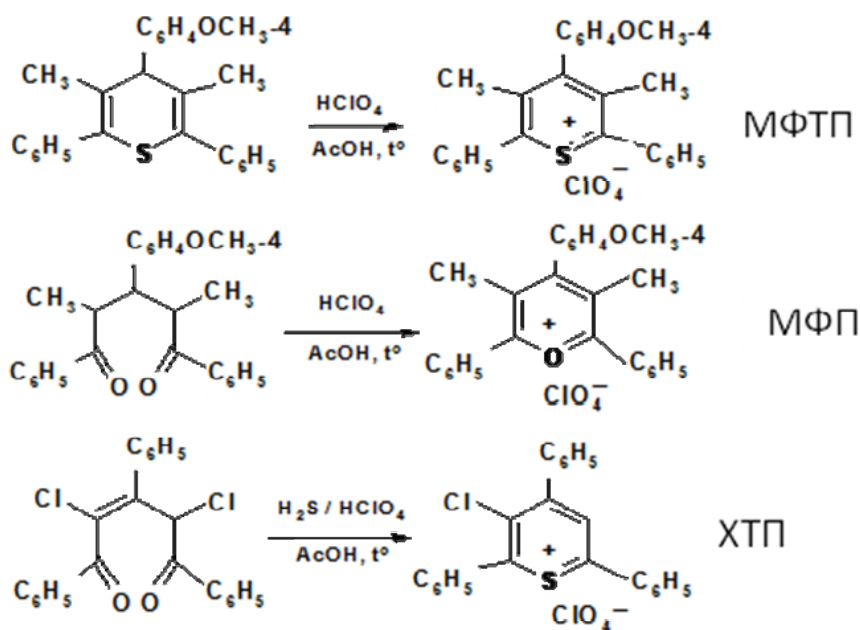


Рис. 1. Получение полизамещенных перхлоратов (тио)пирилия: МФТП – перхлорат 3,5-диметил-4-(4-метоксифенил)-2,6-дифенилтиопирилия; МФП – перхлорат 3,5-диметил-4-(4-метоксифенил)-2,6-дифенилпирилия; ХТП – перхлорат 2,4,6-трифенил-3-хлортиопирилия

Синтезированные перхлораты (тио)пирилия представляют собой окрашенные в желтый цвет кристаллические вещества с высокими температурами плавления, хорошо растворимые в этаноле, диметилформамиде (ДМФА), хлороформе, плохо растворимые в воде.

Концентрацию веществ устанавливали по молекулярному весу в трех характерных для физиологически активных веществ действующих дозах: 10^{-6} М, 10^{-9} М, 10^{-12} М [6].

В качестве тест-объектов использовали проростки яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Саратовская 36. Для изучения влияния веществ на рост растений зерновки замачивали в воде в течение двух суток, затем культивировали на водных растворах испытуемых веществ. В течение эксперимента объем растворов поддерживали до исходного уровня растворителем. Контролем служили растения, выращенные на дистиллированной воде. Эксперимент проводили в климатостате при температуре $+18^\circ\text{C}$.

На семидневных проростках измеряли длину главного корня, суммарную длину корневой системы, определяли количество корней,

абсолютно сухую массу надземной и подземной части ($n = 20$). Количественное содержание пигментов в пластинке первого листа проводили на двухнедельных проростках [7]. По окончании роста первого листа измеряли длину листовой пластинки и влажалища ($n = 20$).

Обработку данных проводили по Доспехову [8].

Результаты и их обсуждение

Для оценки влияния на растительный организм веществ, обладающих физиологически активными свойствами, целесообразно использовать комплекс морфометрических показателей, сопоставление которых позволит выявить особенности роста и развития проростка в целом.

Для изучения физиологической активности испытуемых соединений использовали следующие параметры корневой системы проростка: длину главного корня, суммарную длину корневой системы, количество корней. Результаты проведенного исследования показали, что испытуемые растворы оказывают различное влияние на рост корневой системы (рис. 2).

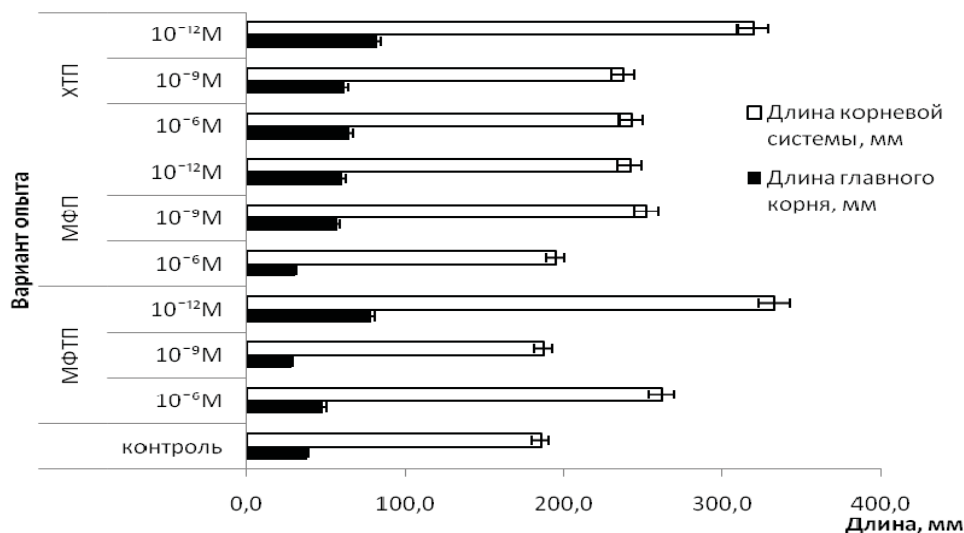


Рис. 2. Влияние гетероциклических соединений на корневую систему *Triticum aestivum* L.: МФТП – перхлорат 3,5-диметил-4-(4-метоксифенил)-2,6-дифенилтиопирилия; МФП – перхлорат 3,5-диметил-4-(4-метоксифенил)-2,6-дифенилпирилия; ХТП – перхлорат 2,4,6-трифенил-3-хлортиопирилия

Установлено, что все испытуемые растворы наибольший стимулирующий эффект на длину главного корня оказали в самой низкой из исследованных концентраций. Максимальной длиной характеризуется главный корень проростков, культивированных на растворах МФТП и ХТП в концентрации 10^{-12} М; его длина превысила контрольные значения в 2,1–2,2 раза. Положительное воздействие на рост главного корня оказали и растворы ХТП двух других концентраций, тогда как при действии МФТП в концентрации 10^{-6} М значение данного показателя роста и развития проростка превышает контрольное на 30%, а в концентрации 10^{-9} М составляет 74% от контроля. Ингибирующее действие на рост главного корня оказали МФТП в концентрации 10^{-9} М и МФП в концентрации 10^{-6} М.

Суммарная длина корней проростков, культивированных на растворах МФТП, в концентрации 10^{-9} М и МФП в концентрации 10^{-6} М несущественно отличалась от контрольных значений. В других вариантах опыта испытуемые соединения оказали стимулирующее действие на данный показатель.

Наряду с изучением влияния растворов на рост корневой системы в длину, проводился количественный учет корней. Среди испытуемых соединений МФП в меньшей степени повлиял на данный показатель развития проростка, а ХТП и МФТП в концентрациях 10^{-6} М и 10^{-12} М оказали негативное воздействие.

Влияние гетероциклических соединений на рост и развитие надземной части проростка

оценивали по длине первого листа, выраженности его частей. Рост первого листа в ширину завершается при формировании зародыша, поэтому ширина листа не может служить надежным параметром при изучении действия гетероциклических соединений.

Установлено, что существенных различий по длине первого листа опытных и контрольных растений не наблюдается. Исключение составили проростки, культивированные на растворах МФП в концентрациях 10^{-6} М, 10^{-9} М и ХТП в концентрации 10^{-12} М, длина первого листа которых составила 90–93 % от контроля. Следует отметить, что при этом влияние испытуемых веществ на рост влагалища и пластинки первого листа было различным.

На рост влагалища листа все испытуемые растворы оказали стимулирующее действие. В большей степени этот эффект проявился при концентрации 10^{-9} М ХТП и МФТП и при концентрации 10^{-6} М МФП (рис. 3). В некоторых вариантах опыта наблюдалось негативное влияние испытуемых веществ на рост листовой пластинки; наибольший подавляющий эффект (81% от контроля) отмечен при действии МФП в концентрации 10^{-6} М.

Установлено, что действие некоторых концентраций МФТП и ХТП проявляется в сокращении периода роста первого листа проростков. В наибольшей степени это отразилось на листовых пластинках: уже на 10-й день эксперимента рост листовых пластинок закончился у проростков, культивированных на растворах МФТП и ХТП

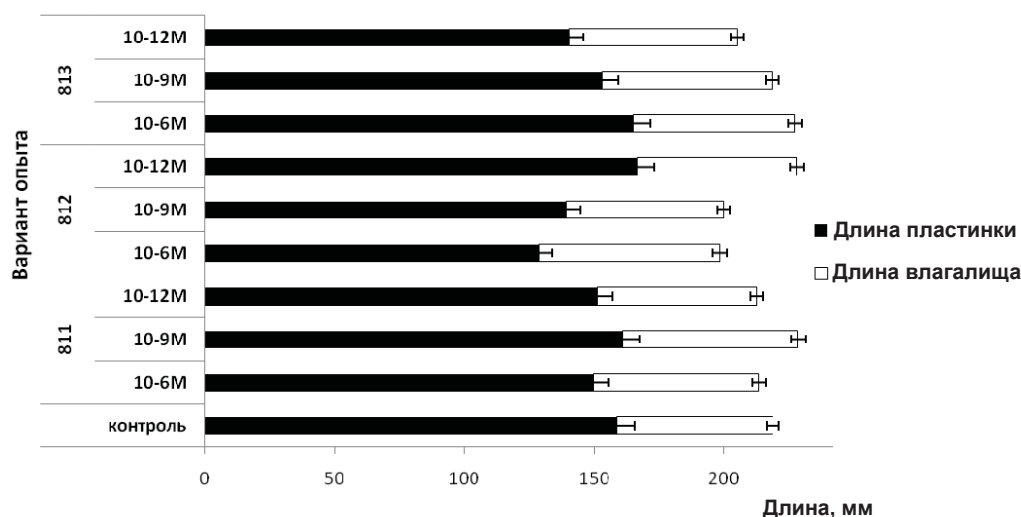


Рис. 3. Влияние гетероциклических соединений на рост первого листа проростка *Triticum aestivum* L.: МФТП – перхлорат 3,5-диметил-4-(4-метоксифенил)-2,6-дифенилтиопирилия; МФП – перхлорат 3,5-диметил-4-(4-метоксифенил)-2,6-дифенилпирилия; ХТП – перхлорат 2,4,6-трифенил-3-хлортиопирилия

в концентрации 10^{-12} М, МФП в концентрации 10^{-6} М. Окончание роста первого листа на 13-й день эксперимента обнаружено при действии МФТП в концентрациях 10^{-9} М и 10^{-12} М и МФП при концентрации 10^{-9} М. Сокращение периода роста первого листа в длину сопровождается значительным повышением абсолютной скорости роста относительно контроля.

Количественное содержание пигментов служит показателем, характеризующим активность фотосинтетического аппарата [9]. При изучении пигментного состава листа необходимо учитывать не только количественное содержание различных пигментов, но и соотношения различных форм хлорофилла и каротиноидов в пигментном

комплексе [10]. Различные соотношения фотосинтетических пигментов приводят к изменению активности фотосинтетического аппарата, скорости накопления ассимилятов, что в конечном итоге отражается на росте и продуктивности растений [11].

Количественное содержание пигментов в пластинке первого листа проростка представлено в таблице. При культивировании проростков на испытуемых растворах наблюдается повышение соотношения количества хлорофилла *a* к хлорофиллу *b* относительно контрольных значений. Исключение составил вариант с использованием МФТП в концентрации 10^{-6} М: соотношение зеленых пигментов пластинки первого листа

Количественное содержание пигментов в пластинке первого листа проростка, % от контрольных значений

Испытуемое соединение		Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Каротиноиды	Суммарное содержание зеленых пигментов	<i>a/b</i>
МФТП	10^{-6} М	101,0	142,6	99,2	109,7	70,8
	10^{-9} М	99,9	94,4	93,3	98,7	105,9
	10^{-12} М	114,0	93,0	108,1	109,6	122,6
МФП	10^{-6} М	111,8	91,0	111,0	107,5	122,9
	10^{-9} М	111,4	86,0	106,4	106,1	129,5
	10^{-12} М	90,1	75,3	92,3	87,0	119,6
ХТП	10^{-6} М	112,5	98,3	116,2	109,5	114,4
	10^{-9} М	111,0	94,9	115,3	107,6	116,9
	10^{-12} М	71,6	49,6	76,8	66,9	144,3

Примечание. МФТП – перхлорат 3,5-диметил-4-(4-метоксифенил)-2,6-дифенилтиопирилия; МФП - перхлорат 3,5-диметил-4-(4-метоксифенил)-2,6-дифенилпирилия; ХТП – перхлорат 2,4,6-трифенил-3-хлортиопирилия.



опытных растений было ниже контрольных значений на 29%. Сравнение влияния МФП и ХТП на соотношение зеленых пигментов показало, что в ряду концентраций 10^{-6} М и 10^{-9} М наблюдается повышение значения a/b , причем в большей степени это проявляется для МФП: при концентрации 10^{-9} М соотношение хлорофилла a к хлорофиллу b составило 4,9, что на 30% выше контрольных значений. Дальнейшее снижение концентрации ХТП приводит к повышению величины соотношения хлорофиллов a/b (5,4, что в 1,4 раза превышает контроль); тогда как при действии МФП данный показатель снижается.

Количество каротиноидов в пластинке первого листа контрольных растений составило 1,8 мг/г. При культивировании проростков на растворах МФП и ХТП в концентрациях 10^{-6} М и 10^{-9} М, а также МФТП в концентрации 10^{-12} М отмечено повышение содержания каротиноидов

относительно контрольных значений. Значительное ингибирующее действие оказал раствор ХТП в концентрации 10^{-12} М (содержание каротиноидов составило 77% от контроля), менее выраженное – МФП в концентрации 10^{-12} М и МФТП в концентрации 10^{-9} М.

Установлено влияние гетероциклических соединений на массу корневой системы и побега проростка. На накопление сухой массы подземной части проростка все испытываемые соединения, кроме МФП в концентрации 10^{-12} М, оказывают подавляющее действие (рис. 4). При этом масса корневой системы проростков увеличивается по мере уменьшения концентрации испытываемых соединений. Исключение составили проростки, культивированные на растворах МФТП: наименьшая масса корневой системы (60 % от контроля) отмечена при концентрации 10^{-9} М.

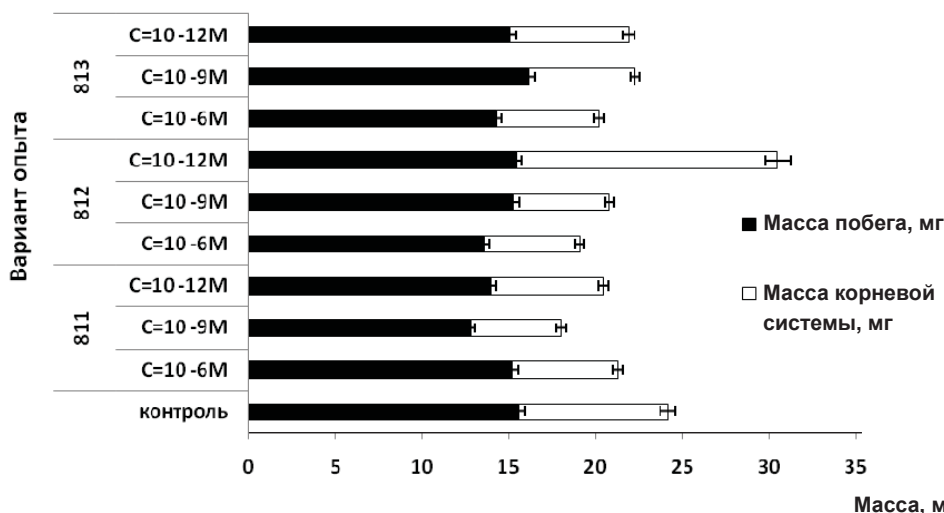


Рис. 4. Влияние гетероциклических соединений на массу проростка *Triticum aestivum* L.: МФТП – перхлорат 3,5-диметил-4-(4-метоксифенил)-2,6-дифенилтиопирилия; МФП – перхлорат 3,5-диметил-4-(4-метоксифенил)-2,6-дифенилпирилия; ХТП – перхлорат 2,4,6-трифенил-3-хлортиопирилий

На накопление сухой массы надземной части проростка незначительное стимулирующее действие проявилось в одном варианте опыта – при действии ХТП в концентрации 10^{-9} М. Ингибирующее действие оказали растворы ХТП и МФП в концентрации 10^{-6} М. При действии ХТП и МФП других концентраций значения массы побега проростка соответствовали контрольным или несущественно отличались от них. При культивировании проростков на растворе МФТП в концентрации 10^{-6} М масса побега опытных растений существенно не отличалась от контроля, растворы менее концентрированные оказали подавляющее действие на

исследуемый показатель: значение сухой массы побега составило 82–90% от контроля.

Одним из показателей развития проростка является корнеобеспеченность как отношение абсолютно сухой массы корневой системы к абсолютно сухой массе побега [12]. Установлена связь между данным показателем и устойчивостью растений к неблагоприятным условиям окружающей среды [13,14,15]. Растворы всех испытываемых соединений оказали положительный эффект на корнеобеспеченность проростков при концентрации 10^{-12} М. При этом максимальный показатель корнеобеспеченности характерен проросткам при действии МФП:



его значение превышает контроль более чем в 2,5 раза. МХТП в концентрации 10^{-9} М не оказал влияния на корнеобеспеченность проростка, тогда как данный показатель развития растений, культивируемых на растворах МФП и ХТП той же концентрации, составил 90% от контрольного значения. Все испытуемые растворы в концентрации 10^{-6} М оказали негативное воздействие на данный показатель развития проростка. В большей степени этот эффект проявился при действии ХТП (корнеобеспеченность составила 42% от контрольного значения).

Заключение

Проведенное исследование позволяет оценить физиологическую активность гетероциклических соединения ряда солей халькогенопирилия, отличающихся природой гетероатома (O,S) и характером заместителей (CH_3 , Cl, OCH_3 , C_6H_5) в катионе халькогенопирилия.

Все соединения оказывают стимулирующее действие на рост влагалища и в той или иной концентрации подавляют рост листовой пластинки. Соединения с одинаковыми заместителями в катионе – МФП и МФТП – ингибирующее действие на рост листовой пластинки проявляют при концентрации 10^{-6} М, причем МФП в большей степени, что, возможно, связано с наличием кислорода в качестве гетероатома. ХТП, характеризующийся одинаковым с МФТП гетероатомом, но в качестве заместителей имеющий атом хлора в гетероцикле, этот эффект демонстрирует при более слабых концентрациях. МФП, имеющий в качестве гетероатома O, оказал максимальный стимулирующий эффект на рост влагалища и максимальный подавляющий эффект на рост пластинки.

Все испытуемые растворы в концентрации 10^{-12} М оказали положительный эффект на корнеобеспеченность проростков.

Соединения с одинаковыми заместителями в катионе халькогенопирилия при концентрациях 10^{-9} М (МФТП) и 10^{-6} М (МФП) оказали ингибирующее действие на рост главного корня проростков, тогда как общая длина корневой системы несущественно отличалась от контрольных значений. Испытуемые соединения в других концентрациях стимулировали рост в длину как главного корня, так и всей корневой системы проростков; при этом максимальными значениями данных показателей характеризуются проростки, культивируемые на растворах соединений, имеющих S в качестве гетероатома (МФТП и ХТП) в концентрации 10^{-12} М.

Определение количественного содержания хлорофилла *a* и *b* в листовых пластинках позво-

ляет предположить, что ингибирующее действие соединений на хлорофилл *b* и стимулирующее на хлорофилл *a* в большей степени связано с наличием O в качестве гетероатома и Cl, в качестве заместителя в катионе халькогенопирилия. В целом действие испытуемых растворов приводит к повышению соотношения хлорофиллов *a/b*, за исключением концентрированного раствора МФТП. На содержание каротиноидов в пластинке первого листа проростка концентрированные растворы МФП и ХТП влияют положительно, а МФТП – отрицательно.

Таким образом, результаты проведенного биотестирования гетероциклических соединений позволяют сделать вывод о возможности использования этих соединений в качестве регуляторов роста растений. Проведенное лабораторное исследование является важным этапом в изучении биологической активности гетероциклических соединений ряда солей халькогенопирилия, может служить основой для дальнейших исследований их росторегуляторных свойств.

Список литературы

1. Мельников Н. Н., Новожилов К. В., Белан С. Р. Пестициды и регуляторы роста растений : справочник. М., 1995. 576 с.
2. Кирлан С. А., Кантор Е. А., Димогло А. С., Вовденко М. К. Закономерности связи «структура – активность – токсичность» регуляторов роста и развития растений // Башкир. хим. журн. 2011. Т. 18, № 2. С. 30–34.
3. Иванов В. Б., Быстрова Е. И. Влияние различных химических соединений на продолжительность формирования бокового корня в главном корне проростка кукурузы // Докл. РАН. 1998. Т. 363. С. 141–144.
4. Пчелинцева Н. В., Харченко В. Г., Кожевникова Н. И., Куликова Л. К. Синтез, противораковая и антифаговая активность полизамещенных перхлоратов тиопирилия // Хим.-фарм. журн. 1981. № 4. С. 40–45.
5. Пчелинцева Н. В., Харченко В. Г. Непредельные 1,5-дикетоны, их галогензамещенные – получение и использование в синтезе гетероциклов // Химия гетероциклических соединений. 1996. № 10. С. 1299–1319.
6. Жигачева В. И., Спивак В. А. Биотестирование гетероциклических синтетических соединений некоторыми растительными объектами // Бюл. Бот. сада Саратов. гос. ун-та. Саратов, 2010. Вып. 9. С. 179–185.
7. Гавриленко В. Ф., Жигалова Т. В. Большой практикум по фотосинтезу. М., 2003. 256 с.
8. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М., 1986. 336 с.
9. Алиев Д. А., Азизов И. В., Казибекова Э. Г. Фотосинтетическая способность и развитие хлоропластов в онтогенезе пшеницы. Баку, 1988. 116 с.



10. Даштоян Ю. В., Хакалова Д. А., Иванова М. В., Степанов С. А. Содержание пигментов фотосинтеза первого листа некоторых видов и сортов пшеницы // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения : сб. науч. ст. Саратов, 2004. Вып. 7. С. 93–96.
11. Тарчевский И. А., Андрианова Ю. Е. Содержание пигментов как показатель мощности развития фотосинтетического аппарата у пшеницы // Физиология растений. 1980. Т. 27, вып. 2. С. 341–348.
12. Шарипова Г. В., Веселов Д. С., Чернов В. Е., Пендинен Г. И., Кудоярова Г. Р. Ростовая реакция на засоление у растений разных сортов ячменя и ее связь с соотношением массы побег/корень и характером изменения транспирации // Современная физиология растений : от молекул до экосистем : тез. докл. междунар. конф. Сыктывкар, 2007. С. 427–429.
13. Голуб Н. А. Параметры первичной корневой системы озимой пшеницы и возможности их использования в оценке сортов // Физиология продуктивности и устойчивости зерновых культур : сб. науч. тр. Краснодар, 1988. С. 42–47.
14. Коробко В. В., Жухарева О. П. Сравнительная характеристика роста и развития проростков некоторых сортов яровой пшеницы // Бюл. Бот. сада Саратов. гос. ун-та. Саратов, 2015. Вып. 13. С. 187–192.
15. Кумаков В. А., Евдокимова О. А., Буянова М. А. Способы ранжирования генотипов яровой пшеницы по их потенциальной продуктивности и устойчивости к неблагоприятным факторам среды по накоплению и распределению сухой массы растений в период вегетации // Сельскохозяйств. биология. 2000. № 1. С. 108–112.

Effect of Polysubstituted Perchlorates Halkogen(Thio)Pyrilium on Morphogenesis of Wheat Seedlings

V. V. Korobko, N. V. Pchelintseva, E. A. Samsonova, Al Sammarrai Anes Ismail Saleh

Valeria V. Korobko, ORCID 0000-0002-0444-8238, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, v.v.korobko@mail.ru

Nina V. Pchelintseva, ORCID 0000-0002-5830-9807, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, pchelintzevanv555@mail.ru

Elena A. Samsonova, ORCID 0000-0002-2621-0992, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, elena.smsnv@mail.ru

Al Sammarrai Anes Ismail Saleh, ORCID 0000-0001-6698-6288, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, anasdaf@yahoo.com

A biological testing synthetic heterocyclic compounds – perchlorates (thio)pyrylium differing nature of the heteroatom (O,S) and alternate character (CH₃, Cl, OCH₃, C₆H₅) in the cation halkogenopyrylium. The objects of the study were the seedlings of spring wheat *Triticum aestivum* L. To assess the physiological activity of the test compounds used analysis of morphometric parameters and quantitative content of seedling photosynthetic pigments in the leaf lamina. All of heterocyclic compounds have a stimulating effect on the growth of the first leaf sheath. Positive effects of test compounds on the growth of the leaf lamina is less pronounced. In a number of cases was observed inhibition of growth of the leaf lamina. Despite the different effects of heterocyclic compounds on growth of parts of the first leaf, significant differences in the length of the first sheet of the experimental and control plants was observed. Analysis of growth rate showed that the presence of compounds of the oxygen atom as the heteroatom, resulting reduction of the growth period of leaf lamina. The effect of the test substances on the quantitative composition of photosynthetic pigments in the lamina of the first leaf. The action of the test solutions (with some exceptions) increases the ratio of chlorophyll a/b. Determination of quantitative content of chlorophyll a and b in the lamina suggests that the inhibitory effect of the compounds on the and chlorophyll b and the stimulatory effect on chlorophyll a is associated with the presence of O as a hetero atom and Cl as a substituent. The test compounds have positive effects on the root-maintenance and the length of the root system of seedlings. The greatest stimulatory effect on the length of the root system of the seedling have a concentration 10⁻¹²M compound having S as heteroatom. Solutions of certain concentrations of heterocyclic compounds with similar substituents in the cation, have an inhibitory effect on the growth of the main root seedling, however, the total length of the root system does not differ from the control values. Analysis of the results leads to the conclusion that the tested synthetic heterocyclic compounds – perchlorates (thio)pyrylium have regulatory activity. Laboratory research can serve as a basis for further studies the physiological properties of these compounds.

Key words: heterocyclic compounds, growth regulators, biological testing, plant growth and development.

Образец для цитирования:

Коробко В. В., Пчелинцева Н. В., Самсонова Е. А., Аль Саммаррай Анес Исмаил Салех. Влияние полизамещенных перхлоратов халькоген(тио)пирилия на морфогенез проростков пшеницы // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 413–419. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-413-419.

Cite this article as:

Korobko V. V., Pchelintseva N. V., Samsonova E. A., Al Sammarrai Anes Ismail Saleh. Effect of Polysubstituted Perchlorates Halkogen(Thio)Pyrilium on Morphogenesis of Wheat Seedlings. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 413–419 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-413-419.



УДК 581.331: 58.036

ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ГАМЕТОФИТНЫХ МУТАЦИЙ ТАБАКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ

Л. П. Лобанова, А. Ю. Колесова,
Т. А. Алаторцева, И. А. Нурушева



Лобанова Людмила Петровна, доцент кафедры генетики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат биологических наук. E-mail: lobanova-lp@yandex.ru

Колесова Алла Юрьевна, заведующий отделом генетики и репродуктивной биологии УНЦ «Ботанический сад», Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат биологических наук. E-mail: kolesovaau@yandex.ru

Алаторцева Татьяна Алексеевна, доцент кафедры генетики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат биологических наук. E-mail: alatorsevatat@mail.ru

Нурушева Ирина Асэльбековна, бакалавр кафедры генетики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: ira.nurusheva76@gmail.com

Проведено исследование влияния экстремальных пониженной (10°C) и повышенной (37°C) температур в условиях *in vitro* на фенотипическое проявление трех мутаций *Nicotiana tabacum* L. с доминированием зародышевых мешков конкретного морфологического типа. Линия БГ-141.4 характеризуется образованием малоклеточных зародышевых мешков, у линии СГ-27/4 проявляется признак увеличенного числа ядер и клеток в зародышевых мешках, линия М-3 отличается высокой частотой ценоцитных малоядерных зародышевых мешков. У мутантов при культивировании завязей в нормальном температурном режиме (25°C) процесс формирования зародышевых мешков осуществлялся типичным для них образом и повторял фенотип, описанный для растений мутантных линий, произраставших на экспериментальном участке в условиях *in vivo*. Температурные условия в значительной степени модифицировали проявление гаметофитных мутаций, при этом действие экстремально низкой или экстремально высокой температур на развитие зародышевых мешков имело отчетливо выраженную специфику. У трех мутантных линий и у контрольной немутантной линии БГ-6 низкая температура в гаметогенезе угнетала митотические деления и цитокинез. В результате у всех линий при этом температурном режиме доминировали малоядерные ценоцитные зародышевые мешки. Действие высокой температуры в гаметогенезе преимущественно индуцировало дополнительные митозы. Такой эффект наиболее отчетливо наблюдается в контроле и у мутанта с увеличенным числом клеток в зародышевых мешках, однако у обоих малоядерных мутантов при 37°C также прослеживается тенденция к образованию многоядерных зародышевых мешков. Полученные данные показывают, что количественная выраженность модификаций зародышевых

мешков температурными условиями в значительной степени зависит от генотипа.

Ключевые слова: *Nicotiana tabacum* L., гаметофитные мутации, температура, зародышевый мешок, *in vitro*.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-420-427

Введение

Задача экспериментальной эмбриологии заключается в поиске закономерностей, лежащих в основе развития систем размножения, и выявлении фенотипической изменчивости генеративных структур. Анализ потенциальной изменчивости зародышевых мешков (ЗМ) открывает перспективы для понимания проблем морфогенеза, исторического развития, дискретности признаков, а также фактов, представляющих практический интерес. Прикладной аспект проблемы изменчивости ЗМ связан с поиском путей направленного изменения его структурно-функциональной организации с целью индукции некоторых генетических явлений, имеющих селекционное применение (гаплоидии, диплоидного апомиксиса, полиплоидии). Исследования ЗМ, связанные с масштабным скринингом изменчивости, весьма перспективны и способствуют получению принципиально новой информации.

При изучении изменчивости ЗМ важным направлением является получение и последующий анализ гаметофитных мутаций, позволяющий выделить ключевые цитологические события в развитии ЗМ.

В Саратовском университете Н. Х. Еналеевой экспериментально (на основе радиации, андроклинии и отбора) были получены гаметофитные мутанты табака [1]. У каждой мутантной линии преобладали ЗМ конкретного морфологического типа. Структурно-функциональные изменения женского гаметофита в этом случае определялись различными нарушениями в ходе его развития: увеличением или уменьшением числа делений, отсутствием клеткообразования, нарушением полляризации и дифференциации клеток [2, 3].

Как следует из литературных данных и собственных наблюдений, структурная организация зародышевых мешков может быть изменена не только генетическими, но и внешними факторами, в частности, экстремальными температурами,



во время их формирования [4, 5]. Исследования взаимодействия генетических и паратипических факторов позволят конкретизировать такие понятия, как «генотип-средовое взаимодействие», «норма реакции генотипа», «модификационная изменчивость» применительно к эмбриологическим признакам, и тем самым способствовать развитию генетического направления в эмбриологии растений.

В настоящей работе представлены результаты изучения влияния экстремальных пониженной (10°C) и повышенной (37°C) температур на фенотипическое проявление мутаций, изменяющих структуру ЗМ табака.

Материалы и методы

Объектами исследования служили 3 мутантные линии *Nicotiana tabacum* L. с измененным числом элементов в ЗМ. Одна из них (линия БГ-141.4) характеризовалась образованием моно- или биполярных ЗМ с уменьшенным числом клеток и ядер. Частота появления таких ЗМ у разных растений линии варьирует от 0 до 72% [6, 7]. У линии СГ-27/4 проявляется признак увеличенного числа ядер и клеток в ЗМ за счет дополнительных митозов. Частота многоядерных ЗМ у разных растений также варьирует в широких пределах и может составлять более 70%. Третья линия М-3 отличается высокой частотой (до 90%) ценоцитных малоядерных ЗМ [2, 8]. Контролем служила гомозиготная линия БГ-6, характеризующаяся стабильным проявлением эмбриологических признаков.

В эксперименте исследовались особенности развития ЗМ мутантных линий при оптимальной (25°C) и экстремальных (10 и 37°C) температурах.

Сложность исследования влияния температуры на женский гаметофит растений связана с тем, что макрогаметофитогенез является цепью последовательных взаимосвязанных событий, включающих стадии материнской клетки макроспор, спорогенеза, гаметогенеза, зрелого ЗМ, каждая из которых обладает разной чувствительностью. Воздействие температурой на растение в период цветения и регистрация конечных результатов не позволяют вскрыть конкретные причины из-

менений и определить роль каждого из этапов развития.

Нами (на кафедре генетики Саратовского государственного университета) был предложен экспериментальный подход, открывающий возможность дискретного исследования реакции каждой стадии макрогаметофитогенеза на экспериментальные воздействия. Он состоит в изоляции завязей на любой стадии развития и культивировании их в условиях *in vitro* [9]. Это позволило создать строго контролируемые условия, в том числе температурные, и подвергать одновременно воздействию большое количество завязей на одинаковой стадии развития.

В данном исследовании изучалось влияние температурных условий на стадию гаметогенеза, которая включает 3 митотических деления, поляризацию, цитокинез и специализацию клеток ЗМ. Для этого завязи, содержащие ЗМ на 1-ядерной стадии развития, изолировали из бутонов и помещали в пробирки с твердой питательной средой. В качестве основной питательной среды использовали безгормональную среду Мурасиге и Скуга. Фиксация завязей проводилась через 3–5 суток культивирования ацетоалкоголем (1:3). Для приготовления препаратов зрелых ЗМ использовалась методика ферментативной мацерации семязачатков до клеточной суспензии с последующей окраской ацетокармином [10]. В каждом варианте исследовалась выборка из 100 ЗМ из 5–7 завязей.

Результаты и их обсуждение

Исследованию, определяющему влияние экстремальных температур на развитие зародышевых мешков у мутантных линий, предшествовала работа по изучению их развития в условиях *in vitro* при оптимальной температуре (таблица). У контрольной линии БГ-6 в основной части семязачатков осуществлялся нормальный гаметофитогенез, что приводило к образованию 96% биполярных 8-ядерных 7-клеточных ЗМ типичного строения (рис. 1, а). Единичные аномальные ЗМ имели разное строение, обусловленное, вероятно, случайными нарушениями развития. Эти данные полностью согласуются с полученными ранее [11, 12].

Частота зародышевых мешков аномального строения, гаметогенез которых проходил в условиях *in vitro* при температуре 25°C

Вариант	Всего аномальных ЗМ, %	Аномальные ЗМ с числом ядер, %					
		менее 7		7–8		более 8	
		клеточные	ценоцитные	клеточные	ценоцитные	клеточные	ценоцитные
БГ-6	4	1	1	1	0	1	0
БГ141-4	81	69	6	6	0	0	0
М-3	77	13	59	5	0	0	0
СГ-27/4	44	7	1	11	0	25	0

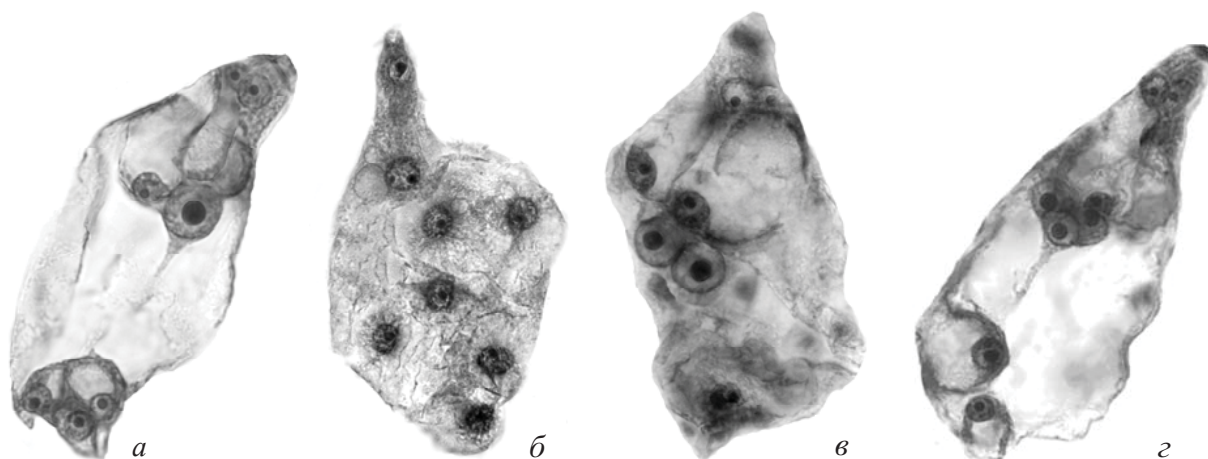


Рис. 1. Зародышевые мешки нормального и аномального строения с 7–8 ядрами: а – типичного строения; б – 8-ядерный ценоцитный; в – с дополнительной яйцеклеткой; з – с 3 полярными ядрами. Увеличение $\times 400$

У мутантов при культивировании завязей в нормальном температурном режиме (25°C) процесс формирования зародышевых мешков также осуществлялся типичным для них образом и повторял фенотип, описанный для растений мутантных линий, произраставших на экспериментальном участке в условиях *in vivo* [1, 2]. У линии БГ-141.4 образовывались в основном мало-ядерные клеточные ЗМ (69%), у линии СГ-27/4 – многоядерные клеточные ЗМ (25%), а у линии М-3 – 1-4-ядерные ценоцитные ЗМ (59%). Таким образом, условия *in vitro* не оказывали существенного влияния на ход гаметофитогенеза мутантов.

В процессе массового анализа для удобства регистрации структурных изменений зародышевых мешков была использована классификация, в основу которой положены число ядер и наличие или отсутствие клеткообразования. У изученных линий встречались следующие группы аномальных ЗМ.

1. Зародышевые мешки с 7–8 ядрами ценоцитные или с аномальной клеточной дифференцировкой (см. рис. 1). В эту группу были отнесены зародышевые мешки, гаметогенез которых, как в норме, включал три митотических деления. Однако у образовавшихся в результате 8-ядерных ЗМ частично или полностью были нарушены процессы цитокинеза и/или дифференцировки клеток. Формировались 8-ядерные ценоцитные (см. рис. 1, б) или 8-ядерные (в случае слияния полярных ядер 7-ядерные) клеточные, но с измененной структурой ЗМ (см. рис. 1, в, з).

2. Зародышевые мешки с числом ядер меньше восьми ценоцитные или клеточные (рис. 2). В эту группу отнесены ЗМ, образование которых вызвано выпадением 1-2 митотических делений в гаметогенезе и, нередко, отсутствием цитокинеза и нарушением полярности. Аномальные ЗМ имели от 2 до 6 ядер, были ценоцитными (см. рис. 2, а, б) или содержали клетки (см. рис. 2, в, з).

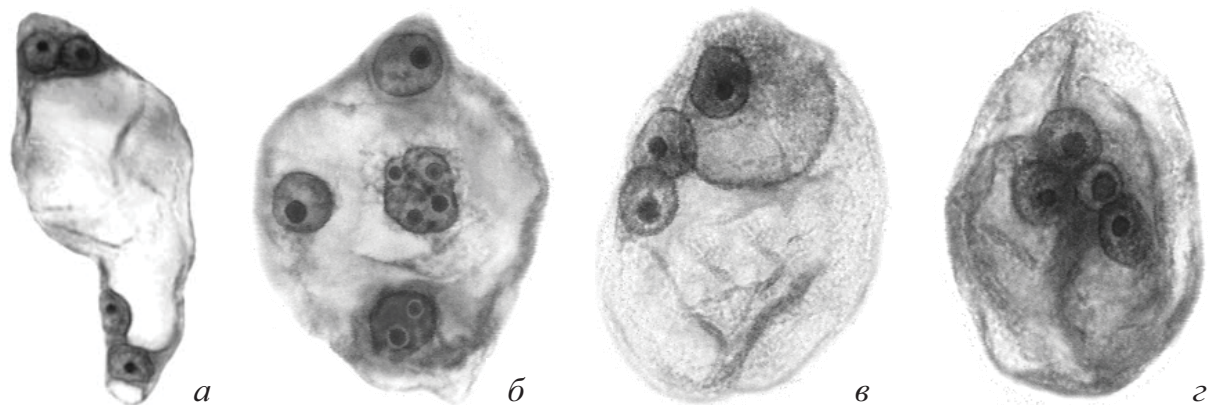


Рис. 2. Зародышевые мешки аномального строения с числом ядер менее 7: а – 4-ядерный ценоцитный; б – 4-ядерный ценоцитный с дополнительными ядрышками в ядрах; в, з – клеточные 3-ядерный и 4-ядерный. Увеличение $\times 400$



3. ЗМ с числом ядер больше восьми ценоцитные или клеточные (рис. 3). Особенностью образования ЗМ этой группы являются дополнительные митотические деления в гаметогенезе, при этом число ядер могло быть кратным 8 или нет, четным или нечетным. В ценоцитных ЗМ

ядра обычно располагались по всему объему (см. рис. 3, а). В ЗМ с клеточной дифференцировкой расположение клеток и свободных ядер могло быть беспорядочным (см. рис. 3, б) или биполярным с дополнительными клетками в яйцевом и антиподальном аппаратах (см. рис. 3, в, г).

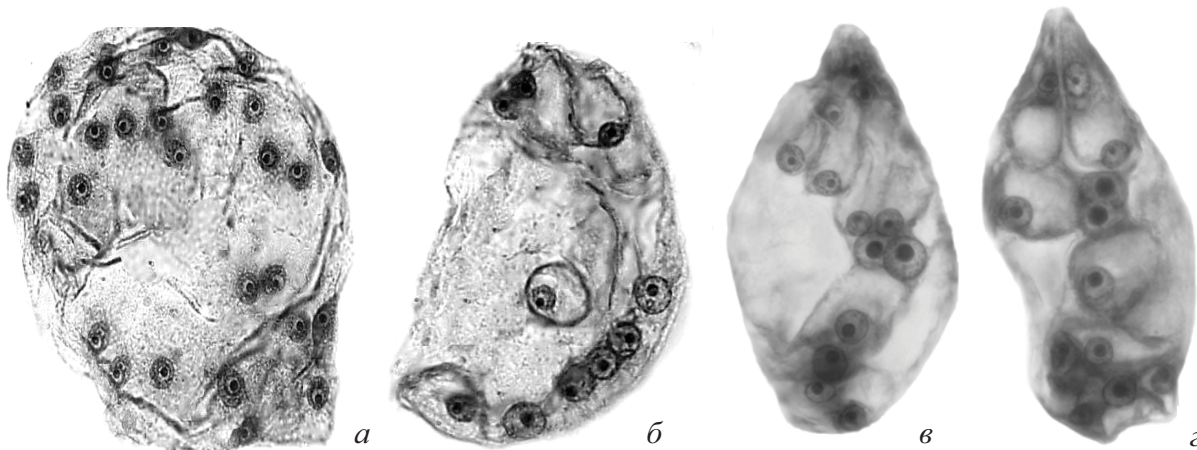
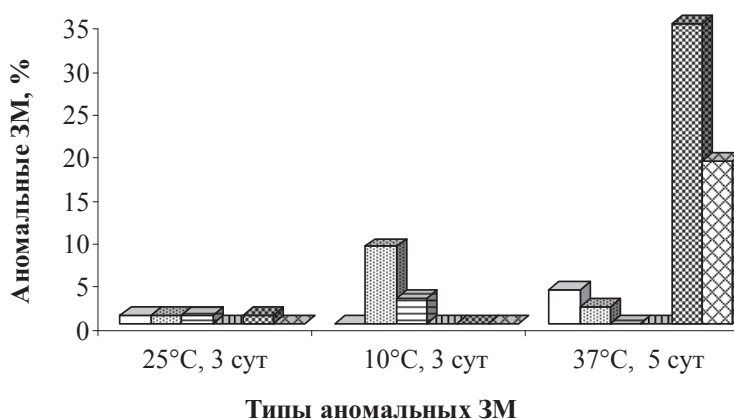


Рис. 3. Зародышевые мешки аномального строения с числом ядер более 8: а – 28-ядерный ценоцитный; б – с дополнительными полярными ядрами; в, г – с дополнительными клетками в яйцевом и антиподальном аппаратах. Увеличение $\times 400$

У контрольной линии БГ-6 максимальный морфогенетический эффект оказывала температура 37°C . Он выражался в резком повышении количества аномальных ЗМ (с 4% при 25°C до 60 %). Среди аномальных доминировали ЗМ с числом ядер больше восьми (рис. 4), количество которых составляло 54%. Число ядер в таких ЗМ варьировало от 9 до 28. По расположению ядер и клеток это могли быть би-, моно- и аполярные ЗМ. Соотношение клеток и свободных ядер было

разнообразным. Наибольший интерес представляли ЗМ с дополнительными клетками в яйцевом аппарате и с дополнительными полярными ядрами. 19% многоядерных ЗМ были ценоцитными с различным числом ядер и их расположением.

Основные типы обнаруженных у линии БГ-6 аномальных ЗМ представлены на рис. 3. Таким образом, действие высокой температуры вызывало стимуляцию митотических делений в гаметогенезе и, в меньшей степени, подавление цитокинеза.



- Клеточные ЗМ с числом ядер <7
- ▤ Клеточные ЗМ с числом ядер 7-8
- ▥ Клеточные ЗМ с числом ядер >8
- ▧ Ценоцитные ЗМ с числом ядер <7
- ▨ Ценоцитные ЗМ с числом ядер 7-8
- ▩ Ценоцитные ЗМ с числом ядер >8

Рис. 4. Распределение типов аномальных зародышевых мешков у линии БГ-6, гаметогенез которых проходил при разных температурных условиях



В 6% случаев при температуре 37°C наблюдали появление ЗМ с числом ядер менее 7, в основном клеточного строения. Это указывало на возможность снижения числа митотических делений в гаметогенезе при высокой температуре.

При понижении температуры до 10°C у немутантной линии БГ-6 образуется 11% малоядерных ценоцитных ЗМ. При этом все другие типы аномальных ЗМ отсутствовали. Из этого следует, что цитологический эффект низкой температуры проявляется прежде всего в подавлении митозов. У большинства малоядерных аномальных ЗМ также было подавлено образование клеточных стенок.

У мутантной линии БГ-141.4 высокая и низкая температуры, прежде всего, подавляли цитокинез. В результате образовывались многочисленные ценоцитные ЗМ (рис. 5). Однако низкая температура оказывала более выраженное влияние на цитокинез и приводила практически к полной замене малоядерных клеточных ЗМ при 25°C на малоядерные ценоцитные. Следует также отметить значительное снижение митотической активности при низкой температуре, что подтверждается увеличением количества ЗМ с числом ядер менее семи с 75% при 25°C до 93% при 10°C. Высокая температура на стадии гаметогенеза у данного мутанта может индуцировать дополнительные митозы, что подтверждается образованием единичных ценоцитных ЗМ с числом ядер более восьми (см. рис. 5), а также малоядерных ЗМ с крупными ядрами неправильной формы, содержащими дополнительные ядрышки (см. рис. 2, б). Вероятно, в этом случае деления ядер осуществлялись аномально по типу эндомитозов.

Сходный морфогенетический эффект действия экстремальных температур на развитие ЗМ зарегистрирован и у мутантной линии М-3, а именно температура 10°C угнетала митотические деления и цитокинез, а температура 37°C индуцировала в 6% ЗМ дополнительные деления и практически не влияла на цитокинез. В обоих температурных вариантах увеличивается общее количество аномальных ЗМ, но при низкой температуре все они представлены малоядерными ценоцитными, а при высокой – различными типами (см. рис. 5).

У линии СГ-27/4 сохраняется специфика действия низкой температуры, обнаруженная для других генотипов. Низкая температура подавляет митозы и цитокинез. Это приводит к снижению количества многоядерных клеточных ЗМ с 25% до 5%. Уменьшается также количество и других

типов клеточных ЗМ аномального строения. При этом резко возрастает процент ценоцитных с числом ядер менее семи (см. рис. 5). Особенность действия высокой температуры на эту линию проявилась, прежде всего, в угнетении цитокинеза и появлении ценоцитных ЗМ с различным числом ядер. Следует также отметить некоторый эффект стимуляции митотических делений, поскольку процент многоядерных ЗМ увеличился при этой температуре с 25 до 33%.

В результате проведенного исследования ЗМ генотипически разнообразного материала (гомозиготной линии БГ-6 и трех мутантных линий) показана степень структурной пластичности ЗМ вида *Nicotiana tabacum*. Изменения структуры ЗМ мутантов позволили четко наблюдать дискретные признаки, имеющие разную генетическую обусловленность и по-разному изменяющиеся под действием разных гаметофитных мутаций, а именно: число митотических делений и наличие или отсутствие клеткообразования. Поэтому разные мутации вызывали доминирование ЗМ конкретного морфологического типа: ценоцитного с уменьшенным числом ядер, клеточного с уменьшенным числом ядер, клеточного с увеличенным числом ядер.

Полученные результаты свидетельствуют, что температурные условия в значительной степени моделируют проявление гаметофитных мутаций и являются мощным модифицирующим фактором. Однако действие экстремально низкой или экстремально высокой температуры на развитие ЗМ имело отчетливо выраженную специфику. У всех четырех проанализированных генотипов низкая температура в гаметогенезе угнетала митотические деления и цитокинез. В результате у всех мутантных генотипов при этом температурном режиме доминировали малоядерные ценоцитные ЗМ, а у линии БГ-6 этот тип ЗМ преобладал среди аномалий. Действие высокой температуры в гаметогенезе преимущественно индуцировало дополнительные митозы. Такой эффект наиболее отчетливо наблюдается у немутантной линии БГ-6, а также у мутанта СГ-27/4. Однако и у малоядерных мутантов (БГ-141.4 и М-3) прослеживается тенденция к образованию многоядерных ЗМ. При этом совершенно очевидно, что количественная выраженность модификаций ЗМ температурными условиями зависит от генотипа.

Определенная универсальность морфогенетических эффектов пониженных и повышенных температур на развитие ЗМ подтверждается данными, полученными для представителей других

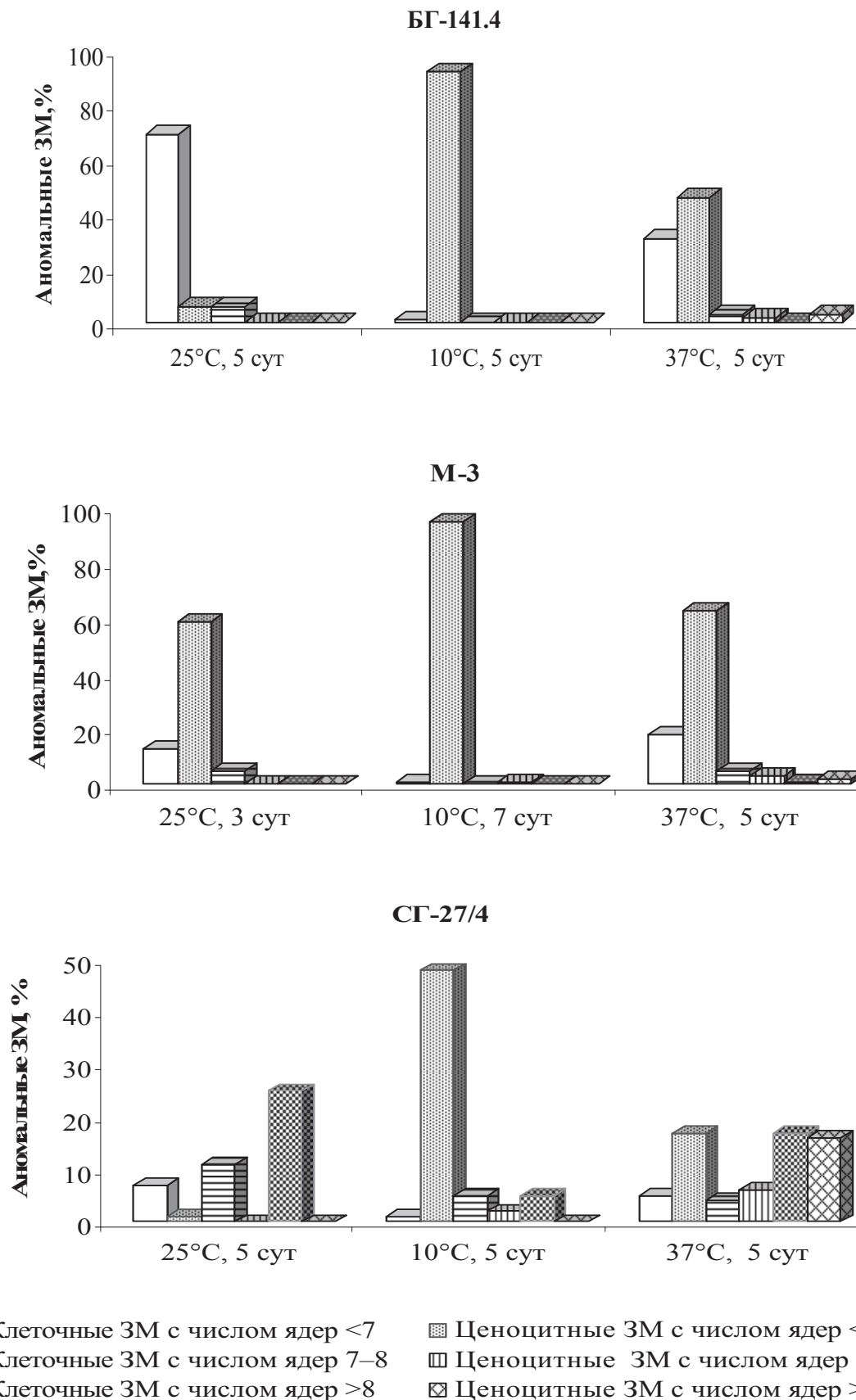


Рис. 5. Результаты анализа аномальных ЗМ, гаметонез которых проходил при разных температурах, у трех мутантных линий табака



систематических групп [13–17]. Не исключено, что, экспериментально изменяя температурные условия развития зародышевых мешков, можно активно вмешиваться в эмбриональные процессы и изменять их ход [18, 19].

Обращает на себя внимание то обстоятельство, что характер изменений ЗМ, индуцированных температурными воздействиями у немутантной линии БГ-6, имитирует некоторые гаметофитные мутации. Например, ЗМ с уменьшенным числом ядер, возникающие при низкой температуре, сходны с фенотипическими проявлениями мутации у линии М-3, а эффект повышенной температуры совпадает с проявлением мутации у линии СГ-27/4. Известно, что возникновение таких модификаций, фенотипически повторяющих мутации (фенокопий), определяют нарушения экспрессии генетической информации на различных стадиях – от транскрипции до ферментативной реакции белка – генного продукта и далее до нарушения морфогенетических процессов [20]. Это означает, что в основе значительного совпадения спектров двух типов изменчивости – генотипической и модификационной – лежат единые цитологические механизмы преобразования признаков зародышевого мешка. При этом количественная выраженность структурных вариаций женского гаметофита и соотношение их типов у разных форм определяются переплетением и взаимодействием генов и среды.

Проведенное исследование демонстрирует большие потенциальные возможности экспериментального подхода, основанного на комплексном изучении изменчивости ЗМ. Дальнейшая разработка этого направления может способствовать решению ряда проблем общей и частной эмбриологии растений и генетики систем размножения.

Список литературы

1. Enaleeva N. Ch. Experimental production of gametophyte mutants // Embryology and seed reproduction : Proc. of the XI Intern. symp. St. Petersburg, 1992. P. 143–144.
2. Enaleeva H. X. Внутривидовая изменчивость зародышевых мешков покрытосеменных растений : Теоретические и прикладные аспекты на примере *Nicotiana tabacum* L. : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Саратов. 2000. 35 с.
3. Enaleeva H. X., Тырнов В. С. Гаметофитные мутации // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 3. Системы репродукции. СПб. : Мир и семья, 2000. С. 378–384.
4. Enaleeva N. Ch., Lobanova L. P. Structural modifications of the female gametophyte induced by temperature in *Nicotiana tabacum* // Biologia Plantarum. 2003/4. Vol. 47, № 1. P. 85–90.
5. Lobanova L. P., Enaleeva H. X. Модификационная изменчивость признаков гаметофита // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепция. Т. 3. Системы репродукции. СПб. : Мир и семья, 2000. С. 384–389.
6. Enaleeva N. A tobacco mutant with a reduced cell number in embryo sacs. 1. Expression of the mutation in plants of different generations at the mature gametophyte stage // Sex. Plant Reprod. 1997. № 10. P. 300–304.
7. Колесова А. Ю. Цитологический и генетический механизмы редукции числа элементов в зародышевых мешках гаметофитного мутанта *Nicotiana tabacum* L. : автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2000. 19 с.
8. Enaleeva H. X. Изменчивость цитологической структуры мегагаметофита *Nicotiana tabacum* L. // Физиология растений. 2003. Т. 50, № 3. С. 398–403.
9. Lobanova L. P., Enaleeva N. Ch. The development of embryo sacs in ovaries in vitro of *Nicotiana tabacum* // Plant Science. 1998. Vol. 132. P. 191–202.
10. Enaleeva H. X., Тырнов В. С., Хохлов С. С. Выделение зародышевых мешков покрытосеменных растений путем мацерации тканей // Цитология и генетика. 1972. Т. 6, № 5. С. 439–441.
11. Чеботарь А. А. Табак – *Nicotiana tabacum* L. // Эмбриология плодово-ягодных технических и стимулирующих возделываемых растений. Кишинев : Штиинца, 1987. С. 188–193.
12. Банникова В. П., Хведынич О. А. Основы эмбриологии растений. Киев : Наук. дум., 1982. 163 с.
13. Helmgvist H., Grazi F. Studies on variation in embryo sac development. Second part // Bot. Notiser. 1965. Vol. 118, № 4. P. 329–360.
14. Поддубная-Арнольди В. А., Стешина Н., Сосновец А. Материал к биологии цветения и размножения *Scorzonera tau-saghyz* Lipsh. et Boss // Бот. журн. 1934. Т. 19, № 4. С. 338–389.
15. Sokolowska-Kylczycka A. Poszukiwania przyczyn zmniejszenia rozwojowej gametofitow zenskich u Angiospermae // Wiad. Bot. 1988. Vol. 32, № 2. P. 81–93.
16. Huyghe C. La poliembrionie haploide-diploide chez le lin (*Linum usitatissimum* L.). Stude cytologique et physiologique // Agronomie. 1987. Vol. 7, № 8. P. 567–573.
17. Чеботарь А. А. Эмбриология кукурузы. Кишинев : Штиинца, 1972. 384 с.
18. Тырнов В. С. Эмбриогенетика растений // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 3. Системы репродукции. СПб. : Мир и семья, 2000. С. 389–392.
19. Ноглер Г. А. Гаметофитный апомиксис // Эмбриология растений : в 2 ч. Ч. 2. М. : Агропромиздат, 1990. С. 39–91.
20. Инге-Вечтомов С. Г. Генетика с основами селекции. М. : Высш. шк., 1989. 591 с.



The Specifics of Tobacco Gametophyte Mutations Display Depending on Temperature

L. P. Lobanova, A. Yu. Kolesova,
T. A. Alatortseva, I. A. Nurusheva

Ludmila P. Lobanova, ORCID 0000-0001-7982-3621, Saratov State University, 83, Asrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, lobanova-lp@yandex.ru

Alla Yu. Kolesova, ORCID 0000-0002-6330-2052, Saratov State University, 83, Asrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, kolesova-au@yandex.ru

Tatyana A. Alatortseva, ORCID 0000-0001-5280-5933, Saratov State University, 83, Asrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, alatortsevata@mail.ru

Irina A. Nurusheva, ORCID 0000-0003-4063-5572, Saratov State University, 83, Asrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, ira.nurusheva76@gmail.com

The research of extreme low (10°C) and high (37°C) temperatures influence under *in vitro* conditions on phenotypic display of three mutations in *Nicotiana tabacum* L. with of a certain morphological

type domination was conducted. The BG-141.4 line is characterized by low-cellular embryo sacs formation, in the SG-27/4 line the trait of the increased number of nucleus and cells in embryo sacs exhibits, the line M-3 differs by high frequency of cenocyte low-cellular embryo sacs. In the mutants at ovary cultivation in a normal temperature conditions (25°C) the process of embryo sacs formation was realized by its typical mode and replicated a phenotype described for plants of mutant lines, grown on the experimental field under *in vivo* conditions. Temperature conditions substantially modified a gametophyte mutations display, thus extremely low or extremely high temperature on embryo sacs development had distinctly expressed specificity. In three mutant lines and in control non mutant line BG-6 a low temperature in the gametogenesis depressed a mitotic divisions and cytokinesis. As a result over all lines at this temperature mode the cenocyte low-cellular embryo sacs dominated. Action of a high temperature in a gametogenesis mainly induced additional mitoses. Such effect is most distinctly observed in control and in mutant with the increased number of cells in embryo sacs, however at both low-nuclei mutants at 37°C the tendency to multinuclear embryo sacs formation also is traced. Obtained data show, that quantitative expressiveness of embryo sacs modifications under the temperature conditions substantially depends on a genotype.

Key words: *Nicotiana tabacum* L., gametophyte mutations, temperature, embryo sac, *in vitro*.

Образец для цитирования:

Лобанова Л. П., Колесова А. Ю., Алаторцева Т. А., Нурушева И. А. Особенности проявления гаметофитных мутаций табака в зависимости от температуры // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 420–427. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-420-427.

Cite this article as:

Lobanova L. P., Kolesova A. Yu., Alatortseva T. A., Nurusheva I. A. The Specifics of Tobacco Gametophyte Mutations Display Depending on Temperature. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 420–427 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-420-427.



УДК [57.063.8:616.98:579.861.2] – 048.88:615.373.35:615.849.19 (045)

ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАСНОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА НА РОСТ ШТАММОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФОТОДИТАЗИНА



А. В. Егорова, Г. Е. Брилли, И. О. Бугаева, Е. С. Тучина, О. В. Нечаева

Егорова Анна Валериевна, доцент кафедры гистологии, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, кандидат медицинских наук. E-mail: AV_Egorova@VK.RU

Брилли Григорий Ефимович, профессор кафедры патологической физиологии, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, доктор медицинских наук. E-mail: gbrill@yandex.ru

Бугаева Ирина Олеговна, профессор кафедры гистологии, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, доктор медицинских наук. E-mail: bugaeva@sgmu.ru

Тучина Елена Сергеевна, доцент кафедры биохимии и биофизики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат биологических наук. E-mail: tuchinaes@gmail.com

Нечаева Ольга Викторовна, доцент кафедры экологии, Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А., кандидат биологических наук. E-mail: olgav.nechaeva@rambler.ru

Исследовано влияние лазерного излучения красной области спектра на рост колоний метициллин-чувствительного и метициллин-резистентного штаммов золотистого стафилококка, а также изучен фотодинамический эффект фотосенсибилизатора фотодитазина. Установлено, что излучение полупроводникового красного лазера ($\lambda - 660$ нм, 100 мВт/см²) оказывает непосредственное бактериостатическое действие на рост *S. aureus*. Этот эффект на стандартном штамме проявляется только при использовании относительно высоких доз облучения (180 Дж/см²). Угнетение роста бактерий при этом достигает 36%. Метициллин-резистентный штамм *S. aureus* более чувствителен к бактериостатическому действию излучения красного лазера, поскольку угнетающее влияние на рост бактериальных колоний оказывают меньшие дозы света (60 и 90 Дж/см²). При максимальной дозе облучения, использованной в наших опытах, угнетение роста бактерий составляет 67%. Предварительная сенсibilизация бактериальных клеток фотодитазином заметно усиливает ростигибирующий эффект. Бактериостатическое действие излучения красного лазера на метициллин-чувствительный штамм *S. aureus* проявляется при действии дозы 90 Дж/см². Степень угнетения роста бактериальных колоний метициллин-резистентного штамма *S. aureus* также значительно выше после предварительного действия фотодитазина, чем при действии только лазера.

Ключевые слова: золотистый стафилококк, лазерное излучение, фотодитазин.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-428-431

Золотистый стафилококк является возбудителем многих заболеваний человека и до последнего времени остается наиболее частой причиной возникновения внутрибольничных инфекций [1, 2]. Особому риску подвергаются пациенты с ослабленной иммунной системой при несоблюдении персоналом больницы надлежащих санитарных правил. Лечение стафилококковых инфекций вызывает серьезные трудности, вследствие нарастающей лекарственной устойчивости возбудителя и появления метициллин-резистентных штаммов (MRSA) [3–5]. Последнее диктует необходимость изыскания новых немедикаментозных методов лечения стафилококковых поражений. В этом плане внимание исследователей привлекают различные виды низкоинтенсивного лазерного излучения. Однако считается, что бактериальные клетки мало чувствительны к свету красной области спектра.

Целью настоящей работы явилось изучение прямого бактериостатического действия на золотистый стафилококк низкоинтенсивного красного лазера и фотодинамического эффекта фотосенсибилизатора фотодитазина.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали клетки стандартного (метициллин-чувствительного, MSSA) и клинического (метициллин-резистентного, MRSA) штаммов *S. aureus* 209P, полученные из музея кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Саратовского государственного медицинского университета имени В. И. Разумовского. Для культивирования бактерий использовали ГРМ-агар (ГНЦ ПМБ «Оболensk», Россия). Для облучения культур микроорганизмов использовали полупроводниковый лазер (EMRED Oy, Финляндия), генерирующий излучение красной области спектра ($\lambda - 660$ нм) в непрерывном режиме. Плотность мощности – 100 мВт/см², время облучения – 5 , 10 , 15 и 30 мин. При этом суммарная энергетическая доза облучения составляла соответственно 30 , 60 , 90 и 180 Дж/см². Для сенсibilизации бактериальных клеток использовали водный раствор фотодитазина



(N-диметилглюкаминная соль хлорина Е6) в концентрации 5×10^{-6} М (производитель – ООО «ВЕТА-ГРАНД, Москва, Россия»). Фотосенсибилизатор был любезно предоставлен проф. Г. В. Пономаревым (Москва). Пик поглощения молекулы фотодитазина совпадает с длиной волны используемого лазера. Для создания асептических условий полистирольный 96-луночный планшет для иммунологических исследований помещали в стерильный пластиковый корпус. Источник излучения располагали над ячейками планшета.

Бактериальную взвесь готовили в стерильном физиологическом растворе по международному оптическому стандарту мутности 5 ед. (ГИСК им. Л. А. Тарасевича, Москва); конечная концентрация составила 10^3 м.к./мл. Из разведения микроорганизмов 10^4 м.к./мл 0,1 мл взвеси вносили в 0,9 мл раствора фотосенсибилизатора и инкубировали в течение 30 мин без доступа света. Из конечного разведения, а также из раствора фотосенсибилизатора бактериальную взвесь в объеме 0,2 мл вносили в ячейки планшета. Облучение находящихся в ячейках бактериальных клеток проводили, последовательно увеличивая дозу. Из каждой ячейки высевали по 0,2 мл взвеси на чашки Петри с плотной питательной средой и равномерно распределяли по поверхности стерильным шпателем. Контролем служили взвеси бактерий, не обработанные фотосенсибилизатором и не подвергнутые облучению. Посевы контрольных и облученных микроорганизмов инкубировали в течение 48 ч при 37°C . Оценку роста бактерий проводили путем подсчета числа колониеобразующих единиц (КОЕ). Все эксперименты проводили в пятикратных повторностях. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием U-теста Манна–Уитни. Достоверными считали различия средних при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Среднее количество колоний при росте метициллин-чувствительного штамма в контроле (без воздействия) составило $373,6 \pm 46,2$. Лазерное облучение в суммарной дозе 30, 60 и 90 Дж/см^2 не вызывало достоверного изменения числа колоний ($p > 0,1$). Однако фотовоздействие в дозе 180 Дж/см^2 уменьшало количество колоний до $238,8 \pm 21,8$, т.е. на 36% ($p < 0,02$).

Иные закономерности были обнаружены при использовании метициллин-резистентного штамма золотистого стафилококка. Среднее количество колоний этого штамма в контроле составило $320,6 \pm 69,9$, что достоверно не отли-

чалось от роста стандартного штамма ($p > 0,5$). После облучения лазером в суммарной дозе 30 Дж/см^2 угнетения клеточного роста также не наблюдалось ($p > 0,05$). Увеличение дозы фотовоздействия приводило к подавлению бактериального роста. Так, при использовании дозы 60 Дж/см^2 число колоний уменьшилось до $143,2 \pm 19,6$ (на 55%, $p < 0,05$), при 90 Дж/см^2 – до $126,4 \pm 16,8$ (на 61%, $p < 0,05$), при 180 Дж/см^2 – до $107,2 \pm 14,8$ ($p < 0,02$), то есть при максимальной дозе облучения, использованной в наших опытах, угнетение роста бактерий достигало 67%.

Следовательно, низкоинтенсивное лазерное излучение красной области спектра оказывает ингибирующее влияние на рост колоний золотистого стафилококка, причем этот эффект на стандартном штамме проявляется только при использовании относительно высоких доз облучения (180 Дж/см^2). Фоточувствительность метициллин-резистентного штамма оказалась значительно выше: бактериостатическое действие красного света отмечалось уже при дозе 60 Дж/см^2 .

Последующие эксперименты позволили определить, не влияет ли на рост стафилококков предварительная инкубация бактериальных клеток с фотосенсибилизатором фотодитазином. Как оказалось, этот препарат не оказывает существенного влияния на рост бактерий. Число колоний штамма MSSA при использовании фотодитазина в концентрации 5×10^{-6} М составляло $338,8 \pm 36,0$ ($p > 0,5$), штамма MRSA – $296,4 \pm 63,1$ ($p > 0,5$). Следующим этапом нашей работы явилось изучение фотодинамического действия фотодитазина на *S. aureus*. С этой целью микробные клетки, предварительно обработанные фотосенсибилизатором, подвергались лазерному воздействию.

Опыты, проведенные со штаммом MSSA, подвергнутым действию фотодитазина, показали, что лазерное облучение уже в малой дозе (30 Дж/см^2) снижает число колоний до $235,2 \pm 35,0$ ($p < 0,05$) (табл. 1.). Однако степень этого снижения достоверно не отличается от действия самого лазерного облучения ($p > 0,05$), т.е. отчетливого фотодинамического эффекта не наблюдается. Увеличение дозы фотовоздействия до 60 Дж/см^2 вызывает еще большее угнетение роста бактерий (до $128,0 \pm 17,7$ колоний; $p < 0,01$). В этом проявляется явное фотодинамическое действие, поскольку степень подавления роста бактерий достоверно превышает лазерный эффект ($p_1 < 0,01$). В дальнейшем по мере увеличения энергетической экспозиции облучения наблюдается прогрессирующее угнетение роста колоний: при облучении в дозах 90 и 180 Дж/см^2 количество колоний уменьшает-



ся до $102,8 \pm 15,5$ ($p < 0,001$) и $69,6 \pm 13,8$ ($p < 0,001$) соответственно, что также заметно превышает степень торможения бактериального роста при

воздействии только лазера ($p_1 < 0,01$ и $p_1 < 0,001$) и свидетельствует о фотодинамическом эффекте фотодитазина (см. табл. 1).

Таблица 1

Влияние лазерного излучения и предварительной обработки фотодитазинном (ФД) на рост метициллин-чувствительного штамма *Staphylococcus aureus* (число колоний)

Серия опытов	Доза (Дж/см ²)			
	30	60	90	180
Лазер (660 нм)	$343,2 \pm 45,8$ $p > 0,5$	$317,0 \pm 42,2$ $p > 0,2$	$275,8 \pm 31,5$ $p > 0,1$	$238,8 \pm 21,8$ $p < 0,02$
ФД+лазер	$235,2 \pm 35,0$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$	$128,0 \pm 17,7$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$	$102,8 \pm 15,5$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,01$	$69,6 \pm 13,8$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$

Примечание. Число колоний в контроле – $373,6 \pm 46,2$; p – достоверность разницы с контролем; p_1 – достоверность разницы с соответствующей дозой при действии лазера.

В опытах со штаммом MRSA предварительная обработка фотодитазинном с последующим лазерным облучением в дозах 30 и 60 Дж/см² достоверно не влияла на число коло-

ний. Так, при использовании дозы облучения 30 Дж/см² число колоний составило $248,2 \pm 52,5$ ($p > 0,2$), при 60 Дж/см² – $151,8 \pm 34,0$ ($p > 0,05$) (табл. 2).

Таблица 2

Влияние лазерного облучения и предварительной обработки фотодитазинном (ФД) на рост метициллин-резистентного штамма *Staphylococcus aureus* (число колоний)

Серия опытов	Доза, Дж/см ²			
	30	60	90	180
Лазер (660 нм)	$176,4 \pm 25,3$ $p > 0,05$	$143,2 \pm 19,6$ $p < 0,05$	$126,4 \pm 16,8$ $p < 0,05$	$107,2 \pm 14,8$ $p < 0,02$
ФД+лазер	$248,2 \pm 52,5$ $p > 0,2$ $p_1 > 0,2$	$151,8 \pm 34,0$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,5$	$66,4 \pm 16,2$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$	$34,4 \pm 12,8$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$

Примечание. Число колоний в контроле – $320,6 \pm 69,9$; p – достоверность разницы с контролем; p_1 – достоверность разницы с соответствующей дозой при действии лазера.

При дальнейшем увеличении дозы облучения регистрировалось отчетливое угнетение клеточного роста: число колоний при дозе облучения 90 Дж/см² уменьшалось до $66,4 \pm 16,2$ ($p < 0,01$), при 180 Дж/см² – до $34,4 \pm 12,8$ ($p < 0,01$). Причем при действии двух последних доз лазерного облучения выявлялся отчетливый фотодинамический эффект: степень угнетения роста бактериальных колоний была значительно выше после предварительного действия фотодитазина, чем при действии только лазера ($p_1 < 0,05$ и $p_1 < 0,01$ соответственно).

Таким образом, лазерное излучение красного диапазона спектра оказывает непосредственное бактериостатическое действие на рост метициллин-чувствительного и метициллин-резистентного штаммов *S. aureus*, причем этот эффект более выражен на резистентном штамме. Предварительная сенсibilизация бактериаль-

ных клеток фотодитазинном заметно усиливает ростиингибирующий эффект.

Список литературы

1. McKinnell J. A., Miller L. G., Eells S. J., Cui E., Huang S. S. A systematic literature review and meta-analysis of factors associated with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization a time of hospital or intensive care unit admission // Infect. Control Hosp. Epidemiol. 2013. Vol. 34, № 10. P. 1077–1086.
2. Carrel M., Schweizer M. L., Sarrazin M. V., Smith T. C., Perencevich E. N. Residential proximity to large numbers of swine in feeding operations is associated with increased risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization at time of hospital admission in rural Iowa veterans // Infect. Control Hosp. Epidemiol. 2014. Vol. 35, № 2. P. 190–193.
3. Dissemmond J., Goos M., Esser S. Pathogenetic significance of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in chronic wounds // Vasa. 2003. Vol. 32, № 3. P. 131–138.



4. Braga E. D., Aguiar-Alves F., de Freitas M. F. High prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* colonization among healthy children attending public daycare centers in informal settlements in a large urban center in Brazil // BMC Infect. Dis. 2014. Vol. 6, № 14. P. 538.
5. Miller R. M., Price J. R., Batty E. M. Healthcare-associated outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia: role of a cryptic variant of an epidemic clone // J. Hosp. Infect. 2014. Vol. 86, № 2. P. 83–89.

Photodynamic Effect of Red Laser Radiation on the Growth of *Staphylococcus aureus* Strains with the Use of Photoditazine

A. V. Egorova, G. E. Brill, I. O. Bugaeva, E. S. Tuchina, O. V. Nechaeva

Anna V. Egorova, ORCID 0000-0001-7112-2556, Saratov State Medical University, 112, Bolshaya Kazachya Str., Saratov, 410012, Russia, AV_Egorova@BK.RU

Grigory E. Brill, ORCID 0000-0002-0402-9420, Saratov State Medical University, 112, Bolshaya Kazachya Str., Saratov, 410012, Russia, gbrill@yandex.ru

Irina O. Bugaeva, ORCID 0000-0002-1447-4325, Saratov State Medical University, 112, Bolshaya Kazachya Str., Saratov, 410012, Russia, bugaeva@sgmu.ru

Elena S. Tuchina, ORCID 0000-0003-4498-2846, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, tuchinaes@gmail.com

Olga V. Nechaeva, ORCID 0000-0003-3331-1051, Yuri Gagarin State Technical University, 77, Polytechnicheskaya Str., Saratov, 410054, Russia, olgav.nechaeva@rambler.ru

The influence of red laser irradiation on the growth of colonies of *Staphylococcus aureus* and photodynamic effect of the photosensitizer Photoditazin were performed. It is established that the radiation of a semiconductor red laser ($\lambda = 660 \text{ nm}$, 100 mW/cm^2) has a direct bacteriostatic effect on the growth of *S. aureus*. This effect on the standard strain is manifested only when relatively high doses are used (180 J/cm^2). Inhibition of bacterial growth reaches 36%. Photosensitivity of the methicillin-resistant strains was much higher: bacteriostatic effect of red light was observed already at the dose of 60 J/cm^2 . At the maximum dose of irradiation used in our experiments, the inhibition of bacterial growth is 67%. Pre-treatment of bacterial cells by Photoditazin significantly enhances the inhibitory effect of the laser light. The bacteriostatic action of the red laser radiation on the methicillin-sensitive *S. aureus* strain is manifested when the doses of 90 J/cm^2 is applied. The degree of inhibition of growth of bacterial colonies of the methicillin-resistant *S. aureus* strain is also significantly higher after the preliminary action of Photoditazin than with the action of only the laser.

Key words: *Staphylococcus aureus*, red laser radiation, photoditazin.

Образец для цитирования:

Егорова А. В., Бриль Г. Е., Бугаева И. О., Тучина Е. С., Нечаева О. В. Фотодинамическое воздействие лазерного излучения красной области спектра на рост штаммов *Staphylococcus aureus* с использованием фотодитазина // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 428–431. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-428-431.

Cite this article as:

Egorova A. V., Brill G. E., Bugaeva I. O., Tuchina E. S., Nechaeva O. V. Photodynamic Effect of Red Laser Radiation on the Growth of *Staphylococcus aureus* Strains with the Use of Photoditazine. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 428–431 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-428-431.



УДК 502.753

ПОЛИМОРФИЗМ ПО РАЗМЕРУ ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН В ЦЕНОПОПУЛЯЦИЯХ ТЮЛЬПАНА ГЕСНЕРА (*TULIPA GESNERIANA* L., 1753) НА ТЕРРИТОРИИ УРОЧИЩА «ИВАНОВО ПОЛЕ»

Ю. А. Беляченко, А. А. Беляченко

Беляченко Юлия Александровна, доцент кафедры генетики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат биологических наук. E-mail: juliabelyachenko@mail.ru

Беляченко Андрей Александрович, доцент кафедры экологии, Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А., кандидат биологических наук. E-mail: belyachenkoaa@mail.ru

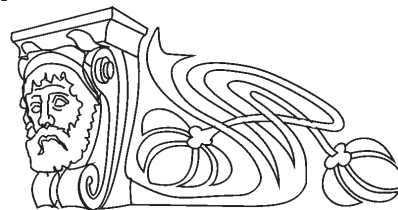
Одна из крупных популяций тюльпана Геснера (*Tulipa gesneriana* L., 1753) находится в Федоровском районе Саратовской области на территории регионального памятника природы «Урочище «Иваново поле», где она представлена тремя ценопопуляциями. Настоящая работа посвящена изучению морфологии зрелой пыльцы растений данных ценопопуляций, характеризующихся различными вариантами окраски частей цветка. Проведен анализ размера и других морфологических особенностей пыльцы, зафиксированной в 2012 г., когда в районе исследования отмечалось высокое разнообразие растений по окраске околоцветника. Определена доля аномальных пыльцевых зерен, морфологически отличающихся от нормальной выполненной двухклеточной пыльцы. Методом однофакторного дисперсионного анализа выявлены достоверные индивидуальные различия между растениями по размеру пыльцевых зерен. Показано, что исследуемые ценопопуляции являются полиморфными по данному признаку.

Ключевые слова: *Tulipa gesneriana*, ценопопуляции, особо охраняемые природные территории, урочище «Иваново поле», полиморфизм, пыльца.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-432-437

Тюльпан Геснера (*Tulipa gesneriana* L., 1753) – евразийский степной вид многолетних травянистых растений из семейства Лилейных [1], занесенный в Красную книгу России и Красную книгу Саратовской области. Как вид, находящийся на территории Саратовской области под угрозой исчезновения [2], тюльпан Геснера требует особо пристального внимания для разработки надежных мер по эффективной охране всех составляющих его популяций. Популяционной биологии и экологии данного вида посвящен ряд исследований в Поволжье и других регионах России [3–9].

Одна из наиболее крупных популяций тюльпана Геснера находится в Федоровском районе



Саратовской области на территории регионального памятника природы «Урочище «Иваново поле», расположенного в верховьях балки Таловка (N 51°00'10,9" E 47°30'19,4") [10, 11]. Эта популяция неоднородна и представлена тремя ценопопуляциями (ЦП) (рис. 1).

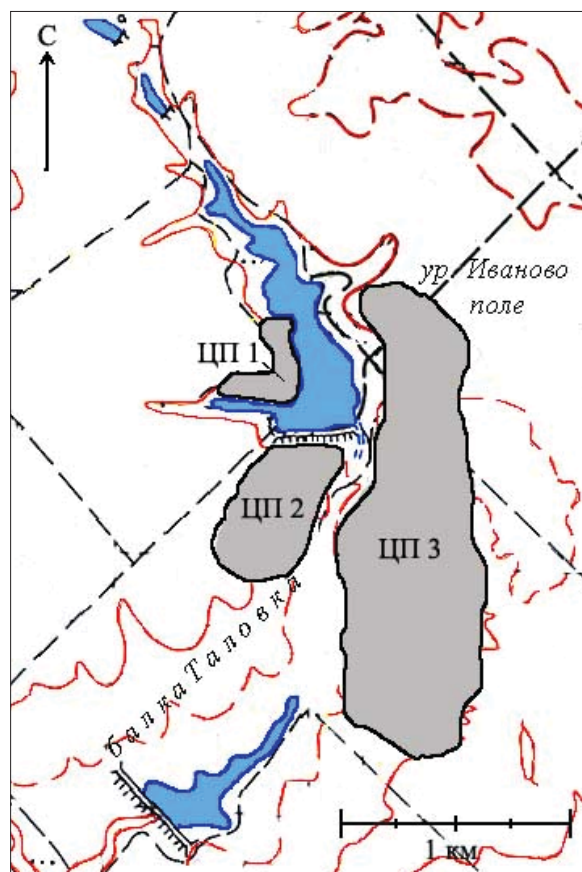


Рис. 1. Схема района исследования

В рассматриваемых ЦП тюльпана Геснера отмечается полиморфизм по окраске околоцветника. В ходе исследований, проведенных в 2011–2016 гг., были выявлены вариации в проявлении морфологических признаков окраски листочков околоцветника, его дна, тычиночных нитей и пыльников [12 – 14]. При этом другие особенности генеративной сферы растений из рассматриваемых популяций данного объекта



оставались за гранью исследований. Целью настоящей работы являлось изучение морфологии зрелой пыльцы растений тюльпана Геснера, произрастающих на территории урочища «Иваново поле» и характеризующихся различными вариантами окраски частей цветка.

Материалы и методы

Основные цвета и оттенки частей цветка определялись с учетом методических рекомендаций А. С. Бондарцева [15] в соответствии с разработанной нами классификацией [14]. Границы и координаты ценопопуляций определялись при помощи GPS-навигатора Garmin 60 CSx в проекции координат WGS84.

Материал для исследования фиксировался в 2012 г., когда в исследуемых ЦП отмечалось высокое разнообразие растений по окраске околоцветника. Фиксация пыльников со зрелой пыльцой выполнялась ацетоалкоголем с раскрытых цветков, различающихся по признакам окраски околоцветника и андроеца. Исследования проводились на временных ацетокарминовых препаратах зафиксированной пыльцы.

Для анализа препаратов использовался световой микроскоп Axioskop 40 (Carl Zeiss). Фотографирование осуществлялось при 200-кратном

увеличении микроскопа с помощью цифровой камеры AxioCam MRm. Измерения диаметра пыльцевых зерен (ПЗ) проводились с использованием программы AxioVision Release 4.6.3. Доля аномальной пыльцы определялась в результате анализа не менее 100 ПЗ в нескольких полях зрения как относительное количество аномальных зерен, к числу которых относились ПЗ со слабоокрашенным содержимым или без него (пустые оболочки), а также ПЗ с плазмолизом.

Статистическая обработка данных для оценки достоверности различий между растениями осуществлялась с помощью однофакторного дисперсионного анализа в программе Statistica 6.0. При этом различия считались достоверными при $p \leq 0,05$. Вычисления доверительных интервалов для средних значений основывались на использовании t-критерия Стьюдента при уровне значимости $p = 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Нормальные зрелые пыльцевые зерна тюльпана Геснера характеризуются двухклеточным строением (рис. 2). Наряду с нормальными выполненными ПЗ могут встречаться их пустые оболочки (нередко деформированные), а также плазмолизованные ПЗ.

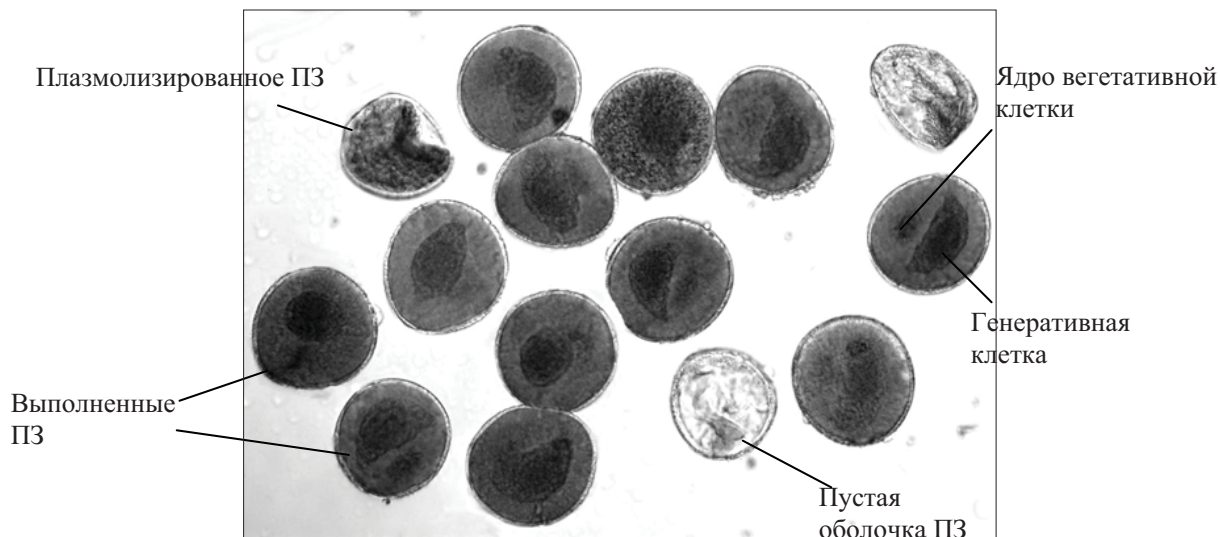


Рис. 2. Пыльца тюльпана Геснера

В табл. 1 приведены средние значения диаметра ПЗ среди исследуемой выборки растений ЦП1. Все указанные здесь варианты окраски достаточно четко различаются между собой. Для удобства в таблице приводятся краткие описания окраски околоцветника и цвет пыльников. Общее количество образцов растений с разными вариантами окраски частей цветка в ЦП1 со-

ставляло 12. При этом окраска пыльников варьировала существенно в меньшей степени, по сравнению с окраской околоцветника, представляя всего три цветовых варианта – желтую, буро-желтую и фиолетовую окраски.

Средний диаметр ПЗ варьирует здесь от 55,5 до 62,9 мкм. Варьирование конкретных значений данного параметра еще шире – от 38,1 до



Таблица 1

Средний диаметр ПЗ растений ЦП1 с различными вариантами окраски частей цветка

№ растения	Окраска околоцветника	Окраска пыльников	Средний диаметр ПЗ (d), мкм	Достоверные различия по d с другими растениями, кроме:	Доля аномальной пыльцы, %
1	Алая	Фиолетовая	$58,5 \pm 0,7$	–	3,2
2	Белая	Желтая	$55,5 \pm 0,8$	8	2,5
3	Желтая		$59,3 \pm 0,7$	1	4,9
4	Красно-желтая (неравномерная)	Буро-желтая	$57,3 \pm 0,7$	5, 6, 12	4,7
5	Лилово-пурпурная светлая	Желтая	$57,6 \pm 0,7$	1	13,4
6	Лилово-пурпурная темная		$57,4 \pm 0,7$	5, 12	5,9
7	Малиновая	Фиолетовая	$62,5 \pm 0,7$	–	6,1
8	Малиново-коралловая	Желтая	$55,9 \pm 0,5$	–	2,2
9	Малиново-розовая		$61,2 \pm 1,0$	11	5,4
10	Оранжево-красная		$62,9 \pm 0,7$	7	3,5
11	Розовая (неравномерная)		$61,4 \pm 0,7$	–	2,5
12	Светло-розовая (неравномерная)		$57,5 \pm 0,7$	1, 5	0,8

78,8 мкм. При этом различия между растениями по данному признаку согласно дисперсионному анализу чаще всего являются достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$. Случаи отсутствия достоверных различий указаны в соответствующем столбце табл. 1–3. Доля аномальных ПЗ находилась в пределах от 0,8 до 13,4%, для большинства растений не превышая 3–6%.

Аналогичные данные по растениям ЦП2 представлены в табл. 2. Всего здесь были изучены также 12 образцов растений, однако два типа окраски околоцветника были признаны сходными в рамках используемой нами классификации. Окраска пыльников у большинства растений оказалась желтой, за исключением единственного образца с фиолетовыми пыльниками, в сочетании с темно-красным околоцветником.

Таблица 2

Средний диаметр ПЗ растений ЦП2 с различными вариантами окраски частей цветка

№ растения	Окраска околоцветника	Окраска пыльников	Средний диаметр (d) ПЗ, мкм	Достоверные различия по d с другими растениями, кроме:	Доля аномальной пыльцы, %
1	Белая	Желтая	$60,2 \pm 1,4$	10	14,1
2	Желтая		$54,3 \pm 0,6$	–	1,0
3	Желтая (с оранжевыми штрихами)		$60,4 \pm 0,7$	1	2,1
4	Лилово-пурпурная светлая		$63,4 \pm 1,1$	–	3,9
5	Малиновая		$56,1 \pm 0,6$	–	3,8
6	Малиново-коралловая		$58,7 \pm 0,8$	1, 10	8,3
7	Малиново-коралловая		$56,6 \pm 0,5$	5	1,6
8	Оранжево-красная		$52,5 \pm 0,5$	–	4,0
9	Розовая (неравномерная)		$57,3 \pm 0,4$	7, 12	3,4
10	Розовая (неравномерная)		$58,8 \pm 0,6$	–	43,0
11	Светло-розовая (неравномерная)		$61,8 \pm 0,5$	–	2,7
12	Темно-красная	Фиолетовая	$56,2 \pm 0,6$	5, 7	2,0

Средний диаметр ПЗ растений ЦП2 находился в пределах от 54,3 до 63,4 мкм. Фактически измеренные значения диаметра ПЗ

варьируют от 41,7 до 77,3 мкм. При этом различия между разными растениями по данному признаку в подавляющем большинстве случаев



являлись достоверными. Достоверность различий по диаметру ПЗ отмечалась, в частности, при сравнении между собой растений ЦП2, характеризующихся сходной окраской (варианты с малиново-коралловым и розовым неравномерно окрашенным околоцветником). Доля аномальной пыльцы варьировала от 1 до 43%, в большинстве случаев не превышая 4%. Наибольшее значение данного параметра относится к образцу с одним из повторяющихся типов окраски – растению с розовой (неравномерной) окраской околоцветника в сочетании с желтыми пыльниками.

Данные по ЦП3 обобщаются в табл. 3. Следует отметить, что данная ЦП отличается от рассмотренных ранее наиболее высоким полиморфизмом по окраске околоцветника. Окраска пыльников, как и в ЦП1, представлена тремя вариантами – желтой, буро-желтой и фиолетовой. Всего в ЦП3 было изучено 25 образцов растений, принадлежащих к 16 различным комбинациям окраски околоцветника с цветом пыльников. Остальные 9 типов окраски оказались сходными с другими образцами, что позволяло проводить сравнение диаметра ПЗ у близких по окраске растений в пределах изучаемой ЦП.

Таблица 3

Средний диаметр ПЗ растений ЦП3 с различными вариантами окраски частей цветка

№ растения	Окраска околоцветника	Окраска пыльников	Средний диаметр (d) ПЗ, мкм	Достоверные различия по d с другими растениями, кроме:	Доля аномальной пыльцы, %
1	Алая	Фиолетовая	$50,4 \pm 0,6$	–	9,0
2			$58,7 \pm 0,5$	–	11,3
3	Белая	Желтая	$54,5 \pm 0,6$	10	10,2
4	Желтая		$52,6 \pm 0,4$	17, 18	15,0
5			$54,1 \pm 0,7$	3	1,7
6	Лилово-пурпурная светлая	Фиолетовая	$56,2 \pm 0,5$	8, 15, 16, 19, 21	2,8
7		Желтая	$58,6 \pm 0,8$	2, 10, 13, 20, 22–25	1,6
8			$57,0 \pm 0,6$	12	7,9
9			$62,5 \pm 0,7$	–	6,9
10	Лилово-пурпурная темная		$59,2 \pm 0,7$	2	53,5
11			$55,0 \pm 0,5$	–	34,7
12		Фиолетовая	$57,2 \pm 0,6$	–	8,0
13	Малиново-коралловая	Желтая	$59,0 \pm 0,7$	10, 17, 25	0,8
14			$56,3 \pm 0,6$	8, 15, 16, 19	4,1
15			$55,6 \pm 0,6$	11, 16, 19	15,9
16			$55,9 \pm 0,5$	19	3,0
17	Оранжевая		$52,6 \pm 0,5$	18	3,0
18		Буро-желтая	$52,8 \pm 0,4$	–	1,7
19	Оранжево-желтая (неравномерная)	Желтая	$55,9 \pm 0,6$	–	5,0
20	Оранжево-красная	Буро-желтая	$58,8 \pm 0,5$	2, 10, 13, 22-25	6,8
21		Фиолетовая	$56,0 \pm 0,7$	14-16, 19	7,6
22			$59,8 \pm 0,8$	10, 13	23,2
23	Светло-розовая (неравномерная)	Желтая	$58,2 \pm 0,6$	2, 13, 24, 25	41,4
24			$58,1 \pm 0,6$	2, 12, 13, 25	5,3
25			$58,2 \pm 0,6$	2	27,0

Наименьшее значение среднего диаметра ПЗ у растений ЦП3 составило 50,4 мкм, наибольшее – 62,5 мкм. Варьирование фактических значений диаметра ПЗ находится в пределах от

43,7 до 83,8 мкм. При этом различия между разными растениями по данному параметру чаще всего являются достоверными. Пять вариантов окраски в ЦП3 повторяются: лилово-пурпурная



светлая (в сочетании с желтыми пыльниками) – 3 раза, лилово-пурпурная темная (с желтыми пыльниками) – 2 раза, малиново-коралловая (с желтыми пыльниками) – 4 раза, оранжево-красная (с фиолетовыми пыльниками) – 2 раза, светло-розовая (неравномерная, с желтыми пыльниками) – 3 раза. При этом различия между растениями сходной окраски по диаметру ПЗ оказываются достоверными более, чем в половине случаев (8 из 14) проведенных сравнений. Доля аномальной пыльцы у растений ЦПЗ варьирует от 0,8 до 53,5%, в большинстве случаев не превышая 11–16%.

Сопоставление по диаметру ПЗ растений сходной окраски, принадлежащих к разным ЦП, в большинстве, 72% (29 из 40), случаев сравнения позволяет сделать вывод о достоверности различий по результатам дисперсионного анализа. При сравнении сходных по окраске образцов в пределах одной ЦП достоверность различий отмечалась в 62% (10 из 16) случаев. Следует отметить, что различия по диаметру ПЗ между растениями разной окраски в пределах рассматриваемых ЦП достоверны в 82–86% случаев.

Таким образом, можно утверждать, что между разными экземплярами тюльпана Геснера часто наблюдаются индивидуальные различия по размеру ПЗ. При этом, если различия между фактическими значениями диаметра ПЗ могут превышать двукратные, то разница между средними значениями диаметра ПЗ у разных растений значительно меньше – в исследованной выборке растений она находится в пределах 20%. Несмотря на относительную близость средних значений рассматриваемого параметра, поскольку пыльца каждого цветка (растения) характеризуется достаточной степенью выравненности по диаметру, различия между разными экземплярами растений являются в большинстве случаев достоверными. В соответствии с этим диаметр пыльцы следует считать еще одним морфологическим признаком, по которому проявляется полиморфизм в исследуемых ЦП тюльпана Геснера.

Максимальная степень варьирования доли аномальной пыльцы отмечена в ЦПЗ, где она находилась в пределах от 0,8 до 53,5%. Во всех исследованных ЦП доля аномальной пыльцы находилась в пределах 11% у 68–91% изученных образцов. Значения данного параметра в интервале от 6,1 до 16,0% характеризовали 8–12% исследуемой выборки. Самые высокие значения доли аномальной пыльцы (свыше 23%) наблюдались у 8% проанализированной выборки растений ЦП2 и 20% изученных образцов ЦПЗ (в ЦП1 таковых не было представлено). В итоге, значения доли

аномальной пыльцы, превышающие 11%, наблюдались в ЦП1 у 8%, в ЦП2 – у 16%, в ЦПЗ – у 32% от общего количества исследованных растений. Таким образом, в рассматриваемых ЦП не менее 2/3 растений характеризуются морфологически нормальной пыльцой.

Поскольку качество пыльцы имеет огромное значение для полового способа репродукции, который реализуется в популяциях тюльпана Геснера, проведение дальнейших исследований и ежегодного мониторинга будет вносить свой вклад в формирование более полного представления о состоянии популяции данного вида, который находится под охраной во многих российских регионах.

Список литературы

1. *Маевский П. Ф.* Флора средней полосы европейской части России. 11-е изд. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2014. 635 с.
2. *Худякова Л. П., Давиденко О. Н.* Тюльпан Геснера – *Tulipa gesneriana* L. // Красная книга Саратовской области : Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов : Изд-во Торг.-пром. палаты Саратов обл., 2006. С. 81.
3. *Боктаева А. П., Атуева Д. Н., Уланова Я. М.* Ценопопуляция тюльпана Геснера на участке дерновиннозлаковой степи, перспективном для создания ООПТ // Флора, растительность и растительные ресурсы Забайкалья и сопредельных территорий. Чита : Изд-во Забайкал. гос. ун-та, 2013. С. 90–93.
4. *Лыу Т. Н., Бадаев Р. В., Обгенова Д. А., Лиджева Н. Ц.* Изменчивость признаков растений *Tulipa gesneriana* в ценопопуляции, полиморфной по окраске цветков // Вестн. Калмыц. ун-та. 2013. № 1 (17). С. 39–43.
5. *Максимова Н. В., Калмыкова О. Г.* Об эколого-ценологических особенностях местообитаний *Tulipa gesneriana* L. в Урало-Илекском междуречье // Вопросы степеведения. Оренбург, 2013. № 10. С. 54–58.
6. *Давиденко О. Н., Невский С. А.* Материалы к третьему изданию Красной книги Саратовской области // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2013. Т. 13, вып. 2. С. 40–49.
7. *Давиденко О. Н.* Характеристика ценопопуляций некоторых охраняемых видов растений Саратовской области // Новая наука : стратегии и векторы развития. 2016. № 1–3 (58). С. 4–6.
8. *Кашин А. С., Крицкая Т. А., Петрова Н. А., Шилова И. В.* Тюльпан Геснера в Саратовской области и на прилегающей территории : распространение, разнообразие, состояние популяций. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2016. 100 с.
9. *Кашин А. С., Петрова Н. А., Шилова И. В.* Структура морфологической изменчивости и виталитета в популяциях *Tulipa gesneriana* L. Нижнего Поволжья и



- прилегающих территорий // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 1. С. 103–110.
10. Волков Ю. В. Урочище «Иваново поле» // Особо охраняемые природные территории Саратовской области: национальный парк, природные микрозаповедники, памятники природы, дендрарии, ботанический сад, особо охраняемые геологические объекты / Ком. охраны окружающей среды и природопользования Саратов. обл.; науч. ред. В. З. Макаров. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2008. С. 256, 257.
11. Еленевский А. Г., Буланый Ю. И., Радыгина В. И. Конспект флоры Саратовской области. Саратов: ИЦ «Наука», 2008. 232 с.
12. Беляченко Ю. А., Беляченко А. А., Серова Л. А. Полиморфизм тюльпана Геснера на территории урочища «Иваново поле» // Науч. тр. Нац. парка «Хвалынский»: сб. науч. ст. Вып. 3. Саратов; Хвалынский: ООО ИЦ «Наука», 2011. С. 68–73.
13. Беляченко Ю. А., Беляченко А. А., Серова Л. А. Краткая характеристика ценопопуляций тюльпана Геснера на территории урочища «Иваново поле» Федоровского района Саратовской области // Экологические проблемы субъектов экономики: сб. материалов VI междунар. науч.-практ. конф. Пенза: Изд-во Пенз. гос. техн. ун-та, 2016. С. 81–85.
14. Беляченко Ю. А., Беляченко А. А. К вопросу о проблеме разработки классификации типов окраски цветка в полиморфных ценопопуляциях тюльпана Геснера на территории урочища «Иваново поле» // Науч. тр. Нац. парка «Хвалынский»: сб. науч. ст. Вып. 8. Особо охраняемые природные территории: прошлое, настоящее, будущее: материалы III Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Саратов; Хвалынский: Амирит, 2016. С. 50–55.
15. Бондарцев А. С. Шкала цветов (пособие для биологов при научных и научно-прикладных исследованиях). М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1954. 12 с.

Pollen Grain Size Polymorphism in Late Tulip (*Tulipa gesneriana* L., 1753) Cenopopulations within the Territory of “Ivanovo Field” Natural Boundary

Yu. A. Belyachenko, A. A. Belyachenko

Yuliya A. Belyachenko, ORCID 0000-0002-7847-8878, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, juliabelyachenko@mail.ru

Andrey A. Belyachenko, ORCID 0000-0001-9005-945X, Saratov State Technical University of Saratov, 77, Politechnicheskaya Str., Saratov, 410054, Russia, belyachenkoaa@mail.ru

One of the large populations of the late tulip (*Tulipa gesneriana* L., 1753) grows in Fedorovsky district of the Saratov region on the territory of the regional “Ivanovo field” natural boundary where it is presented by three cenopopulations. The work is aimed at studying of mature pollen morphology of the given cenopopulation plants characterised by various variants of flower parts coloration. We analysed the dimension and other morphological features of the pollen fixed in 2012 when rich diversity of floral envelope coloration was registered in the research area. The abnormal pollen grains rate, morphologically differing from the normal filled two-cellular pollen is estimated. The method of one-factorial dispersive analysis reveals significant individual distinctions between plants on the pollen grains dimension. Thus, researched cenopopulations are polymorphic on the given trait.

Key words: *Tulipa gesneriana*, cenopopulation, specially protected natural reservations, “Ivanovo field” natural boundary, polymorphism, pollen.

Образец для цитирования:

Беляченко Ю. А., Беляченко А. А. Полиморфизм по размеру пыльцевых зерен в ценопопуляциях тюльпана Геснера (*Tulipa gesneriana* L., 1753) на территории урочища «Иваново поле» // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 432–437. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-432-437.

Cite this article as:

Belyachenko Yu. A., Belyachenko A. A. Pollen Grain Size Polymorphism in Late Tulip (*Tulipa gesneriana* L., 1753) Cenopopulations within the Territory of “Ivanovo Field” Natural Boundary. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 432–437 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-432-437.



УДК 574.38

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИЗЫМ ГОЛУБЕМ (*COLUMBA LIVIA* GMELIN, 1789) ЧЕРДАЧНЫХ ПОМЕЩЕНИЙ РАЗНЫХ КОНСТРУКЦИЙ



А. Е. Кухта, С. С. Москвитин, Н. П. Большакова, Т. В. Чапкина

Кухта Артём Евгеньевич, научный сотрудник лаборатории биологического разнообразия, Национальный исследовательский Томский государственный университет. E-mail: artkuh@mail.tomsknet.ru

Москвитин Сергей Степанович, директор зоологического музея, Национальный исследовательский Томский государственный университет. E-mail: artkuh@mail.tomsknet.ru

Большакова Наталия Павловна, научный сотрудник лаборатории биологического разнообразия, Национальный исследовательский Томский государственный университет. E-mail: artkuh@mail.tomsknet.ru

Чапкина Тамара Викторовна, магистр, Балтийский Федеральный Университет имени Иммануила Канта (Калининград). E-mail: artkuh@mail.tomsknet.ru

В исследовании представлены данные по интенсивности использования сизым голубем (*Columba livia* Gmelin, 1789) чердачных помещений разных конструкций. Актуальность исследования обусловлена необходимостью защиты некоторых техногенных объектов (памятники, зернохранилища, аэропорты) от птиц, в частности от сизого голубя, который формирует многочисленные стаи вблизи мест проживания. Особенно актуальна проблема птицепопасности для аэропортов, где голубь является одной из самых самолётоопасных птиц. Изучение реакции голубя на условия обитания позволит контролировать численность колоний этих птиц на техногенных объектах. Проанализирована встречаемость 1478 птиц, обследовано 83 чердачных помещения, оценены их замусоренность и температурный режим в зимний период. По результатам исследования выявлено, что размеры группировки сизого голубя находятся в прямо пропорциональной зависимости от открытых слуховых окон, в то же время открытые слуховые окна в зимний период могут являться причиной гибели птиц от мороза. Сизый голубь предпочитает проживать на чердаках, имеющих деревянный каркас, который активно используется как присады. Замусоренность чердака, а также наличие подстилки теплоизолирующего материала играют важную роль, обеспечивая голубям укрытия для гнездования. Анализ 257 голубей, погибших на чердаках, позволяет сделать вывод, что до 30% погибших имели признаки заболеваний, 64% погибли в зимний период от переохлаждения, 6% в результате нападения хищных птиц, охотящихся внутри чердаков. По результатам исследования установлено, что низкие чердаки без деревянного каркаса практически не представляют интереса для голубя (10,1 % встреч). Наиболее привлекательные для голубя высокие двускатные крыши с деревянным каркасом. Выявлена зависимость между численностью колонии голубя и количеством открытых слуховых окон ($R_s=0,59$; $p<0,05$). Установлено, что на чердаках, не имеющих подстилки, голубь не гнездится. Выявленные факторы можно использовать для управления размерами колонии голубя.

Ключевые слова: птицы в техносреде, птицепопасность, защита от птиц, авиационная орнитология, сизый голубь, чердаки.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-438-445

Введение

Синантропные виды птиц характеризуются, как правило, высокой численностью при относительно низкой пугливости в первую очередь к элементам техносреды, где они проживают. Эти особенности обуславливают ряд проблем, связанных с пребыванием синантропных видов на техногенных территориях. Наиболее распространённым является сизый голубь (*Columba livia* Gmelin, 1789), успешно освоившийся в техносреде, найдя здесь все необходимые условия для гнездования, кормодобывания и проживания в целом. С одной стороны, постоянное пребывание голубей в техносреде благоприятно влияет на социальный фон населения, позволяя жителям населённых пунктов приобщаться к животному миру, подкармливая птиц, наблюдая за ними, что в целом благоприятствует развитию экологического сознания [1]. С другой стороны, крупные скопления синантропных видов птиц в техносреде могут быть крайне нежелательны, так, например, стаи голубей способствуют загрязнению помётом памятников, кровельных покрытий, способствуют усугублению эпидемиологической и санитарной обстановки на элеваторах, сельскохозяйственных фермах, зерноперерабатывающих предприятиях [2, 3]. Неблагоприятно как для птиц, так и для человека пребывание сизого голубя на территориях, где происходит транспортное движение. В силу низкой реакции на испуг сизый голубь часто становится жертвой столкновений с автотранспортными средствами [4–6]. Наиболее опасно пребывание голубей вблизи аэропортов, где согласно статистике на долю воздушных инцидентов, связанных с голубями, приходится свыше 20% зарегистрированных случаев [7], столкновение самолёта с голубем может закончиться катастрофой [8]. Очевидно, что численность сизого голубя, особенно на некоторых территориях, нуждается в регулировании [9–13]. Исследования показывают [14], что физическое уничтожение птиц



малоэффективно в связи с возникновением приспособительных поведенческих реакций птиц. Очевидно, что в этом случае на первый план выходят «средовые» аспекты влияния на сизого голубя в техносреде. Возможность образования колонии сизого голубя определяется в первую очередь наличием мест, обеспечивающих птиц укрытием и местами гнездования, в техносреде. Подобными объектами являются чердачные помещения [15–19].

Целью данного исследования является оценка влияния параметров чердачных помещений на успешность проживания колонии сизого голубя.

Актуальность исследования связана с выполнением работ по обеспечению орнитологической безопасности техногенных объектов, в частности, аэропорта «Томск». Изучение условий проживания сизого голубя и его реакции на их отдельные элементы необходимо для профилактики формирования скоплений этих птиц в техногенных сооружениях, что позволит снизить вероятность столкновения объекта исследований с воздушными судами. Результаты исследования могут быть распространены и на другие объекты, нуждающиеся в защите от сизого голубя.

Материалы и методы

Исследование проводилось в г. Томске в 2010–2016 гг. За этот период были исследованы 83 чердака, где были учтены 1478 сизых голубя, найдены погибшими 257 птиц, проанализированы 417 случаев гнездования голубей.

На чердаках подсчитывали проживающих голубей. Учёты проводились в сумеречное время (при помощи фонарика), когда голуби собирались на чердаке на ночёвку. Подобный способ учёта позволял провести наиболее полный подсчёт проживающих здесь птиц. В гнездовой период оценивалась плотность гнёзд (количество гнездящихся пар на 1 м² площади чердака). Также проводились сбор и подсчёт погибших на чердаках птиц в зимний период, при этом анализировалось количество птиц, их упитанность, поза, наличие физических повреждений, что в совокупности позволяло установить причину гибели [18].

При исследовании чердака внимание уделялось его конструктивным особенностям, оценивались такие параметры, как площадь чердака (кв. м); наличие или отсутствие наклона кровли (скатная или плоская крыша соответственно); высота чердака (м) (от пола до верхней точки чердачного помещения); количество слуховых окон, их размеры, возможность доступа через них на чердак; наличие или отсутствие на чердаке труб горячего водоснабжения (ГВС).

Также оценивалась замусоренность чердака – рассчитывалась визуально в процентах. На каждом чердаке выбирались 3 квадрата 100×100 см: у входа на чердак, в районе слухового окна и в наиболее удалённой от входа зоне. Оценивалась замусоренность каждого из них (доля площади пола, покрытая мусором). Средняя арифметическая, полученная из суммы этих трёх показателей, являлась критерием, отражающим степень замусоренности чердака; температурный режим чердака (температура, наличие/отсутствие верхней разводки отопления на чердаке, количество открытых слуховых окон, продуваемость воздухом) оценивался в снежный период года посредством механического (на биметаллической пластине) термометра. Фиксировалась температура в точке чердака, максимально удалённой от слуховых окон и вентиляционных отверстий. Термометр устанавливался на чердаке в начале его обследования, в конце обследования с него снимались показания, им же измерялась температура на улице в этот день. Наличие/отсутствие сквозняков на чердаке оценивалось в снежный холодный период года (ноябрь–март) посредством электронно-механического анемометра «Smartsensor», показывающего скорость движения воздуха с точностью до 0,1 м/с.

Статистическая обработка материала проводилась с помощью программ Microsoft Excel и Statistica 8.0. Связи птиц с параметрами чердака оценивались посредством ранговой корреляции Спирмена R_s при $p > 0,05$ [20].

Результаты и их обсуждение

По результатам обследования в Томске были выявлены пять основных типов чердаков, различающихся по конструктивным особенностям и характерных для разных типов домов (табл. 1).

Основные связи между характеристиками чердаков и использованием их сизым голубем представлены в табл. 2.

Использование сизым голубем слуховых окон

Открытые слуховые окна используются голубем для проникновения на чердак. Слуховые окна представляют технологические отверстия в кровле для вентиляции и освещения внутреннего пространства и возможности выхода на крышу с целью её обслуживания. Количество слуховых окон колеблется от 2 до 6 и более в зависимости от размеров чердачного помещения и не регламентировано ГОСТом. Открытое слуховое окно имеет площадь от 0,8 м² и более, в то время как для проникновения голубя внутрь чердака достаточно отверстия



Таблица 1

Основные виды чердаков в г. Томске

Признак	Деревянные дома 2–4-этажные	Панельные 5-этажные дома	Кирпичные 5-этажные дома	Панельные дома 9-этажные и выше	Кирпичные дома 9-этажные и выше
Размеры слуховых окон, см	от 50×80	50×70	от 60×80	25×35	–
Деревянный каркас чердака	+	–	+	–	–
Трубы ГВС	+/-	–	+/-	–	+
Высота чердачного помещения, м	2,5–3,5	1,2	2,5–3,5	1,5	1,8
Крыша плоская/скатная	Скатная	Плоская	Скатная	Плоская	Плоская
Замусоренность	+	–	+	–	–

Таблица 2

Связь характеристик чердаков зданий г. Томска с использованием их птицами

Характеристика чердака	Признак		
	Пребывание голубя (особей/чердак)	Гнездование голубя (особей/чердак)	Количество гнёзд голубя шт./кв.м
Наличие открытых слуховых окон (n=58)	0,59	0,59	0,53
Скатная крыша (n=58)	0,49	0,48	0,49
Плоская крыша (n=25)	-0,49	-0,48	-0,49
Внутренний деревянный каркас (n=58)	0,49	0,48	0,49
Наличие труб ГВС (n=43)	0,09	0,15	0,20
Отсутствие подстилки (n=6)	-0,30	-0,30	-0,30
Замусоренность, % (n=78)	0,92	0,93	0,56

размерами 0,5 м². В некоторых домах слуховые окна закрыты специальными решётками, которые служат для предотвращения доступа птиц. На таких чердаках голуби не встречались. Но при отсутствии решётки или при открытом слуховом окне голуби заселяют чердак. Анализ выборки 30 пятиэтажных кирпичных домов

с чердаками схожего типа примерно одной площади, но с разным количеством открытых слуховых окон показал, что если открыто одно слуховое окно из нескольких – группировка голубей, проживающих на чердаке, минимальная и возрастает с увеличением количества открытых слуховых окон (рис. 1).

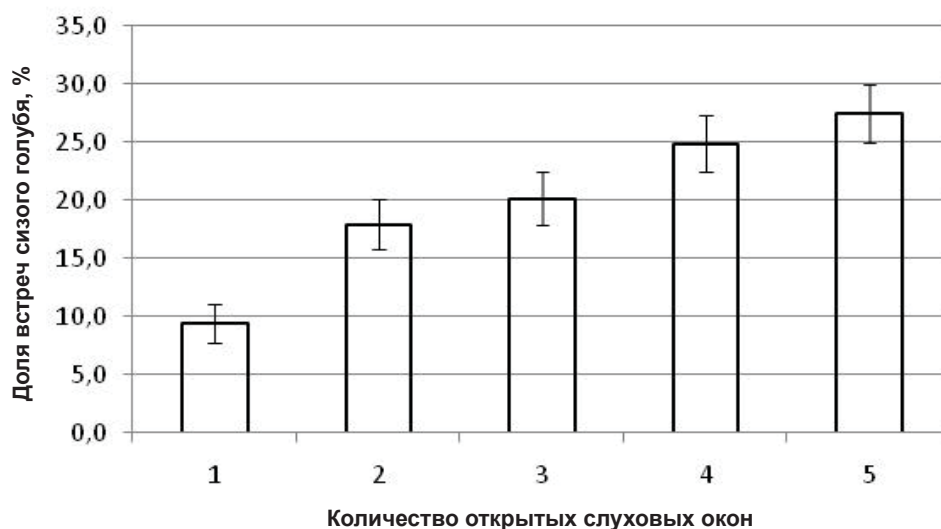


Рис. 1. Зависимость встречаемости сизого голубя на чердаках от количества открытых слуховых окон



Помимо слуховых окон на чердаках могут быть и вентиляционные отверстия в виде небольших щелей в кирпичной кладке или панелях по периметру чердака. Большинство кирпичных 9-этажных домов со скатными крышами не имеют слуховых окон, для них характерны небольшие вентиляционные отверстия, размерами 12×6,5 см, не позволяющими голубю пробраться на чердак. Встречаются скатные чердаки, в которых при наличии слуховых окон имеются вентиляционные отверстия, достаточно подходящие для голубей (24×13 см). Также крупные отверстия (25×35 см) характерны для панельных и некоторых кирпичных домов с плоской крышей.

Важная роль слуховых окон заключается в обеспечении температурного режима чердака зимой. В этот период слуховые окна способствуют снижению температуры на чердаке (рис. 2), что оказывает влияние на увеличение доли погибших птиц в группировке. Замеры скорости движения воздуха на чердаках анемометром показали, что она не превышает 1 м/с. Столь низкая скорость движения воздуха практически незаметна и исключает негативное влияние на птиц сквозняков. Очевидно, что основным фактором гибели птиц на ночёвках является холод. Достоверно показано, что доля погибших голубей увеличивается при уменьшении разницы температур снаружи и внутри чердака (рис. 3).

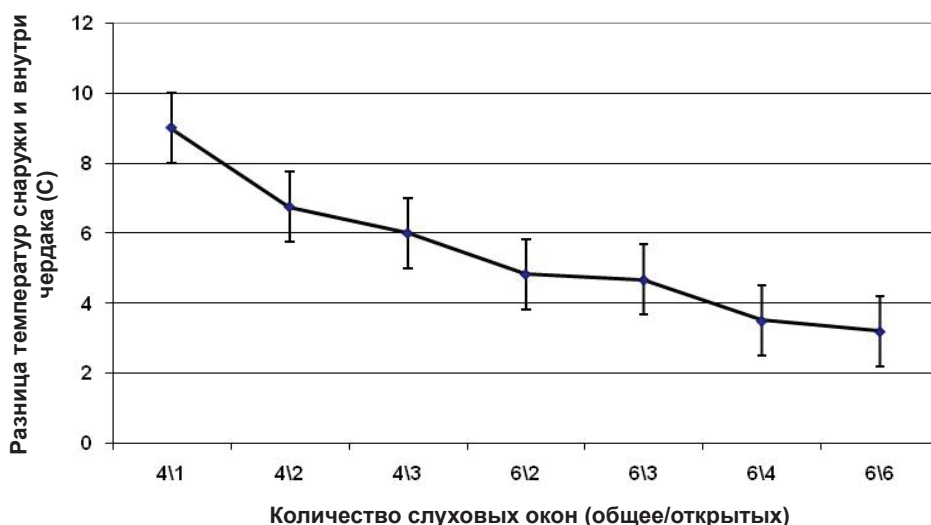


Рис. 2. Влияние количества открытых слуховых окон на разницу температур снаружи и внутри чердака в зимний период

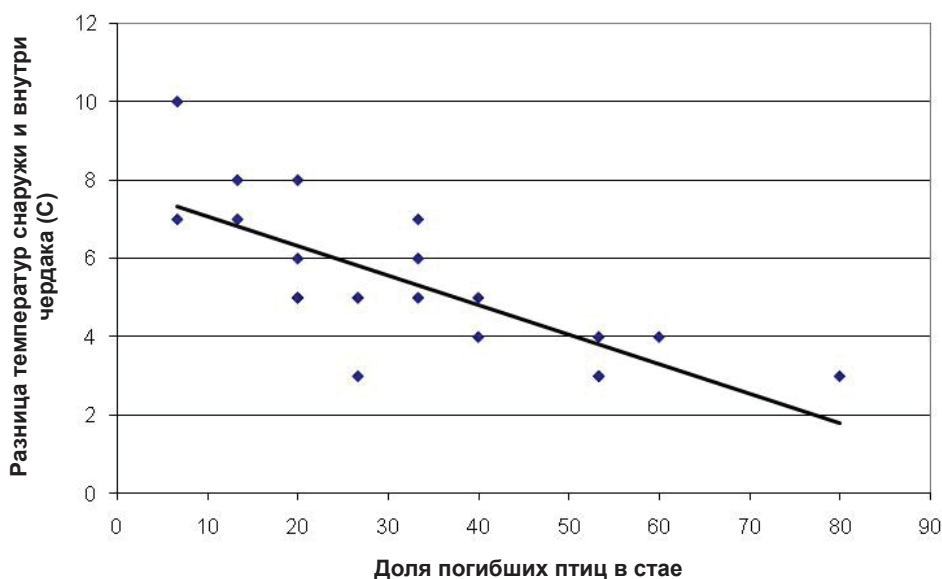


Рис. 3. Зависимость гибели голубей от температурной разницы снаружи и внутри чердака



В целом корреляция между пребыванием группировок сизого голубя и наличием открытых слуховых окон достоверно высока ($R_s=0,59$; $p<0,05$). Встречаемость этих птиц на чердаках при закрытых окнах обусловлена наличием в заградительных решётках прорех или же наличием крупных вентиляционных отверстий, размерами более 10×15 см.

Использование сизым голубем деревянных элементов каркаса чердачного помещения

Чердаки большинства пятиэтажных и высотных панельных домов с плоской крышей имеют небольшую высоту (1,2–1,5 м). Чердаки, образованные скатными крышами, имеют высоту (в самой высокой точке) более 2 м. Из 1478 учтённых на всех чердаках голубей большинство было встречено на высоких (89,9%) (рис. 4).

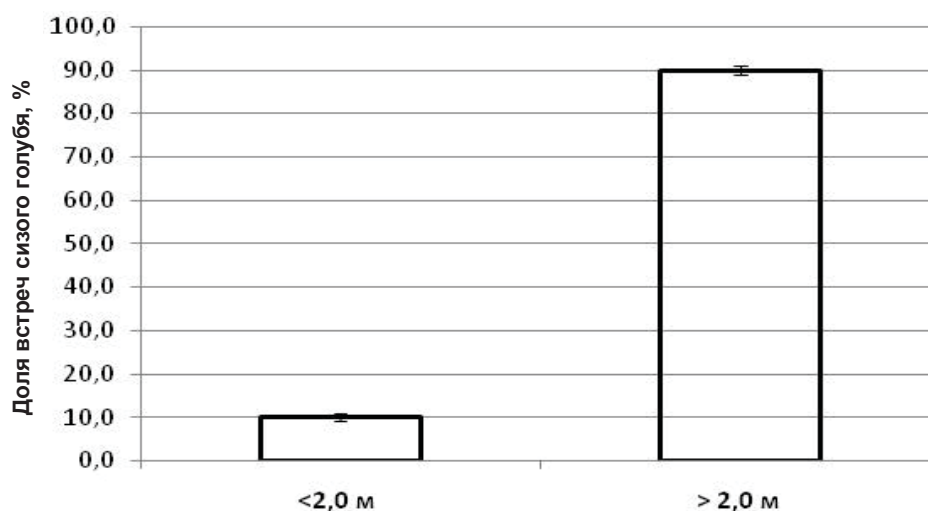


Рис. 4. Зависимость количества голубей от высоты чердака

Каркас чердака состоит из вертикальных и горизонтальных балок. В домах с плоской крышей роль каркаса выполняют монолитные бетонные опоры и плиты, тогда как скатная крыша поддерживается каркасом, состоящим из деревянных брусьев, которые птицы могут использовать для присады. Обычно система каркаса включает в себя 3 яруса присад. Первый ярус – нижняя группа балок пролегает на высоте от 20 см до 1 м. Второй ярус – группа балок на высоте около 1,5–1,8 м. Третий ярус – самые верхние балки могут находиться на высоте свыше 2 м от пола чердака.

Небольшое количество голубей на низких чердаках составляют одиночно гнездящиеся и молодые особи. В зимнее время на низких чердаках наблюдались единичные встречи голубей, но в целом количество птиц на них всегда было значительно ниже, чем на высоких. Такое неравномерное распределение отчасти обусловлено возможностью присад.

Часто верхние и средние ярусы дополняют проводные коммуникационные линии, а трубопроводные системы на чердаке увеличивают количество нижних присад. В основном птицы используют для присады средний и верхний ярусы – 35 и 50% соответственно. Нижний

ярус использовали лишь 18% птиц, к которым относились преимущественно молодые особи. Значимость верхнего яруса присады подтверждается тем, что при беспокойстве голуби обычно не сразу вылетают с чердака, а перемещаются на верхний ярус присад. До 20% птиц при беспокойстве со стороны человека вообще не покидают чердак, придерживаясь зоны верхнего яруса присад. О значимости деревянного каркаса для голубя говорит и высокая достоверность связи ($R_s = 0,49$; $p<0,05$).

Дополнительно оценивалось влияние трубопровода ГВС на пребывание сизого голубя. В связи с климатическими особенностями области все типы домов в г. Томске оборудованы системами отопления. В основном это системы водяного отопления, которые по типу прокладки подающей магистрали делятся на системы с нижней и верхней разводкой. При верхней разводке горячая вода в чердачном помещении направляется в различные стояки, по ним же поступает к нагревательным приборам-радиаторам. При нижней разводке горячая вода из котла поступает в стояки снизу (из подвала). В холодное время года, в сумеречное время, устраиваясь на ночевку, голуби использовали для присады трубопроводы ГВС в два раза чаще, чем летом.



Использование сизым голубем подстилки чердачного помещения

Пол на чердачных помещениях обычно покрыт слоем теплоизолирующего материала – керамзита или шлака, иногда дополненного рубероидом и полиэтиленом. Слои рубероида и плёнки образуют ровную, гладкую поверхность, на которой голуби строят гнёзда редко (8% от всех найденных гнёзд). Большинство гнёзд располагалось в укрытиях, образованных мусором или элементами чердака (80%). Среди обследованных чердаков шесть не имели подстилки, их пол состоял из чистых бетонных плит. На этих чердаках не было встречено ни одного гнезда голубя, хотя птицы там периодически пребывали в небольших количествах. В целом устанавливается отрицательная связь между отсутствием подстилки и пребыванием и гнездованием сизого голубя на чердаках всех типов ($R_s = -0,30; p < 0,05$).

Использование сизым голубем мусора внутри чердака

Часто на чердаках складировать строительные материалы и бытовые отходы, представ-

ленные чаще всего досками, кусками шифера, рубероида, листового кровельного металла, предметами сантехники. В то же время встречаются довольно аккуратные чердаки, количество мусора на которых минимально или даже отсутствует вовсе. Голуби при выборе мест для устройства гнезда предпочитают укрытые пространства, которые в полной мере обеспечивают элементы мусора, логично предположить, что голуби предпочитают замусоренные чердаки, где они могут найти достаточное количество укрытий для гнёзд. Для проверки влияния замусоренности на количество гнёзд были выбраны для сравнения 38 однотипных чердачных помещений со скатными крышами, близкими по размерам, для каждого из них была определена степень замусоренности (%). Затем подсчитывалось количество гнёзд на чердак. Распределение показало, что количество гнёзд было минимальное на «чистых» чердаках и увеличивалось с увеличением степени замусоренности (рис. 5).

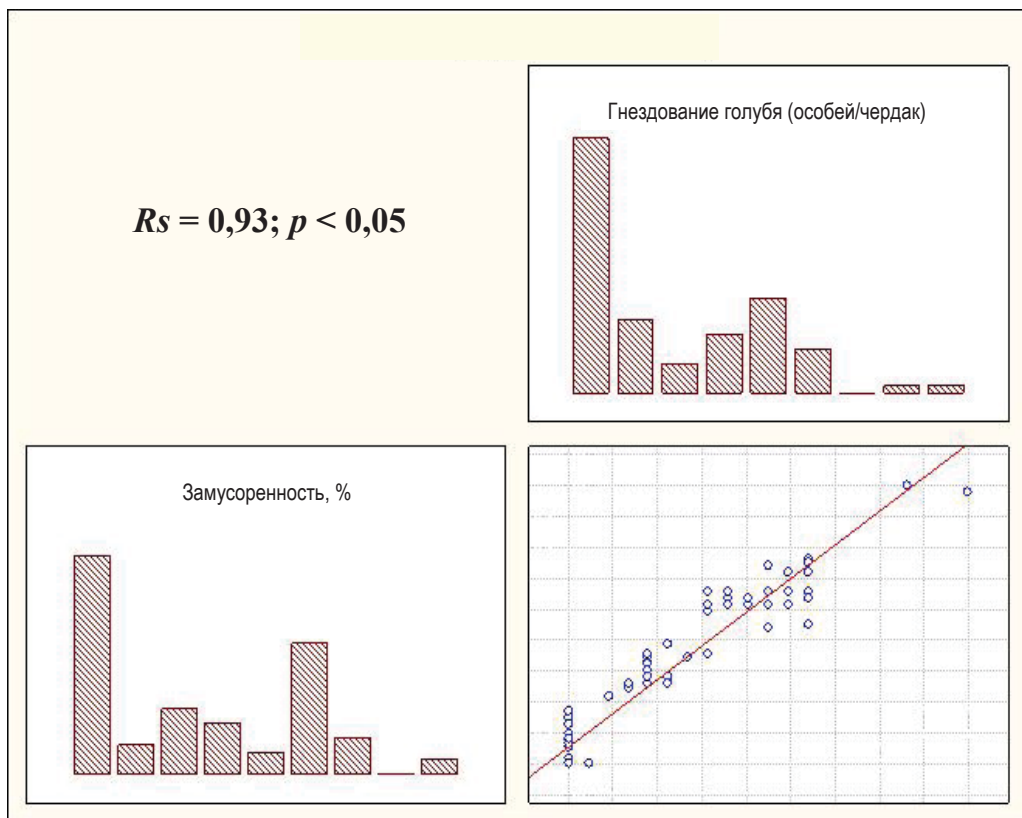


Рис. 5. Зависимость плотности гнездования сизого голубя на чердаках от степени замусоренности

Большинство найденных гнёзд (63%) располагалось таким образом, что были укрыты с боков или сверху, 29% гнёзд были построены возле стен и углов каркаса чердака, 8% гнёзд

были построены на балках каркаса или элементах кирпичной кладки без всякого укрытия. На «низких» чердаках, где мусор отсутствует или представлен единичными элементами, все най-



денные гнёзда находились возле стен и в углах. Зависимость между замусоренностью чердака и пребыванием на нём сизого голубя очень высока ($R_s = 0,92; p < 0,05$), как и влияние этого фактора на количество гнездящихся птиц ($R_s = 0,93; p < 0,05$) и плотность гнездования ($R_s = 0,56; p < 0,05$).

Гибель сизого голубя на чердаках

На всех чердаках, где проживали колонии голубей, были найдены и погибшие птицы разных сроков гибели. Выявлено, что в течение года на чердаке могут погибнуть до 10 взрослых птиц. Наибольшая гибель наблюдается в зимний период. Основной причиной гибели является истощение и сопутствующие общему ослаблению организма заболевания [18]. Интересен факт хищничества на чердаках. На 21,6% ($n = 83$) обследованных чердаков были найдены следы пребывания хищников, в первую очередь птиц: ястреб-перепелятник, тетеревиный, длиннохвостая неясыть. Эти птицы встречались только на тех чердаках, где присутствовали колонии голубей. Наблюдение за такими чердаками показало, что в течение нескольких недель пребывания длиннохвостой неясыти на чердаке численность колонии значительно сокращается, вплоть до единичных птиц. В дальнейшем после исчезновения хищника голуби вновь заселяют чердачное помещение. Присутствие хищных птиц регистрировалось в зимний период, что, очевидно, связано с сезонной кормовой специализацией (случаи охоты хищных птиц на голубей с залётом в голубятню отмечают и среди домашних птиц, (С. С. Москвитин, устное сообщение). В процессе исследования на чердаках найдены останки 3 хищных птиц, что свидетельствует об их гибели в процессе охоты, видимо, в результате удара о деревянную конструкцию чердака.

Выводы

В результате проведённого исследования было выявлено, что не все типы чердаков могут быть заселены сизым голубем. На возможность благополучного пребывания и гнездования этих птиц, помимо таких банальных факторов, как физическая недоступность чердачного помещения (закрытые слуховые окна), влияют конструктивные особенности чердачного помещения (скатность крыши, наличие деревянного каркаса, трубы системы отопления). Ряд параметров (наличие подстилки, замусоренность) можно регулировать, влияя тем самым на привлекательность чердачного помещения для голубей. Выявлены также корреляции между пребыванием колоний голубя и конструктивными особенностями чердаков домов разных типов. Показано, что сизый голубь практически не образует колонии на чердачных помещениях с плоской крышей

(характерны для панельных пятиэтажных и девятиэтажных зданий, некоторых современных кирпичных пятиэтажных зданий и кирпичных высокоэтажных домов), в связи с низкой высотой чердака, отсутствием подходящих присад внутри чердачного помещения и трудностями доступа. Наиболее удобны для образования колонии чердачные помещения скатных крыш (характерны для всех типов деревянных (многоквартирных) домов, пятиэтажных кирпичных домов), имеющие открытые слуховые окна, подстилку из керамзита, высокую замусоренность и верхнюю проводку системы горячего водоснабжения. Образование колонии сизого голубя на таких чердаках можно предотвратить путём закрывания слуховых окон решетчатыми створками с условием постоянного поддержания створок в исправном состоянии (наблюдения показывают, что при нарушении целостности створок голуби всё равно могут заселить чердачное помещение). В зимний период сокращению численности колонии на чердаке могут способствовать хищные птицы, охотящиеся на чердаках, прежде всего длиннохвостая неясыть. Учитывая предпочтения сизого голубя к чердачным помещениям определённого типа, возможно планирование соответствующей застройки на территории, где пребывание этих птиц нежелательно, в частности, на зерноперерабатывающих предприятиях, в аэропортах и пр. Подобная мера способствует снижению численности голубей на территории за счёт отсутствия местных колоний. Распространение подобных мер на окрестные территории позволит сократить количество залётных кормовых стай этих птиц.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 16-34-00751 мол_а), а также в рамках программы повышения конкурентоспособности ТГУ (НИР №8.1.25.2015).

Список литературы

1. Кухта А. Е., Москвитин С. С. Эстетико-функциональные особенности дизайна кормушки для птиц // Современные техника и технологии. Томск, 2011. Т. 3. С. 334–336.
2. Ильичев В. Д., Силаева О. Л., Золотарев С. С. Защита самолетов и других объектов от птиц. М. : Т-во науч. изд. КМК, 2006. 320 с.
3. Звонов Б. М. Орнитологическая безопасность. М. : Онтонпринт, 2010. 66 с.
4. Кухта А. Е., Москвитин С. С. Гибель птиц на автодорогах в окрестностях г. Томска // Вестн. Том. гос. ун-та. Биология. 2012. № 1 (17). С. 85–94.
5. Кухта А. Е. Особенности использования птицами автомобильных дорог в г. Томске и его окрестностях // Принципы экологии. Петрозаводск, 2016. Т. 5, № 3 (19). С. 72.



6. Кухта А. Е., Большакова Н. П. Значение эгоцентрического сознания в обеспечении орнитологической безопасности аэропорта // Науч. журн. Том. ин-та бизнеса Gaudeamus igitur. Современные гуманитарные исследования. 2016. № 3. С. 40–43
7. Колесниченко Ю. М. Орнитологическая безопасность полётов: проблемы и пути их решения // Проблемы безопасности полётов. 2007. № 12. С. 26–34.
8. Самолетам и птицам в небе тесно // WILDLIFE.BY, 2015. URL: <http://www.wildlife.by/node/3437> (дата обращения: 05.08.2015).
9. Горшков П. К. Численность, хозяйственное значение сизых голубей в условиях большого города (на примере г. Казани) // Итоговая науч. конф. : краткое содерж. докл. конф. Казан. гос. ун-та им. В. И. Ульянова-Ленина. Казань : Изд-во Казан. гос. ун-та, 1964. С. 81, 82.
10. Коровин В. А. Птицы в агроландшафтах Урала. Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2004. 504 с.
11. Обухов И. Л. Орнитоз : учеб. пособие. Ульяновск : ГСХА, 1998. 56 с.
12. Аринина А. В., Рахимов И. И. Адаптивные особенности сизого голубя (*Columba livia*) в условиях урбанизированной среды (на примере города Казани). Казань : Новое знание, 2008. 162 с.
13. Аринина А. В. Эпидемиологическое значение сизого голубя в городе Казани // Изучение живых систем в условиях антропогенной трансформации природных ландшафтов Республики Татарстан. Казань : Изд-во Казан. ун-та, 2013. С.13–21.
14. Еналеев И. П. Проявления когнитивных способностей голубеобразных в ответ на репеллентные воздействия // Вестн. РУДН. Сер. Экология и безопасность жизнедеятельности. 2013. № 1. С. 5–10.
15. Ксенц А. С., Москвитин С. С., Ксенц Г. Х. Формирование и динамика состава колоний синатропных *Columbia livia* // Экология. 1987. № 4. С. 60–61.
16. Андреев В. А. Сизый голубь *Columba livia* и другие голубиные в Архангельске и его пригородной зоне // Рус. орнитол. журн. 2005. Т. 14. Экспресс-выпуск 305. С. 1074–1079.
17. Егорова Г. В., Лосева Д. Ю. Особенности экологии птиц антропогенного ландшафта на примере сизого голубя (*Columbia livia*) // Естественные и технические науки. 2008. № 4. С. 76–79.
18. Кухта А. Е., Москвитин С. С., Чапкина Т. В. Смертность сизого голубя (*Columba livia*) зимой в г. Томске // Актуальные вопросы изучения птиц Сибири. Барнаул : Изд-во АГУ, 2010. С. 184–188.
19. Кухта А. Е. Птицы в техносреде юго-востока Западной Сибири : дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2013. 230 с.
20. Лакин Г. Ф. Биометрия : учеб. пособие для биол. спец. вузов. 4-е изд., перераб. и доп. М. : Высш. шк., 1990. 352 с.

The Influence of Roof Space Arrangement on Rock Pigeon Penetration Level (*Columba livia* Gmelin, 1789)

A. E. Kukhta, S. S. Moskvitin,
N. P. Bolshakova, T. V. Chapkina

Artyom E. Kukhta, ORCID 0000-0002-0478-7483, Scientific Research Tomsk State University, Lenina Str., Tomsk, 634050, Russia, artkuh@mail.tomsknet.ru

Sergey S. Moskvitin, Scientific Research Tomsk State University, Lenina Str., Tomsk, 634050, Russia, artkuh@mail.tomsknet.ru

Natalia P. Bolshakova, ORCID 0000-0002-7836-3552, Scientific Research Tomsk State University, Lenina Str., Tomsk, 634050, Russia, artkuh@mail.tomsknet.ru

Tamara V. Chapkina, ORCID 0000-0001-5785-8532, Immanuel Kant Baltic Federal University, University Str., Kaliningrad, 236016 Russia, artkuh@mail.tomsknet.ru

The statistics of correlation of rock pigeon occurrence depending on its construction in the roof rooms were presented (*Columba livia* Gmelin, 1789). The relevance of the study conditioned by the need of some anthropogenic objects protection (monuments, granaries, airports) against birds particularly from rock pigeon which forms numerous flocks near the points of residence. The problem of bird hazard is particularly topical for airports where the pigeon is one of the most dangerous for the aircraft. The research of pigeons' reaction on living environment let us control the number of colonies of these birds on anthropogenic objects. In the course of studies 1478 birds were analyzed, 83 roof rooms were inspected, their impurity content and temperature conditions in winter were evaluated. According to the results of the study it was identified that the size of rock pigeon grouping is directly proportional to the open roof windows while open roof windows in winter can cause bird kill from frost. The rock pigeon prefers to live in lofts with a wooden frame which is actively used as a roost site. The impurity content of the loft as well as the presence of heat-insulating underlay play an important role which provide nesting shelter for pigeons. Analysis up to 257 pigeons who died in lofts allow for the conclusion that up to 30% of lifeless had signs of the disease, 64% died in winter from hypothermia, 6% as a result of the birds of prey attacks which hunt inside the lofts. According to the results of the study it was established that low lofts without a wooden frame are irrelevant for pigeon (10.1% of occurrence). The most attractive for the pigeon are high gable roofs with a wooden frame. The dependence between the number of pigeon colony and the quantity of open roof windows has been revealed ($R_s = 0.59$, $p < 0.05$). It is established that the pigeon does not nest under the leads without underlay. The identified factors can be used to control the size of pigeon colony.

Key words: birds in technosphere, bird hazard, bird guard, aviation ornithology.

Образец для цитирования:

Кухта А. Е., Москвитин С. С., Большакова Н. П., Чапкина Т. В. Использование сизым голубем (*Columba livia* Gmelin, 1789) чердачных помещений разных конструкций // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 438–445. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-438-445.

Cite this article as:

Kukhta A. E., Moskvitin S. S., Bolshakova N. P., Chapkina T. V. The Influence of Roof Space Arrangement on Rock Pigeon Penetration Level (*Columba livia* Gmelin, 1789). *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 438–445 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-438-445.



УДК 616.98: 579. 842. 23

ПРОТОЧНО-ЦИТОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СВЕТОРАССЕЯНИЯ В НЕОДНОРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ МЫШЕЙ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ КАПСУЛЬНЫМ АНТИГЕНОМ Ф1 ЧУМНОГО МИКРОБА



В. А. Кожевников, А. Ф. Курылина, А. Л. Кравцов, Т. Н. Щуковская, С. А. Бугоркова

Кожевников Виталий Александрович, младший научный сотрудник, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов). E-mail: 787868@mail.ru

Курылина Анжела Федоровна, научный сотрудник, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов). E-mail: rusrap1@microbe.ru

Кравцов Александр Леонидович, ведущий научный сотрудник, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов). E-mail: rusrap1@microbe.ru

Щуковская Татьяна Николаевна, главный научный сотрудник, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов). E-mail: rusrap1@microbe.ru

Бугоркова Светлана Александровна, заведующий отделом иммунологии, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов). E-mail: rusrap1@microbe.ru

Цель исследования – изучить неоднородные популяции лейкоцитов крови и брюшной полости мышей, иммунизированных капсульным антигеном чумного микроба. В работе использовали мышей самцов линии BALB/c. Реакцию клеток иммунофагоцитарной системы оценивали методом проточной цитофлуориметрии, по показателям интенсивности прямого и бокового светорассеяния, коррелирующим соответственно с изменениями клеточного объема и внутриклеточной гранулярности. Информация, полученная в ходе работы, свидетельствует об эффективности применения выбранных клеточных показателей при оценке уровня реактивности организма на противочумную вакцинацию.

Ключевые слова: противочумная вакцинация, проточная цитометрия, реактивность организма.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-446-451

Проточная цитометрия, как уникальная технология быстрого измерения различных параметров в неоднородных клеточных популяциях появилась в результате длительного естественного развития традиционных гистохимических и цитохимических методов анализа [1]. В современных проточных анализаторах автоматическую дифференцировку изучаемых объектов осуществляют по интенсивности флуоресценции, а также дополнительно по двум морфологическим параметрам путём измерения интенсивностей малоуглового и бокового светорассеяния для

каждой из десятков тысяч отдельных клеток в потоке [2]. Рассеяние света под малыми углами ($1-10^\circ$) измеряется для определения клеточного объёма (размера) [1, 2], связанного строгой прямой корреляционной зависимостью с таким важнейшим функциональным параметром, как уровень продукции клеткой суммарного белка [3]. Боковое рассеяние света (под углом 90°) несёт информацию о внутриклеточной структуре клетки – о степени гранулярности её цитоплазмы, а также о соотношении площадей ядра и цитоплазмы [2,4].

Параметры светорассеяния представляют особую ценность при экспресс-анализе лейкоцитов в микрообъёмах цельной крови, поскольку суммарная неоднородная лейкоцитарная популяция разделяется по степени гранулярности на три типа клеток (лимфоциты, моноциты и гранулоциты), а это открывает уникальную возможность для мониторинга за изменениями в крови относительного содержания лимфоцитов и клеток врождённого иммунитета (фагоцитов) [5, 6]. С другой стороны, оценка параметров светорассеяния – это наиболее простой и быстрый способ документации клеточной гибели, используемый в случаях предварительной, ориентировочной характеристики клеточного повреждения под влиянием того или иного реактогенного воздействия [2].

Структурно-функциональные изменения в клетках иммунной системы происходят при формировании в вакцинированном организме приобретённого противочумного иммунитета и всё чаще оцениваются в последние годы методом импульсной проточной цитометрии [7–9]. Однако показатели светорассеяния лейкоцитов в крови и других биологических жидкостях организма не изучались в процессе иммуногенеза при чуме современными автоматизированными методами цитологического анализа.

Целью настоящей работы явилось исследование показателей светорассеяния в неоднородных популяциях лейкоцитов крови и брюшной полости мышей, иммунизированных капсульным антигеном чумного микроба.



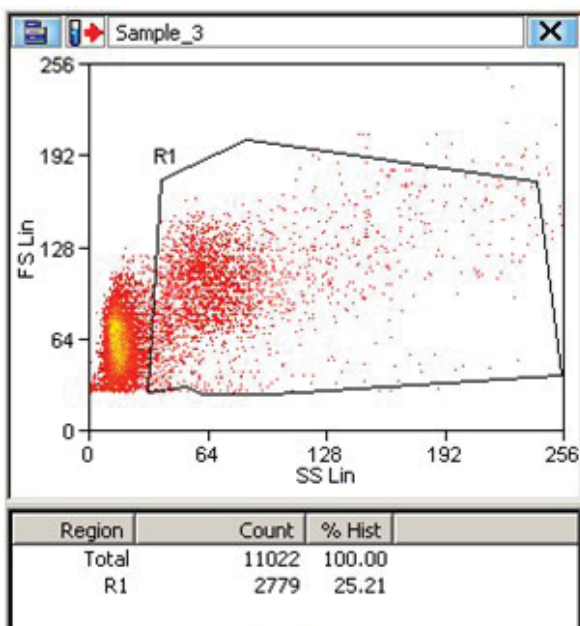
Материалы и методы

В работе использовали мышей самцов линии BALB/c весом 20–25 г, разделенных на 5 групп. Первую и вторую группы подкожно иммунизировали капсульным антигеном (Ф1) чумного микроба в дозах 50 мкг и 100 мкг в 0,2 мл забуференного физиологического раствора pH 7,4 (ЗФР). Третья группа мышей иммунизировалась дозой 50 мкг Ф1 вместе с полным адъювантом Фрейнда (ПАФ) [10]. В четвертой группе так же использовалось 50 мкг Ф1, но совместно с полиоксидонием (ПО), являющимся модулятором функциональной активности клеток врождённого иммунитета [11]. Пятая группа являлась контрольной, ей вводился только ЗФР.

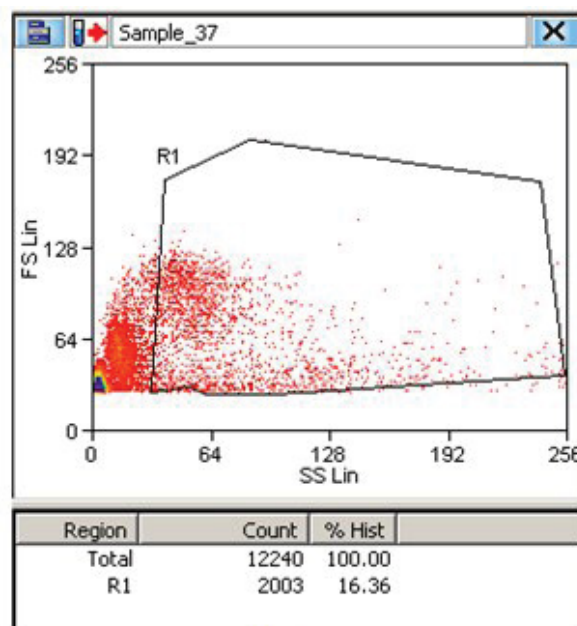
Реакцию клеток иммунофагоцитарной системы оценивали по исследуемым показателям в неоднородных популяциях лейкоцитов крови и перитонеального лаважа животных на 1-е, 3-и и 21-е сутки после иммунизации. Для этого мышей убивали с помощью декапитации, выделяли кровь в пробирки с гепарином, а в брюшную полость вводили по 4 мл стерильного ЗФР для последующего получения взвеси клеток перитонеального лаважа [12, 13]. По 100 мкл из каждого образца крови добавляли к 2 мл лизирующего раство-

ра (EasyLyse Erythrocyte Lysing Reagent фирмы Dako Cytomation, Дания) и выдерживали 15 мин при комнатной температуре до полного лизиса эритроцитов. Присутствующие в плазме крови лейкоциты исследовали на лазерном проточном цитометре CyAn ADP фирмы DakoCytomation (Дания) с использованием единых настроек прибора для всех образцов. Цитометрию клеток перитонеального лаважа проводили в ЗФР без использования процедуры лизиса эритроцитов [6].

Для визуализации, анализа и статистической обработки цитометрических данных применяли программное обеспечение Summit v. 4.3 Built 2445 (Dako). Лейкоциты дифференцировали по двум показателям: по объёму (размеру) и по степени гранулярности цитоплазмы, измеряя от каждой клетки, соответственно, интенсивность малоуглового (FS) и бокового светорассеяния (SS). Результат представляли в виде цитограммы (рис. 1) и двух характерных гистограмм (рис. 2, 3), из которых определяли относительное содержание (в %) лимфоцитов и грануло-содержащих клеток (фагоцитов). Фагоциты с нормальным (исходным) состоянием цитоплазматических гранул учитывали в области R1 контрольной цитограммы (см. рис. 1) [6].



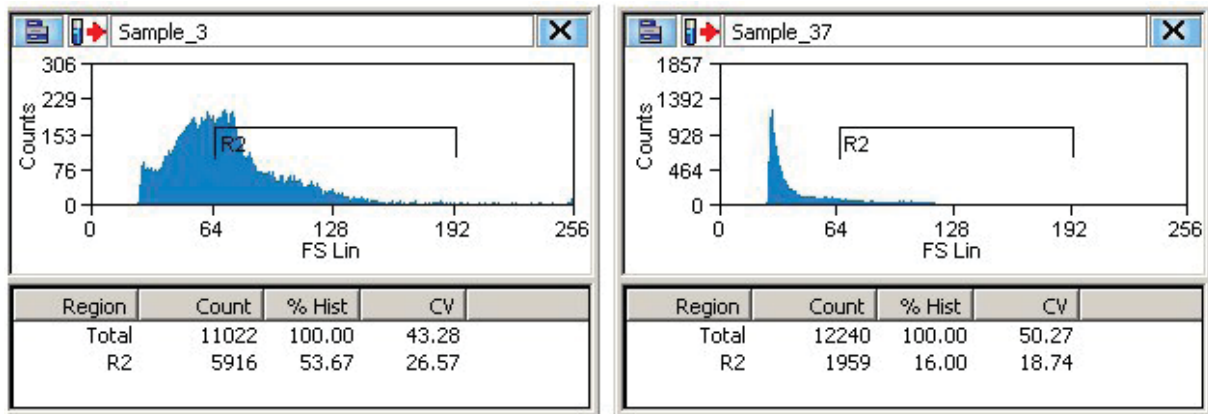
а



б



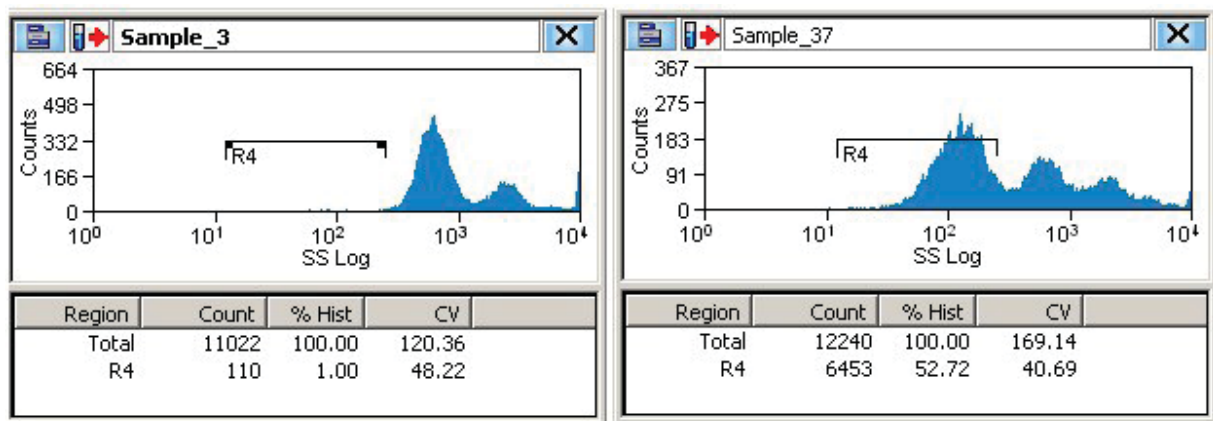
Рис. 1. Цитограммы интенсивности прямого (FS – Front Scatter) и бокового (SS – Side Scatter) светорассеяния отдельных лейкоцитов крови мышей. Результаты измерения представлены в условных единицах (каналах) интенсивности светорассеяния от 0 до 256. На каждой цитограмме область R1 соответствует фагоцитам, которые отличаются от лимфоцитов (клеток вне области R1) по степени гранулярности: а – до иммунизации, R1 – фагоциты с исходной степенью гранулярности цитоплазмы; б – через сутки после иммунизации, R1 – фагоциты с изменённой степенью гранулярности цитоплазмы



a

b

Рис. 2. Гистограммы, отражающие частотные распределения отдельных клеток по интенсивности прямого светорассеяния (FS). По оси абсцисс интенсивность FS от 0 до 256 условных единиц. По оси ординат количество клеток, зарегистрированных на каждую условную единицу. Область R2 соответствует крупным клеткам (Кр.К.) с интенсивностью светорассеяния более 64 условных единиц: а – до иммунизации; б – через сутки после иммунизации



a

b

Рис. 3. Распределение клеток по интенсивности бокового светорассеяния (SS). По оси абсцисс SS в условных единицах интенсивности светорассеяния от 0 до 256. По оси ординат количество клеток, зарегистрированных на каждую условную единицу. В область R4 попадают клетки с измененной внутренней структурой: а – до иммунизации; б – через сутки после иммунизации

До и после иммунизации оценивали также в крови и брюшной полости животных долю крупных клеток (КрК), учитываемых цитометром в области R2 линейной FS гистограммы (см. рис. 2), соответствующей значениям более 64 условных единиц (каналов) интенсивности малоуглового светорассеяния. Степень неоднородности лейкоцитарных популяций по исследуемым параметрам FS и SS рассчитывали путём определения статистических значений коэффициентов вариации (CV).

Для оценки статистической значимости межгрупповых различий использовали *t*-критерий Стьюдента и достоверными считали различия при $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Цитограмма, представленная на рис. 1, наглядно свидетельствует, что метод проточной цитометрии позволяет чётко дифференцировать лимфоциты по двум исследуемым показателям от более крупных гранулодержащих фагоцитов. В крови и брюшной полости интактных мышей доля клеток врождённого иммунитета (фагоцитов) была приблизительно одинаковой (около 30%), что подтверждается литературными данными [6, 13]. Однако через сутки после иммунизации, при двух исследованных дозах антигена, регистрировали снижение в периферической крови относительного количества фагоцитов с исходной степенью гранулярности. Доля крупных лейкоцитов (Кр.К.) через сутки



уменьшалась в крови более чем вдвое, а степень неоднородности суммарной лейкоцитарной популяции в этот срок по исследуемым показателям (CV_{SS} , CV_{FS}) существенно увеличивалась. В циркуляции появлялись клетки с характерными внутренними структурными изменениями (особая клеточная популяция по показателю SS), в норме отсутствующие в периферической крови контрольных лабораторных животных (табл. 1, 2).

Описанные выше изменения клеточного состава наглядно представлены в виде соответствующих гистограмм на рис. 3. Клетки с измененной внутренней структурой располагались в области R4 (см. рис. 3) опытной SS гистограммы. А сравнение областей R2 на опытной (см. рис. 2, б) и контрольной (см. рис. 2, а.) FS гистограммах иллюстрирует характерное снижение в крови доли более крупных клеточных элементов после иммунизации.

Таблица 1

Показатели светорассеяния лейкоцитов крови мышей в зависимости от срока иммуногенеза, дозы капсульного антигена и адьювантов

Препарат/доза	Сутки	Особая популяция SS,%	Фагоциты, %	Кр. К. %	CV SS, %	CV FS, %
Ф1 50 мкг	1	42,4 ± 3,8	18,8 ± 1,3	22,5 ± 0,6	160,2 ± 3,6	54,8 ± 1,6
	3	4,3 ± 0,9	45,6 ± 2,7	60,8 ± 2,0	109,7 ± 4,3	35,7 ± 0,5
	21	1,7 ± 0,1	37,7 ± 4,5	53,0 ± 3,6	95,2 ± 1,4	50,5 ± 1,2
Ф1 100 мкг	1	37,5 ± 2,4	22,4 ± 1,6	20,6 ± 1,7	169,1 ± 2,7	52,0 ± 1,3
	3	4,5 ± 1,1	46,1 ± 3,8	56,2 ± 0,3	113,8 ± 1,4	36,4 ± 0,8
	21	3,5 ± 1,5	44,1 ± 1,7	49,6 ± 5,3	80,0 ± 1,8	46,3 ± 1,1
Ф1 50 мкг + ПО	1	10,4 ± 1,3	24,6 ± 3,6	43,8 ± 2,8	133,8 ± 4,6	40,6 ± 3,0
	3	2,2 ± 0,2	35,3 ± 2,9	60,1 ± 2,6	106,4 ± 2,2	35,0 ± 1,1
	21	8,9 ± 2,0	26,8 ± 1,5	46,4 ± 2,5	102,1 ± 2,0	42,2 ± 0,6
Ф1 50 мкг + ПАФ	1	37,7 ± 8,3	22,7 ± 4,5	19,0 ± 0,4	184,0 ± 12,8	43,6 ± 2,0
	3	18,6 ± 3,4	35,2 ± 0,8	47,7 ± 4,1	122,0 ± 6,2	41,5 ± 1,9
	21	3,4 ± 0,6	44,2 ± 2,6	45,7 ± 4,6	92,2 ± 5,8	46,0 ± 3,0
Контроль	–	1,1 ± 0,2	33,7 ± 1,9	53,9 ± 0,5	110,7 ± 3,9	39,4 ± 0,8

Таблица 2

Показатели светорассеяния клеток брюшной полости мышей в различные сроки иммуногенеза, влияние дозы капсульного антигена и адьювантов

Препарат/доза	Сутки	Особая популяция SS,%	Фагоциты, %	Кр. К. %	CV SS, %	CV FS, %
Ф1 50 мкг	1	1,8 ± 0,2	33,3 ± 3,4	74,2 ± 1,3	121,5 ± 6,4	31,3 ± 0,6
	3	0,56 ± 0,1	24,6 ± 1,6	86,3 ± 0,4	93,8 ± 2,1	26,5 ± 0,7
	21	0,34 ± 0,07	28,1 ± 1,0	82,3 ± 0,5	102,5 ± 2,2	28,3 ± 0,7
Ф1 100 мкг	1	1,6 ± 0,3	21,1 ± 1,0	70,1 ± 1,7	137,9 ± 4,3	32,7 ± 0,7
	3	0,9 ± 0,08	17,6 ± 0,5	82,1 ± 0,4	95,7 ± 1,1	26,2 ± 0,4
	21	0,5 ± 0,05	28,3 ± 2,1	77,8 ± 0,3	111,4 ± 2,2	28,8 ± 1,4
Ф1 50 мкг + ПО	1	4,8 ± 2,0	23,2 ± 1,9	54,4 ± 3,0	122,1 ± 3,0	35,5 ± 1,8
	3	0,8 ± 0,3	23,8 ± 0,6	82,2 ± 1,6	94,6 ± 3,2	27,1 ± 0,7
	21	0,7 ± 0,2	26,2 ± 2,3	74,9 ± 2,3	107,2 ± 0,8	31,1 ± 1,1
Ф1 50 мкг + ПАФ	1	1,7 ± 0,3	20,9 ± 2,4	71,3 ± 0,2	110,3 ± 1,5	32,4 ± 0,9
	3	0,3 ± 0,06	22,6 ± 0,9	83,4 ± 0,7	102,5 ± 4,9	27,6 ± 0,3
	21	0,8 ± 0,2	20,2 ± 1,1	78,1 ± 1,6	122,6 ± 6,0	29,3 ± 0,3
Контроль	–	0,13 ± 0,03	25,4 ± 5,4	63,6 ± 3,6	88,3 ± 2,9	38,2 ± 2,0



Известно, что капсульный антиген чумного микроба после подкожного введения его мышам в дозе 100 мкг запускает в организме животных этого вида процесс формирования приобретённого противочумного иммунитета. При этом в максимальном количестве антиген поступает в кровь из места введения на 1-е сутки иммуногенеза, а к 3-м суткам уже полностью выводится из организма и серологическими методами в крови не детектируется. Видимо, поэтому мы регистрировали по показателям светорассеяния наиболее выраженную клеточную реакцию в ответ на Ф1 чумного микроба только в крови и только на 1-е сутки. Особенность реакции клеток брюшной полости заключалась в том, что в исследуемые сроки капсульный антиген не изменял относительное содержание фагоцитов в перитонеальном лаваже. Доля КрК достоверно увеличивалась, начиная с 3-х суток иммуногенеза (см. табл. 1 и табл. 2), не за счёт миграции в брюшную полость клеток врождённого иммунитета (нейтрофилов и макрофагов), а за счёт активированных лимфоцитов, которые, как известно, увеличиваются в размерах и, как следствие, приобретают способность к более интенсивному прямому светорассеянию, когда начинают синтезировать повышенное количество суммарного белка (циткинов, антител и др.) на клетку [3].

По литературным данным, на 1-е сутки иммуногенеза в периферической крови мышей, привитых препаратами Ф1 чумного микроба, в наибольшем количестве появляются лейкоциты с изменённым состоянием ядерного хроматина и цитоплазматических гранул [7, 8]. Эти внутриклеточные структурные изменения не могли не проявиться в сдвигах показателей интенсивности светорассеяния, в снижении в крови доли фагоцитов, обладающих исходной степенью гранулярности. В особую популяцию клеток с пониженными значениями показателя SS, вероятнее всего, попадали после иммунизации фагоциты с деконденсированным ядерным хроматином [13] и пониженным в результате секреторной дегрануляции содержанием цитоплазматических гранул [4]. С другой стороны, хорошо известно, что при некрозе и на поздних этапах апоптоза, когда лейкоциты распадаются на апоптозные тельца, метод импульсной проточной цитометрии позволяет регистрировать при анализе больших статистических выборок отдельных клеток резкое снижение показателей прямого и бокового светорассеяния [2]. Поэтому не исключено, что в особую популяцию попадали также активированные лимфоциты и фагоциты, подвергающиеся после взаимодействия с антигеном апоптозу и по-

следующему пост-апоптотическому аутолизису (вторичному некрозу).

Скорость поступления капсульного антигена в циркуляцию мы изменяли путем введения его в организм мышей совместно с ПАФ. В данном случае иммуноген поступает в кровь постепенно и выводится из организма в течение 3–4 суток, что, как известно, продлевает и усиливает гуморальный иммунный ответ на введение Ф1 [10]. Результаты наших исследований подтверждают, что использование ПАФ изменяет реактивность организма на клеточном уровне, продлевая до 3 суток и усиливая реакцию лейкоцитов крови по исследуемым параметрам светорассеяния. Совсем иную клеточную реакцию отмечали при использовании адъюванта нового поколения (полиоксидония), который, наоборот, снижал реактогенность используемой дозы капсульного антигена чумного микроба по исследуемым клеточным показателям (см. табл. 1). Это можно объяснить известной способностью полиоксидония модулировать функциональную активность фагоцитов [11] и, как следствие, ослаблять повреждающий эффект бактериальных антигенов на клетки врождённого иммунитета организма хозяина в условиях *in vivo* [6].

Таким образом, полученная в работе информация свидетельствует, что на клеточном уровне реакцию организма в ответ на противочумную вакцинацию можно эффективно оценивать методом проточной цитометрии по показателям интенсивности прямого и бокового светорассеяния. Применение такого подхода при исследовании клеток крови и других биологических жидкостей не требует длительной пробоподготовки, использования дорогостоящих флуоресцирующих красителей или меченых красителями фенотипических маркеров. Экономически это выгодно, когда требуется быстрая, предварительная сравнительная оценка нескольких препаратов, различающихся по реактогенности и иммуногенности. Используя показатели светорассеяния, можно повысить эффективность определения оптимальных сроков наиболее интенсивной ответной клеточной реакции на исследуемые антигены для дальнейшего детального изучения молекулярных механизмов этой реакции с использованием дорогостоящих поверхностных или внутриклеточных флуоресцирующих маркеров.

Список литературы

1. Muirhead K. A., Horan P. K., Poste G. Flow cytometry: present and future // *Biotechnology*. 1985. Vol. 3, № 4. P. 337–3356.



2. Вопросы современной проточной цитометрии. Клиническое применение / под ред. С. В. Хайдукова, А. В. Зурочки. Челябинск : Бумажный двор, 2008. 195 с.
3. Iritani B. M., Eisenman R. N. C-Myc enhances protein synthesis and cell size during B lymphocyte development // PNAS. 1999. Vol. 96, № 23. P. 13180–13185.
4. Sklar L. A., Oades Z. G., Finnay D. A. Neutrophil degranulation detected by right angle light scattering : spectroscopic methods suitable for simultaneous analysis of degranulation or shape change, elastase release, and cell aggregation // J. Immunology. 1984. Vol. 133, № 3. P. 1483–1487.
5. Исследование системы крови в клинической практике / под ред. Г. И. Козинца, В. А. Макарова. М. : Триада-Х, 1997. 480 с.
6. Кравцов А. Л., Клюева С. Н., Бугоркова С. А. Влияние иммуномодуляторов на реактивность клеток иммунной системы при моделировании противотуляремийного вакцинного процесса // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016. Т. 15, № 3 (88). С. 94–101.
7. Кравцов А. Л. Микрофлуориметрическое исследование в потоке гетерогенных популяций бактерий *Yersinia pestis* и клеток иммунной системы инфицированных чумой лабораторных животных : дис. ... д-ра биол. наук. Саратов, 1997. 239 с.
8. Киреев М. Н., Кравцов А. Л., Тараненко Т. М., Храменкова Т. А., Клюева С. Н., Гусева Н. П., Шмелькова Т. П. Сравнительная оценка методом проточной цитофлуориметрии степени активации клеток иммунофагоцитарной системы у мышей, иммунизированных различными препаратами капсульного антигена чумного микроба // Проблемы особо опасных инфекций. 2007. № 2 (94). С. 61–64.
9. Фирстова В. В., Бахтеева И. В., Титарева Г. М., Зырина Е. В., Иванов С. А., Киселёва Н. В., Копылов П. Х., Анисимов А. П., Дятлов И. А. Определение экспрессии маркера ранней активации CD69 на лимфоцитах иммунных мышей после стимуляции их антигенами чумного микроба // Проблемы особо опасных инфекций. 2010. № 1 (103). С. 56–59.
10. Леви М. И., Басова Н. Н., Дурихин К. В., Фоменко Г. А., Кравцов Ф. Е., Лившиц М. М. Количественная связь между дозой антигена и длительностью его обнаружения в месте введения при первичной иммунизации // ЖМЭИ. 1972. № 1. С. 42–49.
11. Пинегин Б. В., Некрасов А. В., Хаитов Р. М. Иммуномодулятор полиоксидоний: механизмы действия и аспекты клинического применения // Цитокины и воспаление. 2004. № 3. С. 41–47.
12. Фримель Х. Иммунологические методы. М. : Медицина, 1987. 472 с.
13. Landoni V. I., Chiarella P., Martire-Greco D., Schierloh P., Rooijen N. van, Rearte B., Palermo M. S., Isturiz M. A., Fernandez G. C. Tolerance to lipopolysaccharide promotes an enhanced neutrophil extracellular traps formation leading to a more efficient bacterial clearance in mice // Clin. Exper. Immunol. 2012. Vol. 168. P. 153–63.

Flow Cytometry Investigations Indicators Light Scattering in the Heterogeneous Population Immune System Cells from Mice Immunized with F1 Capsular Antigen, *Yersinia pestis*

V. A. Kozhevnikov, A. F. Kurylina, A. L. Kravtsov, T. N. Shchukovskaya, S. A. Bugorkova

Vitaliy A. Kozhevnikov, ORCID 0000-0001-7267-7027, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, 787868@mail.ru

Anzhela F. Kurylina, ORCID 0000-0001-9639-6764, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru

Alexander L. Kravtsov, ORCID 0000-0002-9016-6578, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru

Tatyana N. Shchukovskaya, ORCID 0000-0001-8995-0894, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru

Svetlana A. Bugorkova, ORCID 0000-0001-7548-4845, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru

Aim – heterogeneous populations of blood leukocytes and abdominal cavity of mice immunized with a capsular antigen of a plague microbe. Male mice of the BALB / c line were used in the work. The reaction of the cells of the immunophagocytic system was assessed by flow cytometry, in terms of the intensity of direct and lateral light scattering, correlating with changes in the cell volume and intracellular granularity. The information obtained in the course of the work testifies to the effectiveness of the application of selected cellular indices when assessing the level of the organism's reactivity to antiplague vaccination.

Key words: antiplague vaccination, flow cytometry, body reactivity.

Образец для цитирования:

Кожевников В. А., Курьлина А. Ф., Кравцов А. Л., Шуковская Т. Н., Бугоркова С. А. Проточно-цитометрическое исследование показателей светорассеяния в неоднородных популяциях клеток иммунной системы мышей, иммунизированных капсульным антигеном Ф1 чумного микроба // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 446–451. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-446-451.

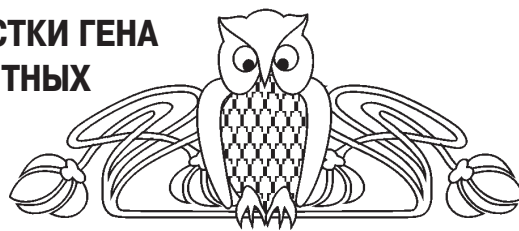
Cite this article as:

Kozhevnikov V. A., Kurylina A. F., Kravtsov A. L., Shchukovskaya T. N., Bugorkova S. A. Flow Cytometry Investigations Indicators Light Scattering in the Heterogeneous Population Immune System Cells from Mice Immunized with F1 Capsular Antigen, *Yersinia pestis*. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 446–451 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-446-451.



УДК 579.64: 579.84

КОНСЕРВАТИВНЫЕ И ВАРИАБЕЛЬНЫЕ УЧАСТКИ ГЕНА МЕТАНОЛДЕГИДРОГЕНАЗЫ У ГАЛОТОЛЕРАНТНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *METHYLOPHAGA*



Д. Ю. Шаравин, А. П. Соломенный

Шаравин Дмитрий Юрьевич, инженер лаборатории водной микробиологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН (Пермь), кандидат биологических наук. E-mail: dima-sharavin@yandex.ru

Соломенный Александр Петрович, старший научный сотрудник лаборатории водной микробиологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН (Пермь), кандидат биологических наук. E-mail: solomen@iegm.ru

В работе изучены консервативные и вариабельные участки в структуре гена *mxaF* и транслированной аминокислотной последовательности у выделенного из микробно-растительной ассоциации галотолерантного метилотрофного изолята М1К, отнесённого к роду *Methylophaga*. В ходе проведённого исследования с использованием метода минимума эволюции обнаружена гетерогенность *mxaF* среди исследованных родов метило- и метанотрофов. Высокая солеустойчивость и зафиксированная способность синтезировать ауксин из L-триптофана делает штамм М1К перспективным для использования в агротехнологии.

Ключевые слова: галотолерантность, метилотрофы, метанотрофы, фитосимбиоз, микроэволюция.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-452-457

Введение

Бактерии, использующие окисленные производные метана (метанол и метиламин) в качестве источников углерода и энергии, играют глобальную роль в круговороте C_1 -соединений [1]. Некоторые из них способны фиксировать молекулярный азот, синтезировать фитогормоны, осмопротекторы и рассматриваются в качестве перспективных объектов биотехнологии. Фитосимбиотические метиловобактерии, колонизируя поверхность и внутренние ткани растений, могут оказывать положительное влияние на рост, развитие и продуктивность культурных растений [1, 2]. Метилотрофные микроорганизмы окисляют метанол до формальдегида при помощи фермента метанолдегидрогеназы (МДГ), который представляет собой тетрамер, состоящий из двух больших и двух малых субъединиц, двух молекул пирролохинолинхинона (PQQ) и одного иона Ca^{2+} . Ген *mxaF* кодирует большую α -субъединицу МДГ, считается, что последовательность *mxaF* достаточно консервативна среди протеобактерий и может отражать их филогенетическое родство, подобно гену 16S рРНК [3, 4].

Род *Methylophaga* (класс Gammaproteobacteria, порядок Thiotrichales, семейство Piscirickettsiaceae) был первоначально описан группой исследователей [5] на основании изучения двух морских метанол-утилизирующих видов *M. marina* и *M. thalassica* и к настоящему времени насчитывает десять видов. Представители рода существенно отличаются от остальных метилотрофов низким содержанием Г+Ц в тотальной ДНК (большинство укладывается в диапазон 43–46 мол.%), тогда как содержание Г+Ц пар у метилотрофов из класса Alphaproteobacteria находится в диапазоне 54–72 мол.%, метилотрофов Betaproteobacteria – 50–69 мол.%, а метилотрофы класса Gammaproteobacteria, за исключением рода *Methylophaga*, имеют содержание Г+Ц 58–69 мол.%. Почти все представители рода *Methylophaga* способны выдержать концентрацию NaCl 10%, а некоторые до 20%, что достаточно редко встречается среди метиловобактерий [3, 6].

Цель данной работы – изучение гетерогенности структуры МДГ у галотолерантных метилотрофных представителей рода *Methylophaga*.

Материалы и методы

Объектом исследования являлся галотолерантный метилотрофный штамм М1К, изолированный из ризосферы солеустойчивого растения *Suaeda prostrata* Pall., в районе Верхнекамского месторождения калийно-магниевых солей (г. Соликамск, Пермский край, сентябрь 2012 г.). Изолят культивировался на жидкой среде «К» с добавлением 5% NaCl и 1% метанола в качестве субстрата [3]. Способность штамма М1К синтезировать индолил-3-уксусную кислоту (ИУК) определена при помощи реактива Сальковского после добавления в культуральную среду L-триптофана, измерения осуществляли в 3–5-кратной повторности [7].

С помощью ПЦР амплифицирована последовательность гена 16S рРНК со стандартными праймерами [8]. Путём компьютерного геномного анализа удалось определить специфичный фрагмент гена *mxaF*, подобрать фланкирующие последовательности, при-



годные в качестве праймеров (MFGmxa2-f 5'-GGAACGAAACCATGCGTCCTGG и MFGmxa2-r 5'-CCCTGGTTGTGGAAACCCAT) и амплифицировать переменный фрагмент размером 368 пн.

Сравнительный анализ нуклеотидных и аминокислотных последовательностей *mxaF* проводили с помощью компьютерной программы MEGA 6.0. Диаграммы построены методом минимума эволюции, показатель достоверности определен на основании анализа 1000 альтернативных деревьев. В качестве внегрупповых видов представлены метанотрофы (*Methylomonas paludis* DSM 24973^T, *Methylomarinum vadi* T2-1^T, *Methylococcus capsulatus* Bath^T, *Methylohalobius crimeensis* 10Ki^T, *Methylomicrobium alcaliphilum* 20Z^T, *Methylomicrobium japonense* NI^T, *Methylomicrobium buryatense* 5G^T), содержащие

mxaF и филогенетически близкие представителям рода *Methylophaga*.

Результаты и их обсуждение

Характеристика штамма M1K приведена в таблице в сравнении с другими представителями рода *Methylophaga*. По основным параметрам штамм M1K схож с представителями рода *Methylophaga* (морфология клетки, допустимое содержание солей в среде культивирования, оптимальная температура роста, состав клеточных жирных кислот), но отличается по диапазону pH и спектру ростовых субстратов. В эксперименте по оценке синтеза ИУК содержание ауксина в культуральной жидкости достигало 10 мкг/мл, что является типичным для непатогенных фитосимбиотических метилотрофных микроорганизмов [9].

Дифференциальные характеристики штамма M1K (данные этого исследования) и штаммов родственных видов рода *Methylophaga*. 1, M1K; 2, *M. nitratreducenticrescens* JAM1^T [6]; 3, *M. frappieri* JAM7^T [6]; 4, *M. alcalica* M39^T [10]; 5, *M. aminisulfidivorans* MP^T [11]; 6, *M. lonarensis* MPL^T [12]; 7, *M. muralis* Kr3^T [13]

Параметр	1	2	3	4	5	6	7
Размер клетки, мкм	0,6–0,8× 0,9–1,3	0,6×1,5	0,7×1,5	0,6–0,8× 1,4–2,8	0,2–0,4× 0,8–1,2	1,2–2,0× 0,2	0,7× 1,7–2,0
Подвижность	+	+	+	+	–	+	+
Диап. NaCl, %	0,5–10,0	0,5–8,0	0,5–8,0	0,05–10,0	1,5–9,0	0,05–10,0	0,3–20,0
Оптим. NaCl, %	3,0	3,0	3,0	3–4	3,0	0,5–2,0	3,0–9,0
Диап. pH	7,0–9,0	6,0–11,0	6,0–11,0	7,0–11,0	6,0–8,0	7,0–10,0	6,0–11,0
Оптим. pH	8,0	8,0	8,0	9,0–9,5	6,8–7,0	9,0–10,0	8,0–9,0
Темп. диап., °C	15–37	15–37	15–37	4–35	20–37	20–37	0–42
Оптим. темп., °C	25	30	34	25–29	30	28–30	20–32
Восст. нитратов	–	+	–	+	+	+	+
Метанол 1%	+	+	+	+	+	+	+
Метанол 2%	+	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	+
Метиламин	±	–	–	+	+	–	+
Диметиламин	±	н.д.	н.д.	н.д.	+	н.д.	н.д.
Триметиламин	–	н.д.	н.д.	н.д.	+	н.д.	+
Доминирующие ЖК	C _{16:0} C _{16:1} C _{18:1}	C _{16:0} C _{16:1} C _{18:1}	C _{16:0} C _{16:1} C _{18:1}	C _{16:0} C _{16:1} C _{18:1}	C _{16:0} C _{16:1}	C _{16:0} C _{16:1} C _{18:1}	C _{16:0} C _{16:1} C _{18:1}

Примечание. н.д. – нет данных.

BLAST анализ фрагмента последовательности гена 16S рРНК (1406 пн) показал, что штамм M1K имеет 98,3–98,7% сходства с группой некультивируемых представителей рода *Methylophaga* и обладает наибольшим сходством (98,3%) с *Methylophaga nitratreducenticrescens* JAM1^T (GenBank № CP003390). Последовательность гена *mxaF* у штамма M1K обладает высокой степенью сходства (97,6%) с *M. nitratreducenticrescens* JAM1^T, 90,4% – с

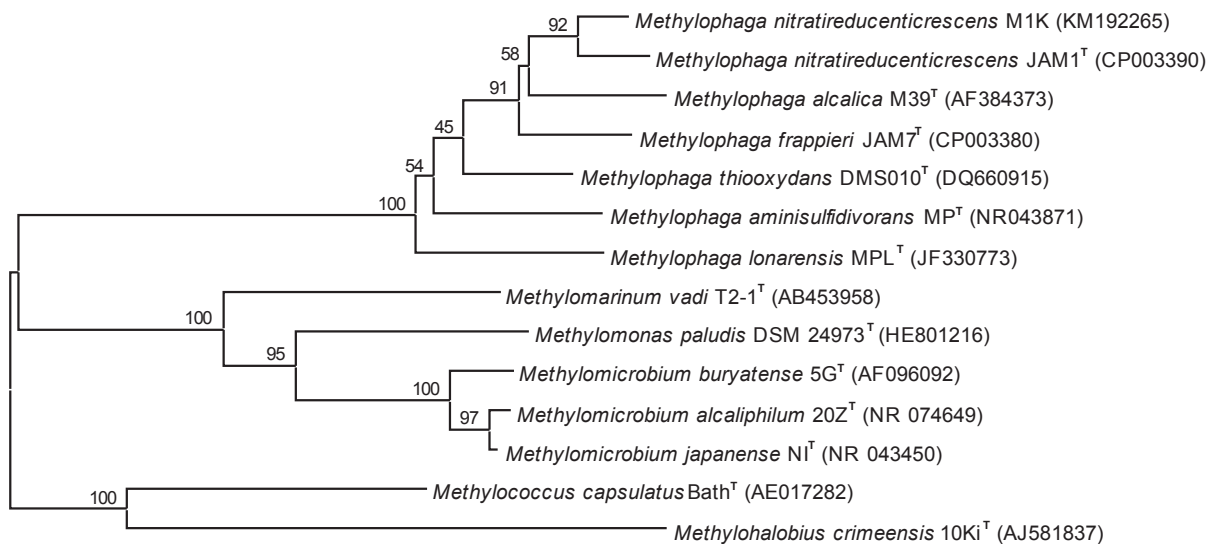
M. frappieri JAM7^T и 85,3% – с *M. lonarensis* MPL^T. Нуклеотидные последовательности генов 16S рРНК и *mxaF* штамма M1K депонированы в базе данных GenBank под номерами KM192265 и KT728194 соответственно.

Кластеризация последовательностей генов 16S рРНК и *mxaF* (рис. 1) обнаружило группирование пар между штаммами M1K и JAM1^T вида *M. nitratreducenticrescens*, а также между *M. aminisulfidivorans* MP^T и *M. thio-*



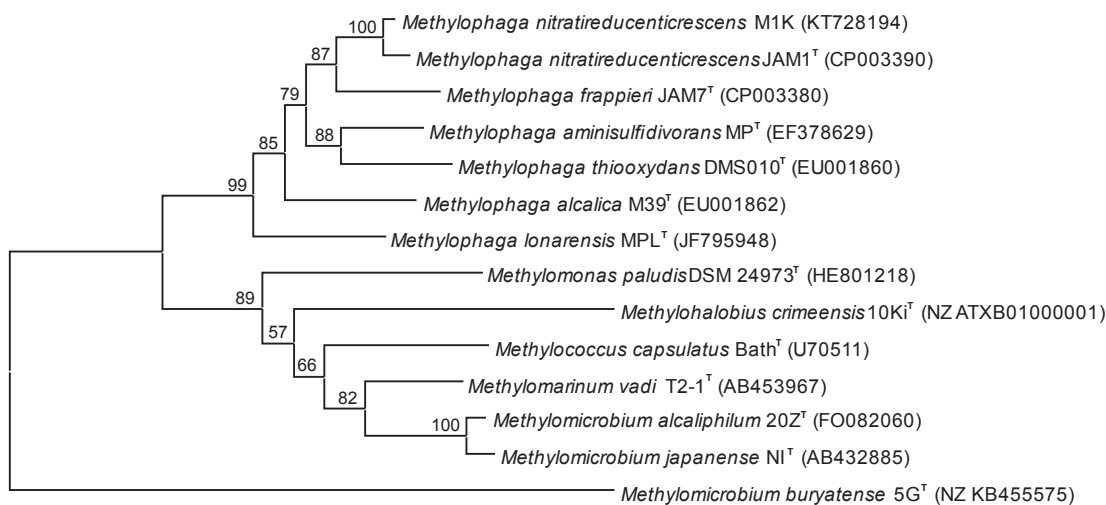
oxydans DMS010^T. Обнаруженная дивергенция *M. lonarensis* MPL^T совпадает в обоих построениях. Полученные диаграммы в целом сходны по порядку объединения в кластеры, однако наблюдаются расхождения в положении *M. alcalica* M39^T и *M. frappieri* JAM7^T, что отличает филограммы, построенные с использо-

ванием алгоритма минимальной эволюции от графов, построенных с применением метода максимального правдоподобия, когда кластеризация последовательностей генов *txaF* и 16S рРНК происходила идентично. Это позволяет корректно обсуждать параметры эволюционной изменчивости гена *txaF*.



0.01

a



0.05

b

Рис. 1. Диаграммы филогенетического родства нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК (а) и *txaF* (б) представителей семейства *Methylophaga*. Масштаб эволюционных расстояний отражает количество замен на один нуклеотид. Цифрами показаны значения bootstrap. В качестве внегрупповых использованы последовательности метанотрофов родов *Methylomonas*, *Methylomarinum*, *Methylococcus*, *Methylomicrobium* и *Methylohalobius*

Масштабы дивергенции в пределах рода *Methylophaga* соответствуют совокупному разбросу изменений в последовательности гена *txaF* для умеренных галофильных метанотрофов, принадлежащих к пяти родам, что может считаться предпосылкой для выделения не-

скольких новых родов из состава *Methylophaga*.

Выравнивание аминокислотных последовательностей фрагмента α-субъединицы МДГ с последовательностями родственных видов показало, что в исследованной области участки, ответственные за связывание полипептида с кофактором



PQQ и ионом Ca^{2+} (Asp 30 (позиция D30 на рис. 2), Arg 58 (R58), Asn 124 (N124)), расположены в консервативных областях [14]. Однако прослеживаются участки длиной до 3–4 аминокислот, имеющие существенные различия среди рассматриваемых представителей рода *Methylophaga* (A12–D13, K43–K46, V85–K87, F101–S102), причём здесь представлены замены полярных аминокислот на неполярные. Вариативные позиции в виде одиночных аминокислотных замен выявляются также и вблизи консервативных участков, что при росте дивергенции может сказаться на

ферментативной активности МДГ. При сравнении результатов, полученных в работе Graziano и Merlino, устойчивых корреляций в дипептидных заменах, выявленных авторами в аминокислотных последовательностях белков галотолерантных микроорганизмов, обнаружено не было [15]. Анализ нуклеотидной последовательности гена *mxaF* у исследованных метилотрофов обнаружил триплетные вариации (даже в кодонах аминокислот, отвечающих за связывание с кофактором), однако благодаря вырожденности генетического кода не приведшие к замене аминокислот.

	1	10	20	30	40
1	N	K W T M T	I W G R D A D T G L	A K F G Y Q K T P H D E W D	Y A G V N V M M L S E Q
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14

	50	60	70	80
1	K D K K G K M R K L L T H P D R	N G I I Y T L D R E T G D L V S A D K M D D T A N W		
2
3	E	.	.	.
4
5
6
7
8	V - V N	.	.	.
9	- V N	R	.	.
10	E - V D	L T P	.	.
11	R - V N	K V P	.	.
12	- V N	.	.	.
13	- V N	.	.	.
14	E - I	Q	.	.

	90	100	110	120
1	V K K V D L E T G L P I R D P E F S T R M G H R	- - - S R D I C P S A M G F H N Q G		
2
3
4	L T	.	.	.
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14	A S H	.	.	.

Рис. 2. Сравнение фрагмента аминокислотной последовательности α -субъединицы МДГ 1, *M. nitratireducens* M1K, полученной в данном исследовании (GenBank № AMK47902), с последовательностями близкородственных штаммов: 2, *M. nitratireducens* JAM1^T (AFI83383); 3, *M. frappieri* JAM7^T (AFJ03261); 4, *M. alcalica* M39^T (ABS45565); 5, *M. aminisulfivorans* MP^T (ABN49105); 6, *M. thiooxydans* DMSO10^T (ABS45563); 7, *M. lonarensis* MPL^T (AEG19447) и представителей внегрупповых видов: 8, *Methylomonas paludis* DSM24973^T (CCH22594); 9, *Methylomarimum vadi* T2-1^T (BAN22848); 10, *Methylococcus capsulatus* Bath^T (AAC45563); 11, *Methylolobius crimeensis* 10Ki^T (WP_022947522); 12, *Methylomicrobium alcaliphilum* 20Z^T (CCE25111); 13, *Methylomicrobium japonense* NI^T (BAG72174); 14, *Methylomicrobium buryatense* 5G^T (WP_017842117)



С учётом широкой распространённости засоленных экотопов, в которых обитают представители рода *Methylophaga* (солёные воды озёр и морей, умеренно-засоленные почвы), а также некоторой филогенетической дивергенции ключевого гена C_1 -метаболизма у данных метиловых бактерий можно полагать о достаточно длительном эволюционном пути адаптации к галотолерантности. Однако связать конкретные изменения в аминокислотной последовательности МДГ с солеустойчивостью среди рассматриваемых метилотрофов пока не удается в связи с малой величиной выборки в доступных базах данных. Дальнейшие полногеномные исследования представителей *Methylophaga* необходимы для таксономической верификации рода.

Таким образом, штамм М1К, изолированный из ризосферы галофитного растения, сочетает в себе достаточно высокую устойчивость к соли и способность к синтезу ИУК. Среди других способных вступать в микробно-растительное взаимодействие метилотрофов (особенно представителей рода *Methylobacteria*, богатого на фитосимбионтов) едва ли найдутся виды, переносящие концентрации NaCl более 3%, что делает штамм М1К практически-перспективным. А знание особенностей структуры МДГ – важнейшего фермента метаболизма ростового субстрата у галотолерантных метиловых бактерий – позволит более избирательно подходить к отбору штаммов, имеющих потенциал для использования в агротехнологии.

Благодарности

Авторы выражают благодарность кандидату биологических наук Н. П. Ковалевской (лаборатория водной микробиологии, ИЭГМ УрО РАН).

Исследование выполнено при финансовой поддержке Комплексной программы Уральского отделения РАН (проект № 15-4-4-2).

Список литературы

1. Kutschera U. Plant-associated methylobacteria as co-evolved phytosymbionts // *Plant Signaling & Behavior*. 2007. Vol. 2. P. 74–78.
2. Фёдоров Д. Н., Доронина Н. В., Троценко Ю. А. Фитосимбиоз аэробных метиловых бактерий : новые факты и гипотезы // *Микробиология*. 2011. Т. 80, № 4. С. 435–446.
3. Троценко Ю. А., Доронина Н. В., Торгонская М. Л. Аэробные метиловых бактерии. Пушино : ОНТИ ПНЦ РАН, 2010. 325 с.
4. Lau E., Fisher M. C., Steudler P. A., Cavanaugh C. M. The methanol dehydrogenase gene *mdhA*, as a functional phylogenetic marker for proteobacterial methanotrophs in natural environments // *PLOS ONE*. 2013. Vol. 8. P. e56993.
5. Janvier M., Frehel C., Grimont F., Gasser F. *Methylophaga marina* gen. nov., sp. nov. and *Methylophaga thalassica* sp. nov., marine methylophages // *Intern. J. Syst. Bacteriol.* 1985. Vol. 35. P. 131–139.
6. Villeneuve C., Martineau C., Maufferey F., Villemur R. *Methylophaga nitratreducenticrescens* sp. nov. and *Methylophaga frapperi* sp. nov., isolated from the biofilm of the methanol-fed denitrification system treating the seawater at the Montreal Biodome // *Intern. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2013. Vol. 63. P. 2216–2222.
7. Gordon S. A., Weber R. P. Colorimetric estimation of indole-acetic acid // *Plant Physiol.* 1951. Vol. 26. P. 192–195.
8. Lane D. J. 16S/23S rRNA sequencing // *Nucleic acid techniques in bacterial systematics* / eds. E. Stackebrandt, M. Goodfellow. N.Y. : Academic Press, 1991. P. 115–167.
9. Gogleva A. A., Kaparullina E. N., Doronina N. V., Trotsenko Y. A. *Methylobacillus arboreus* sp. nov. and *Methylobacillus gramineus* sp. nov., novel non-pigmented obligate methylophagous bacteria associated with plants // *Syst. Appl. Microbiol.* 2011. Vol. 34. P. 477–481.
10. Doronina N. V., Darmaeva T. D., Trotsenko Y. A. *Methylophaga alcalica* sp. nov., a novel alkaliphilic and moderately halophilic, obligately methylophagous bacterium from an East Mongolian saline soda lake // *Intern. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2003. Vol. 53. P. 223–229.
11. Kim H. G., Doronina N. V., Trotsenko Y. A., Kim S. W. *Methylophaga aminisulfidivorans* sp. nov., a restricted facultatively methylophagous marine bacterium // *Intern. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2007. Vol. 57. P. 2096–2101.
12. Antony C. P., Doronina N. V., Boden R., Trotsenko Y. A., Shouche Y. S., Murrell J. C. *Methylophaga lonarensis* sp. nov., a moderately haloalkaliphilic methylophage isolated from the soda lake sediments of a meteorite impact crater // *Intern. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2012. Vol. 62. P. 1613–1618.
13. Доронина Н. В., Лу Ц. Д., Иванова Е. Г., Троценко Ю. А. *Methylophaga murata* sp. nov. – галоалкалофильный аэробный метилотроф из разрушающегося мрамора // *Микробиология*. 2005. Т. 74, № 4. С. 511–519.
14. Jeong J. H., Kim S. W., Yoon S. M., Park J. K., Lee J. S. Characterization of the conserved region of the *mdhA* gene that encodes the large subunit of the methanol dehydrogenase from a marine methylophagous bacterium // *Mol. Cells*. 2002. Vol. 13, № 3. P. 369–376.
15. Graziano G., Merlino A. Molecular bases of protein halotolerance // *Biochim. et Biophys. Acta*. 2014. Vol. 1844, № 4. P. 850–858.



**Conserved and Variable Regions
of the Methanol Dehydrogenase Gene
Among Halotolerant Representatives
of *Methylophaga* Genus**

D. Yu. Sharavin, A. P. Solomennyi

Dmitry Yu. Sharavin, ORCID 0000-0003-3962-8164, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, 13, Goleva Str., Perm, 614081, Russia, dima-sharavin@yandex.ru

Aleksandr P. Solomennyi, ORCID 0000-0002-5234-7829, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian

Academy of Sciences, 13, Goleva Str., Perm, 614081, Russia, solomen@iegm.ru

We investigated conserved and variable regions of the *mxhF* gene and amino acid sequence in methylophilic strain M1K isolated from saline soil rhizosphere and belonging to *Methylophaga* genus. The significant heterogeneity was revealed in methano- and methylophilic bacteria by method of Minimum Evolution. The ability of strain to influence indole-3-acetic acid synthesis from L-tryptophan and halotolerance are the arguments in favor of application in new agrotechnology.

Key words: halotolerance, methylophilic bacteria, methanophilic bacteria, phytosymbiosis, microevolution.

Образец для цитирования:

Шаравин Д. Ю., Соломенный А. П. Консервативные и переменные участки гена метанолдегидрогеназы у галотолерантных представителей рода *Methylophaga* // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 452–457. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-452-457.

Cite this article as:

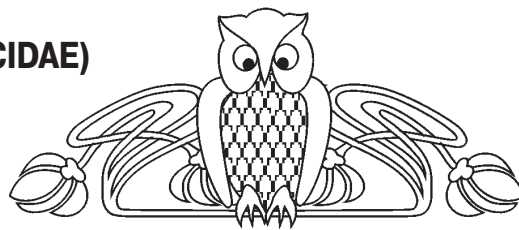
Sharavin D. Y., Solomennyi A. P. Conserved and Variable Regions of the Methanol Dehydrogenase Gene Among Halotolerant Representatives of *Methylophaga* Genus. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 452–457 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-452-457.



УДК 595.771 (470.44)

КРОВСОСУЩИЕ КОМАРЫ (DIPTERA; CULICIDAE) САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Т. В. Князева, А. М. Поршаков, К. С. Захаров, А. Н. Матросов,
С. И. Толоконникова, В. Н. Чекашов, М. М. Шилов, С. А. Яковлев



Князева Татьяна Васильевна, старший научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов), кандидат биологических наук. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поршаков Александр Михайлович, старший научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов), кандидат биологических наук. E-mail: pam_82@mail.ru

Захаров Кирилл Сергеевич, младший научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов). E-mail: zaharov_ks@mail.ru

Матросов Александр Николаевич, ведущий научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов), доктор биологических наук. E-mail: anmatrosov@mail.ru

Толоконникова Светлана Ивановна, научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов), кандидат биологических наук. E-mail: sitol65@yandex.ru

Чекашов Владимир Николаевич, старший научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов), кандидат биологических наук. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Шилов Михаил Михайлович, научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов), кандидат биологических наук. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Яковлев Сергей Альбертович, научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов), кандидат биологических наук. E-mail: sergey2005@yandex.ru

Комары представляют собой группу кровососущих членистоногих, изучению которой в последнее десятилетие уделяется повышенное внимание в связи с их ролью в переносе возбудителей различных болезней, в первую очередь арбовирусов. Наблюдение за комарами проводили преимущественно в районах области, где в силу ландшафтно-географических особенностей сложились условия для циркуляции возбудителей арбовирусных инфекций. Объем собранного материала составил 24943 экземпляра комаров. В статье представлены качественные и количественные изменения, произошедшие в популяции кровососущих комаров за 45-летний период. После проведения исследований был изменен список комаров Са-

ратовской области. На левом берегу Волги зарегистрировано 17 видов комаров, два вида отмечены впервые. На правом берегу Волги в настоящее время зарегистрирован 21 вид, 9 видов новые для данной территории. На территории области с учетом литературных данных на момент начала авторских исследований отмечен 31 вид, по результатам собственных сборов было зарегистрировано – 27 видов, общее число кулицид в фауне области к настоящему времени по обобщенным данным составляет – 34 вида комаров 7 родов.

Ключевые слова: кровососущие комары, индекс доминирования, территориальное размещение, эпидемиологическое значение, Саратовская область.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-458-464

Введение

Комары представляют собой группу кровососущих членистоногих, изучению которой (видовой состав, территориальная приуроченность, фенология) в последнее десятилетие уделяется повышенное внимание в связи с ролью этих насекомых в переносе возбудителей различных болезней, в первую очередь арбовирусов [1]. Так, на территории Саратовской области в настоящее время сформировались очаги лихорадки Западного Нила (ЛЗН), что привело к эпидемическим осложнениям [2–5]. Знание фауны переносчиков и роли отдельных видов в распространении тех или иных возбудителей болезней является непременным условием для прогнозирования эпидемиологической ситуации, планирования и проведения профилактических мероприятий.

Материал и методы

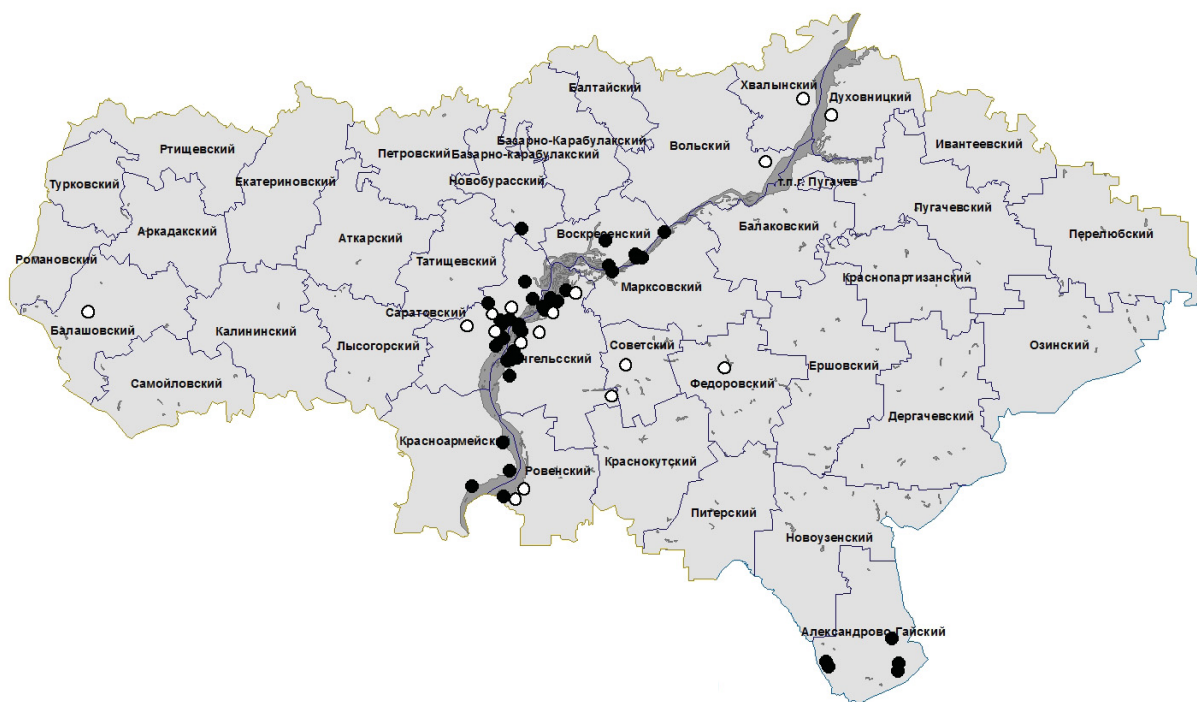
Наблюдение за комарами проводили преимущественно в районах области, где в силу ландшафтно-географических особенностей сложились условия для циркуляции возбудителей арбовирусных инфекций и формирования природных или антропоургических очагов соответствующих болезней, как в случае с ЛЗН, а также там, где с 2010 г. выявляется заболеваемость населения области ЛЗН [6]. В зоогеографическом отношении участки обследования были привязаны к пойменным биотопам Волжского и Донского речных бассейнов, Камыш-Самарского бессточного озерного бассейна: рек



Волга, Терешка, Хопер, Медведица, Большой и Малый Узени. В обработку взяты сборы за 2003 и 2012–2015 гг., когда проводили видовую идентификацию насекомых. В этот период регулярные наблюдения (2012–2015 гг.) осуществляли на территории Энгельсского и Саратовского административных районов, периодически обследовали Марковский, Воскресенский (2013, 2015 г.), Ровенский (2012, 2013 г.) и Александрово-Гайский (2003, 2012 г.), однократно обследовали Аткарский (2003 г.), а также Красноармейский, Петровский и Новобурасский (2012 г.) районы (рисунок). Отлавливали комаров в при-

родных биотопах преимущественно в летний период – в сезон возможной передачи возбудителей опасных инфекционных заболеваний. Отдельные выезды были организованы весной (апрель–май). Для сбора кровососущих двукрылых применяли эксгаустер, а также механические ловушки для отлова комаров «Mosquito trap» (страна производитель Китай) и «Mosquito magnet independence» (страна производитель США).

Объем собранного материала составил 24943 экземпляра комаров, относящихся к 27 видам и 7 родам. Систематика дана по работе Р. М. Горностаевой [7].



Карта-схема мест сбора комаров на территории Саратовской области: ○ – места сбора комаров (литературные данные); ● – места сбора комаров (собственные исследования)

Результаты и их обсуждение

Предыдущими исследователями в 20–70-х гг. XX в. на территории области было установлено обитание 31 вида комаров (сводные данные представлены по работе В. Ф. Давидович [8]). На основании анализа литературных и собственных данных можно считать, что современная фауна кровососущих комаров Саратовской области включает 34 вида (таблица).

В представленный список не внесены три вида: *Ochlerotatus duplex* Martini, 1926, *Oc. annulipes* Meigen, 1830 и *Oc. pullatus* Coquillett, 1904. Из них *Oc. duplex* в единичных экземплярах, согласно литературным данным, был найден в правобережье Волги, но самостоятельность

его как вида в настоящее время находится под вопросом [7, 9]. Виды *Oc. annulipes* и *Oc. pullatus* были указаны для фауны Саратовской области по находкам в 30-х гг. XX столетия и в последующем не встречались. В то же время *Oc. punctor* впервые обнаруженный тогда же, что и вышеупомянутые виды, после значительного перерыва был найден в сентябре 2015 г. в Энгельсском районе (7 экз.) и в августе 2013 г. в Воскресенском районе (5 экз.)

Из видов комаров, регистрировавшихся в области В. Ф. Давидович [8], в наши сборы не попали 7 видов. Это преимущественно редко встречающиеся и малочисленные на тот период времени виды комаров: *Ae. rossicus* – единичные



Виды комаров, зарегистрированные на территории Саратовской области

№	Современная фауна комаров	Виды по литературным источникам	Сборы 2003, 2012–2015 гг. (абс.)				
			Пойма Волги		Право-бережье, поймы Медведицы и Хопра	Левобережье, поймы Б. и М. Узеньей	Всего комаров
			правый берег	левый берег			
1	<i>Anopheles claviger</i> Meigen, 1804	+	21	–	–	–	21
2	<i>An. maculipennis</i> Meigen, 1818	+	656	3765	–	–	4421
3	<i>An. hyrcanus</i> Pallas, 1771*	–	–	1170	–	–	1170
4	<i>Aedes cinereus</i> Meigen, 1818	+	63	50	–	–	113
5	<i>Ae. rossicus</i> Dolbeskin, Gotickaja, Saugstad, 1975	+	–	–	–	–	–
6	<i>Ae. vexans</i> Meigen, 1830	+	7820	3067	–	1	10888
7	<i>Dahlia geniculata</i> Olivier, 1791	+	22	114	–	–	136
8	<i>Ochlerotatus communis</i> de Geer, 1776	+	–	–	946	1	947
9	<i>Oc. dorsalis</i> Meigen, 1830	+	–	–	–	–	–
10	<i>Oc. subdiversus</i> Martini, 1926	+	–	–	–	82	82
11	<i>Oc. behningi</i> Martini, 1926	+	9	41	40	–	90
12	<i>Oc. cantans</i> Meigen, 1818	+	448	1020	20	–	1488
13	<i>Oc. caspius</i> Pallas, 1771	+	114	16	4	1165	1299
14	<i>Oc. cataphylla</i> Dyar, 1916	+	94	–	289	3	386
15	<i>Oc. cyprius</i> Ludlow, 1920	+	68	218	–	–	286
16	<i>Oc. detritus</i> Haliday, 1833	+	–	–	–	282	282
17	<i>Oc. diantaeus</i> Howard, Dyar, Knab, 1913	+	3	–	14	–	17
18	<i>Oc. excrucians</i> Walker, 1856	+	50	65	3	–	118
19	<i>Oc. flavescens</i> Muller, 1764	+	8	43	1	9	61
20	<i>Oc. intrudens</i> Dyar, 1919	+	–	–	–	–	–
21	<i>Oc. leucomelas</i> Meigen, 1804	+	4	–	72	76	152
22	<i>Oc. nigripes</i> Eckstein, 1918	+	–	–	–	–	–
23	<i>Oc. pulchritarsis</i> Rondani, 1872	+	–	–	–	–	–
24	<i>Oc. punctor</i> Kyrby, 1837	+	5	7	–	–	12
25	<i>Oc. riparius</i> Dyar, Knab, 1907*	–	53	24	–	–	77
26	<i>Oc. sticticus</i> Meigen, 1838*	–	2	–	–	–	2
27	<i>Ochlerotatus lepidonotus</i> Meigen, 1804	+	–	–	–	450	450
28	<i>Culex modestus</i> Ficalbi, 1890	+	131	335	–	–	466
29	<i>Cx. pipiens</i> Linnaeus, 1758	+	312	1355	–	–	1667
30	<i>Cx. theileri</i> Theobald, 1903	+	1	–	–	–	1
31	<i>Cx. territans</i> Walker, 1856	+	–	–	–	–	–
32	<i>Cx. hortensis</i> Ficalbi, 1889	+	–	–	–	–	–
33	<i>Culiseta longiareolata</i> Macquart, 1838	+	–	10	–	–	10
34	<i>Coquillettidia richiardii</i> Ficalbi, 1889	+	18	283	–	–	301
	Итого комаров		9902	11583	1389	2069	24943
	Число видов	31**	21	17	9	9	27

Примечание. * – виды, отмеченные впервые; ** – без учета *Oc. duplex*.



экземпляры были добыты в окрестностях городов Хвалынский и Энгельс, в г. Балаково, а также в пойме р. Медведица – г. Калининск и пгт Лысье Горы; *Oc. intrudens* – найдены в окрестностях Саратова в 30-х и в Марковском р-не в 50-х гг. прошлого столетия; *Oc. nigripes* – вид определен по личинке, обнаруженной в окрестностях г. Маркс в 50-е гг.; *Oc. pulchritarsis* – 12 экз. были добыты в течение 1961–1965 гг. в окрестностях г. Энгельса и на Шумейских островах, 1 экз. – в окрестностях г. Маркса; *Cx. hortensis* – 1 экз. собран в окрестностях г. Энгельса; *Cx. territans* – встречались по обеим сторонам южной поймы Волги. И только вид *Oc. dorsalis*, по данным В. Ф. Давидович [8], был обычным видом в пойме Волги и реже встречался в поймах рек Хопер и Медведица.

За последний период наблюдений в пойме Волги встречены 3 вида комаров, не упоминавшихся предшествующими исследователями. Комары *An. hyrcanus* собраны в южной левобережной пойме Волги в Энгельском (август 2013, июль 2014 г.) и Ровенском (август 2012 и 2013 гг.) районах. Комаров *Oc. riparius* отлавливали по обеим сторонам Волги – в Саратовском районе в летне-осенний сезон 2015 г. (индекс доминирования – ИД в сборах составил 4,5%) и в Марковском районе в августе 2015 г. (ИД 3,1%). *Oc. sticticus* – два экземпляра данного вида обнаружены в Воскресенском районе (правобережье Волги) в августе 2013 г.

Согласно нашим наблюдениям, основу фауны комаров Саратовской области в настоящее время составляют широко распространенные виды *Ae. vexans* (средний ИД по области равнялся 44%), *An. maculipennis* (18%), *Cx. pipiens* (7%), *Oc. cantans* (6%), *Oc. caspius* (5%). Их распределение на обследованной территории мозаично и отражает требования видов к гигротермическим условиям существования. Комары *Ae. vexans*, по литературным данным, ранее повсеместно преобладали в пойме Волги, были обычными в пойме р. Хопер и редкими в пойме р. Медведица. Полициклический вид *Ae. vexans* является теплолюбивым, заселяет луговые и степные пространства. Имаго предпочитают биотопы с травянистой и древесной растительностью. Комаров отлавливали в течение всего сезона обследования с конца апреля по сентябрь практически повсеместно. Как и ранее, они преобладали в пойме Волги, по нашим сборам доминируют в Саратовском, Воскресенском, Энгельском и Марковском районах.

Среди малярийных комаров, зарегистрированных на территории области: *An. maculipennis*, *An. claviger* и *An. hyrcanus*, наиболее многочис-

ленными в природных биотопах являются *An. maculipennis*. В настоящее время комары этого вида встречались во всех обследованных районах в период с июня по сентябрь, что соответствует фенологическим особенностям их обитания на территории Саратовской области [10]. Обнаружение в южных районах области малярийного комара *An. hyrcanus* можно рассматривать как расширение его ареала к северу. Ранее обитание *An. hyrcanus* на территории России отмечали южнее 50° с.ш., на равнинах Северного Кавказа и Прикаспия [11]. В дельте Волги (Астраханская обл.) в этих комарах была обнаружена РНК вируса ЛЗН. На юге Волгоградской области численность их определялась как крайне низкая [12]. Личинки этого вида весной развиваются в хорошо прогретых водоемах, поэтому в южной части ареала массовый выхолд имаго отмечается в начале лета, а в северной – приходится на июль. В нашем регионе имаго регистрировались в июле-августе. Показатель доминирования *An. hyrcanus* в сборах в Ровенском районе был выше (28,2%), чем в Энгельском (11,8%). Комплекс «*Anopheles hyrcanus*» представлен также видом *An. claviger*. Редкую встречаемость и численность данного вида в области предопределяют особенности его биологии: пониженный по сравнению с другими представителями *Anopheles* температурный оптимум развития личинок, концентрация имаго на дневках во влажных и прохладных зарослях, подстерегающий способ охоты, ограничивающий разлет насекомых, зимовка двукрылых в стадии личинки III–IV возраста [13]. Эти комары встречались на правом берегу Волги (Красноармейский и Воскресенский р-ны). Места прежних находок были приурочены к южной левобережной (г. Энгельс, р. Сазанка) и северной части поймы Волги. При учете факторов, определяющих роль комаров как переносчиков малярии, в условиях области таковыми могут быть экзотические комары комплекса «*maculipennis*».

Широко ареальным и многочисленным видом на территории области является также *Cx. pipiens*. Вопрос о его распространении в поймах рек Хопер и Медведица остается открытым. В наших сборах *Cx. pipiens* преобладал на участках южной левобережной поймы Волги (7–17%). Активность имаго в природных биотопах наблюдалась преимущественно в летний период. Подъем численности этого вида даже в более южном, чем Саратовская область, регионе отмечается в июле [12]. Комары *Oc. cantans* хотя и встречаются в степной зоне, но тяготеют к водным биотопам, расположенным вблизи лесистых участков. Ранее эти комары преобладали в северной части поймы



Волги, а также поймах рек Хопер и Медведица. В южной пойме Волги они были обычными в ее правобережной части и редкими – в левобережной. В настоящее время они стали обычными и в левобережной части, составляя в отдельных сборах до 14%. Вид *Oc. caspius* предпочитает открытые луговые пространства. В степной и полупустынной местности роль этого вида была более заметна, чем в лесистых северных и западных районах [8], что прослеживалось и в наших сборах. Массовый выплод комаров наблюдали в полупустынной зоне (Александрово-Гайский район) в апреле 2012 г. Весной значительное повышение температуры воздуха вслед за сходом снега привело к одновременному образованию на территории водораздела большого числа хорошо прогреваемых мелких водоемов. Это спровоцировало быстрое развитие теплолюбивого вида *Oc. caspius*.

Группу повсеместно распространенных, но малочисленных видов (ИД менее 2%) составили *Cx. modestus*, *Oc. cataphylla*, *Oc. cyprius*, *Oc. excrucians*, *Oc. flavescens* и *Coq. richiardii*. В левобережье области их роль в сборах более существенна, чем в правобережье. В прошлом с повышенной численностью и активностью комаров: *An. maculipennis*, *Oc. cantans*, *Oc. excrucians* совпадали трансмиссивные вспышки туляремии в поймах рек Хопер и Медведица [8]. При этом последний вид в 60–70-е гг. XX в. был доминирующим в поймах этих рек, а также считался обычным на остальной территории.

Следует отметить находки на территории области комаров *Oc. lepidonotus*. В 50-х гг. XX столетия единичные экземпляры были обнаружены в окрестностях г. Маркса. Данный вид не характерен для фауны России [7, 9]. Он известен из Казахстана [14]. Это ранневесенний вид, развивается в водоемах по опушкам леса и кустарникам. С наступлением жаркого периода лёт прекращается. Сборы были сделаны в полупустынной зоне, в долине реки Малый Узень на участке, пограничном с Западно-Казахстанской областью, в начале мая 2003 г.

Наиболее благоприятной для обитания комаров является южная территория волжской поймы. Согласно полученным данным, количественное соотношение видов в правобережной и левобережной пойме Волги составило соответственно 21 и 17. В ретроспективе более богатым спектром видов двукрылых была представлена фауна левобережья – 29 против 15. Сокращение биоразнообразия на левом берегу (как и на правом) произошло преимущественно за счет видов, которые характеризовались как

редкие, некоторые из них – с ограниченным распространением. В фауне левобережья эта группа составляла большинство [8]. В качестве новых зарегистрированы два вида (*An. hyrcanus*, *Oc. riparius*). На данный период многочисленными здесь являются *An. maculipennis* (33%), *Ae. vexans* (26,8%), *Cx. pipiens* (11,7%), *An. hyrcanus* (10%). Фауну комаров природных биотопов правобережной поймы Волги пополнили 9 новых видов (*An. claviger*, *Oc. behningi*, *Oc. cyprius*, *Oc. diantaeus*, *Oc. punctor*, *Oc. riparius*, *Oc. sticticus*, *Cx. theileri*, *Co. richiardii*). Основную часть сборов составили *Ae. vexans* (79%) и *An. maculipennis* (7%).

Заключение

Одной из причин изменения фаунистического состава комаров может быть изменение гидрологического режима вследствие наступления малоснежных зим и жарких летних месяцев, что особенно проявилось в левобережной части области. Несомненное влияние имеет и хозяйственная деятельность человека. Эти факторы отразились на условиях существования фаунистических комплексов комаров на различных территориях, привели к сокращению площадей местообитаний отдельных видов. Не исключается, что некоторые виды не попали в наши сборы вследствие несовпадения периода эпизоотологического обследования с сезонной активностью двукрылых, территориальной приуроченностью, а также особенностями погодных условий отдельных лет.

Таким образом, на территории области с учетом литературных данных на момент начала авторских исследований отмечен 31 вид, по результатам собственных сборов было зарегистрировано – 27 видов, общее число кулицид в фауне области к настоящему времени по обобщенным данным составляет – 34 вида комаров 7 родов. Их эпидемиологическое значение подтверждают недавние находки РНК вируса ЛЗН в пробе природной популяции комаров *Oc. caspius* [15], несколько раньше – в пробах *Oc. cataphylla* и *An. maculipennis*. Кроме того, установлена связь с другими арбовирусами еще 7 видов [3]. Изучение биоразнообразия переносчиков, их экологии и эпидемиологического значения важно для профилактики трансмиссивных зоонозов.

Список литературы

1. Рославцева С. А. Роль кровососущих комаров в передаче возбудителей инфекционных заболеваний человека. Сообщение 2. Роль некоторых комаров в передаче возбудителей некоторых арбовирусных инфекций // Пест-менеджмент (РЭТ-инфо). 2009. № 3. С. 30–33.



2. Щербакова С. А., Билько Е. А., Ключева Е. В., Данилов А. Н., Плотникова Е. А., Тарасов М. А., Чекашов В. Н., Удовиков А. И., Князева Т. В., Шилов М. М., Самойлова Л. В., Храмов В. Н., Казакова Л. В. Экология и распространение арбовирусов на территории Саратовской области // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2005. № 5. С. 27–30.
3. Щербакова С. А., Билько Е. А., Найденова Е. В., Кутырев И. В., Красовская Т. Ю., Слудский А. А., Князева Т. В., Матросов А. Н., Чекашов В. Н., Шарова И. Н., Самойлова Л. В. Выявление антигенов арбовирусов в комарах и клещах, обитающих на территории Саратовской области // Мед. паразитология и паразитарные болезни. 2009. № 2. С. 38–41.
4. Красовская Т. Ю., Щербакова С. А., Шарова И. Н., Найденова Е. В., Билько Е. А., Чекашов В. Н., Матросов А. Н., Яковлев С. А., Поршаков А. М., Шилов М. М., Рябова А. В., Князева Т. В., Мокроусова Т. В., Федорова З. П., Кресова У. А., Талаева Е. А., Миронова Н. И., Кутырев В. В. Изучение циркуляции вируса Западного Нила на территории Саратовской области в 2010 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2011. № 109. С. 13–17.
5. Кресова У. А. Современные эпидемиологические и эпизоотологические особенности актуальных для Саратовской области природно-очаговых инфекций : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саратов, 2014. 22 с.
6. Матросов А. Н., Чекашов В. Н., Поршаков А. М., Яковлев С. А., Шилов М. М., Кузнецов А. А., Захаров К. С., Князева Т. В., Мокроусова Т. В., Толоконникова С. И., Удовиков А. И., Красовская Т. Ю., Шарова И. Н., Кресова У. А., Кедрова О. В., Попов Н. В., Щербакова С. А., Кутырев В. В. Условия циркуляции вируса и предпосылки формирования природных очагов лихорадки Западного Нила в Саратовской области // Проблемы особо опасных инфекций. 2013. № 3. С. 17–22.
7. Горностаева Р. М. Новый список комаров (Diptera : Culicidae) России // Мед. паразитология и паразитарные болезни. 2009. № 1. С. 60–62.
8. Давидович В. Ф. Экологические факторы природной очаговости туляремии в Саратовской области : дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 1968. 331 с.
9. Халин А. В., Горностаева Р. М. К таксономическому составу кровососущих комаров (Diptera : Culicidae) мировой фауны и фауны России (критический обзор) // Паразитология. 2008. Т. 42, № 5. С. 360–381.
10. Турцева М. А., Сантылова О. А., Котоманова В. Г., Сапирова О. Л. Фенологические наблюдения за малярийными комарами *Anopheles* по Саратову (2006–2009 гг.) // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье. 2010. № 8. С. 58–62.
11. Лысенко А. Я., Кондрашин А. В. Маляриология. Женева : Всемирная Организация Здравоохранения, 1999. 247 с.
12. Федорова М. В. Комары (Diptera, Culicidae) – переносчики вируса лихорадки Западного Нила на территории России // РЭТ-инфо. 2007. № 1. С. 11–15.
13. Заречная С. Н. Избранные лекции по медицинской энтомологии : учеб. пособие. М. : Нац. орг. дезинфекционистов, 2010. 166 с.
14. Майканов Н. С., Аязбаев Т. З. Эпидемическое значение и видовой состав комаров (Culicidae) Западного Казахстана // Нац. приоритеты России. 2016. № 4. С. 45–48.
15. Захаров К. С., Матросов А. Н., Чекашов В. Н., Поршаков А. М., Шилов М. М., Яковлев С. А., Князева Т. В., Кузнецов А. А., Красовская Т. Ю., Казорина Е. В., Найденова Е. В., Казанцев А. В. Биоценотическая структура атропоургического и природно-антропоургического очагов лихорадки Западного Нила в Саратовской области // Пест-менеджмент (Рэт-инфо). 2016. № 3. С. 9–18.

Mosquitos (Diptera; Culicidae) of the Saratov Region

**T. V. Knyazeva, A. M. Porshakov, K. S. Zakharov,
A. N. Matrosov, S. I. Tolokonnikova,
V. N. Chekashov, M. M. Shilov, S. A. Yakovlev**

Tatiana V. Knyazeva, ORCID 0000-0002-3729-5223, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru

Alexandr M. Porshakov, ORCID 0000-0003-3363-765X, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, pam_82@mail.ru

Kirill S. Zakharov, ORCID 0000-0002-4726-309X, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, zaharov_ks@mail.ru

Alexander N. Matrosov, ORCID 0000-0003-4893-7188, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, anmatrosov@mail.ru

Svetlana I. Tolokonnikova, ORCID 0000-0002-2070-0456, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, sitol65@yandex.ru

Vladimir N. Chekashov, ORCID 0000-0002-9593-4353, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru

Mikhail M. Shilov, ORCID 0000-0002-0083-8212, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru

Sergey A. Yakovlev, ORCID 0000-0003-2224-8501, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, sergey2005@yandex.ru



Described is the fauna of bloodsucking mosquitoes found in the Saratov Region. The article is based on the data collected during the field surveys in the flooded biotopes along the Volga and Don river basins and Kamysh-Samara enclosed lake basin, as well as on the literature data available. By 1970s, 31 species of mosquitoes have been spotted in the Region. The paper presents qualitative and quantitative changes over the 45-year period in the populations of bloodsucking mosquito, habitant in the flooded areas of different rivers. Following the investigations, cadastre of mosquitoes, comprising 34 species and 7 genera, among which 3 species are mentioned for the first time ever, has been made.

Significant diversity of the species is characteristic to the south part of the Volga flood plain. Across the left bank area of the Volga, 17 species of mosquitoes are registered. Two of these species have not been mentioned earlier. The specter of mosquitoes in the right bank area is extended by 9 new species. Currently it includes 21 species. The sites of findings of rare species have been mapped. Bloodsucking mosquitoes have also been established as vectors of agents of transmissible zoonotic infections of bacterial and viral etiology.

Key words: mosquitos, index of prevalence, territorial distribution, epidemiological significance, Saratov Region.

Образец для цитирования:

Князева Т. В., Поршаков А. М., Захаров К. С., Матросов А. Н., Толоконникова С. И., Чекашов В. Н., Шилов М. М., Яковлев С. А. Кровососущие комары (Diptera; Culicidae) Саратовской области // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 458–464. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-458-464.

Cite this article as:

Knyazeva T. V., Porshakov A. M., Zakharov K. S., Matrosov A. N., Tolokonnikova S. I., Chekashov V. N., Shilov M. M., Yakovlev S. A. Mosquitos (Diptera; Culicidae) of the Saratov Region. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 458–464 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-458-464.



УДК 579.61 (582.28)

АНТИМИКОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСПОЛЪЗУЕМОГО СТАБИЛИЗАТОРА



Т. А. Шульгина, О. В. Нечаева, Е. В. Глинская, Н. И. Дарьин,
А. С. Торгашова, Д. А. Теслюк, А. В. Бабайлова, Е. А. Панфилова

Шульгина Татьяна Андреевна, биолог отделения лабораторной диагностики, Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского. E-mail: tshylgina2012@yandex.ru

Нечаева Ольга Викторовна, доцент кафедры экологии, Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А., кандидат биологических наук. E-mail: olgav.nechaeva@rambler.ru

Глинская Елена Владимировна, доцент кафедры микробиологии и физиологии растений, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат биологических наук. E-mail: elenavg-2007@yandex.ru

Дарьин Николай Иванович, технический директор, Общество с ограниченной ответственностью «М9» (Тольятти). E-mail: nickel@nmt-9.com

Торгашова Анна Сергеевна, студент педиатрического факультета, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского. E-mail: olgav.nechaeva@rambler.ru

Теслюк Дмитрий Александрович, заведующий лабораторией исследования наносистем, Институт экологии Волжского бассейна РАН (Тольятти). E-mail: Dy@nmt-9.com

Бабайлова Анастасия Владимировна, магистр биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: anastasya.babailova@mail.ru

Панфилова Екатерина Андреевна, магистр биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: eranfilova96@mail.ru

В последнее десятилетие получено большое количество фактических данных о неуклонно возрастающих осложнениях, обусловленных грамположительными и грамотрицательными микроорганизмами, а также вызванными грибами рода *Candida*. Сложившаяся ситуация явилась мощным стимулом для поиска и разработки новых средств, содержащих в своем составе вещества с выраженными химико-физическими свойствами и обладающими высокой биологической активностью. Современным и перспективным направлением стало применение нанотехнологий, в частности металлических наночастиц. Известно, что наночастицы металлов обладают специфическими свойствами, зависящими от способа химического синтеза и стабилизирующего полимера. В литературных источниках показано, что антимикробное действие наночастиц серебра обусловлено их связыванием

со структурными компонентами клеточных мембран, что, в свою очередь, сопровождается повреждением мембраны и гибелью микробной клетки. Проведено экспериментальное исследование антимикотического действия растворов наночастиц серебра, стабилизированных синтетическим (поливиниловый спирт) и натуральным (карбоксиметилцеллюлоза) полимерами в отношении стандартных и клинических штаммов дрожжеподобных грибов *Candida albicans*. Установлено, что растворы наночастиц серебра проявляли фунгицидную активность в отношении как стандартного, так и клинических штаммов *C. albicans* в диапазоне концентраций от 3 до 1% вне зависимости от стабилизатора.

Ключевые слова: *Candida albicans*, растворы наночастиц серебра, полимерные стабилизаторы.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-465-468

В настоящее время наряду с повышением уровня антибактериальной устойчивости возростает и частота инфекционно-воспалительных осложнений, вызванных грибами рода *Candida*.

Данные медицинской статистики доказывают, что до 50% грибковых заболеваний приходится на долю дрожжеподобных грибов рода *Candida*, причем 95% кандидозов вызвано штаммами *Candida albicans*. Высокая инфекционная активность вида связана с огромным количеством разнообразных факторов вирулентности: высокая степень адгезии, вырабатываемые ими секреторные аспарагиновые протеиназы и т.д. [1, 2].

Несмотря на огромный спектр антисептиков и антибиотиков, актуальным остается поиск новых соединений, обладающих эффективным действием в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий и грибов. В этом направлении приоритетным является использование нанотехнологий, в частности металлических наночастиц в наноразмерном диапазоне. Особая роль принадлежит наночастицам серебра, которые обладают выраженным бактерицидным, антисептическим действием и являются эффективными обеззараживающими агентами в отношении широкого спектра условно-патогенных и патогенных микроорганизмов [3, 4].

По данным многочисленных исследований показано, что наночастицы серебра, являющиеся составляющими агентами новых препаратов, обладают выраженным антимикотическим действием для местного лечения гнойно-воспалительных



осложнений в послеоперационном периоде, трофических язв, инфицированных ожогов, а также по отношению к возбудителям воспалительных процессов в тканях пародонта [5, 6].

При этом одной из важнейших проблем является синтез достаточно стабильных наночастиц заданного размера, в течение длительного времени сохраняющих высокую химическую или биологическую активность. Поэтому при разработке методов синтеза наночастиц большое внимание уделяется выбору стабилизаторов, которые и определяют уровень их стабильности.

Одним из перспективных методов синтеза металлических наночастиц является их химическое восстановление в водном растворе стабилизатора за счет депротонированной формы кверцетина (заявление на выдачу патента № 2016117030).

В связи с вышеизложенным целью данного исследования явилось изучение зависимости противогрибковой активности наночастиц серебра от используемого стабилизатора.

Материалы и методы

В работе использовались растворы наночастиц серебра, стабилизированных полимерными соединениями: карбоксиметилцеллюлозой (Ag/CMC) и поливиниловым спиртом (Ag/PVA) [7]. Содержание наночастиц в растворах составляло 0,5 г/л. Согласно авторской методике синтеза наночастиц, в процессе восстановления кверцетин передает валентный электрон иону серебра, тем самым восстанавливая его до металлического состояния. Атомы металлического серебра объединяются в кластеры, размер которых ограничивается стабилизатором. Стабилизатор в растворенной форме образует в воде супрамолекулярную систему, которая представляет собой наноразмерные полости, в которых происходит восстановление. Размер полостей регулируется количеством стабилизатора, которое выбирается в зависимости от его природы.

В результате восстановления формируется кристалл металлического серебра, на поверхности которого адсорбируются молекулы стабилизатора. Также молекулы стабилизатора пассивируют поверхность кристалла и предотвращают окисление кристалла кислородом, растворенным в воде.

В качестве экспериментальной модели использовали стандартный и клинические штаммы дрожжеподобных грибов *Candida albicans*. Диапазон концентраций растворов наночастиц серебра составлял 3; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125%.

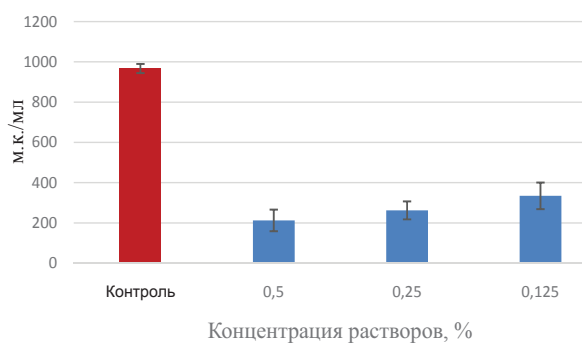
Антимикотическую активность исследуемых растворов изучали с использованием метода серийных разведений в плотной питательной среде, в

качестве которой использовали среду Сабуро (МУК 4.2.1890-04) [8]. Посевы культивировали в течение 48 часов при температуре 37°C. Учет результатов проводили путем подсчета количества колониеобразующих единиц на чашках Петри и определения количества микробных клеток в 1 мл (м.к./мл).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась при помощи пакета программ STATISTICA 6,0 с подсчетом средних значений (M), среднеквадратичных ошибок (m) и уровня достоверности (p).

Результаты и их обсуждение

В ходе проведенных исследований было установлено, что растворы наночастиц серебра проявляли фунгицидную активность в отношении как стандартного, так и клинических штаммов *C. albicans* в диапазоне концентраций от 3 до 1% вне зависимости от стабилизатора, за исключением 1%-ного раствора наночастиц серебра, стабилизированного поливиниловым спиртом, который проявил частично фунгицидное действие в отношении клинического штамма *C. albicans* № 4. Статистически достоверное снижение количества микробных клеток отмечалось при действии концентраций 0,5; 0,25 и 0,125% раствора наночастиц серебра, стабилизированного поливиниловым спиртом ($p < 0,001$), что приводило к снижению данного показателя в 5,2–2,7 раза соответственно по сравнению с контрольными значениями (рис. 1).



Ри. 1. Действие раствора наночастиц серебра, стабилизированного поливиниловым спиртом, на стандартный и клинические штаммы *C. albicans*

При действии раствора наночастиц серебра, стабилизированного карбоксиметилцеллюлозой, в отношении как стандартного, так и клинических штаммов *C. albicans* фунгицидный эффект был выявлен в концентрациях 3; 2; 1 и 0,5%. Исключением явился клинический штамм *C. albicans* № 1, для которого отмечен частично фунгицидный эффект при действии 0,5% раствора Ag/CMC.



При этом количество микробных клеток снижалось в 5,2 раза по сравнению с контрольными значениями.

Более низкие концентрации раствора наночастиц серебра, стабилизированного карбоксиметилцеллюлозой, в частности 0,25%, также приводили к статистически достоверному снижению числа микробных клеток в 1,6 раза ($p < 0,05$) вне зависимости от штамма *C. albicans* по сравнению с контролем, что свидетельствовало о частично фунгицидном действии (рис. 2). Воздействие минимальной рабочей концентрации раствора наночастиц серебра, стабилизированного карбоксиметилцеллюлозой, не вызывало достоверного снижения количества клеток по сравнению с контрольными значениями.

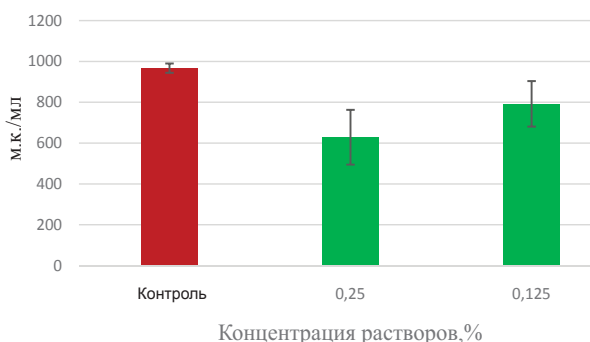


Рис. 2. Действие раствора наночастиц серебра, стабилизированного карбоксиметилцеллюлозой, на стандартный и клинические штаммы *C. albicans*

Полученные нами результаты позволили установить, что растворы наночастиц серебра, стабилизированные как синтетическим, так и натуральным полимерами, оказывают фунгицидное действие только при относительно высоких концентрациях, что свидетельствует о меньшей чувствительности клеток грибов по сравнению с бактериальными клетками [9]. Вероятно, это связано с особенностями строения их клеточной стенки, однако данное предположение требует более детального изучения.

Использование стабилизаторов в процессе синтеза наночастиц серебра обеспечивает создание защитного органического покрытия, которое экранирует неорганическое ядро металла от контакта с водной средой и снижает вероятность агломерации наночастиц, что способствует повышению коллоидной стабильности их водных дисперсий [7]. Используемая в исследовании карбоксиметилцеллюлоза является натуральным полимерным соединением и не обладает антимикробной активностью. Для поливинилового спирта, как синтетического по-

лимера, в исследованиях ряда авторов показан широкий спектр антимикробного действия [10]. Вероятно, помимо стабилизирующего эффекта, Ag/PVA обеспечивал синергидный эффект дисперсии наночастиц серебра, что проявлялось в большей эффективности данной дисперсии в отношении стандартного и клинических штаммов *C. albicans*.

Таким образом, растворы наночастиц серебра, стабилизированные полимерными соединениями, можно рассматривать в качестве перспективных компонентов антимикотических препаратов для лечения местных поражений, вызванных микроскопическими грибами, в медицинской и ветеринарной практике.

Список литературы

1. Канустина О. А., Карташова О. Л. Факторы патогенности грибов рода *Candida* и возможность их регуляции эфирными маслами // Бюл. Оренбург. науч. центра УрО РАН (электрон. журн.). 2013. № 1. С. 1–10.
2. Naglik J. R., Challacombe S. J., Hube B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2003. Vol. 67, № 3. P. 400–428.
3. Кутырева М. П., Гатаулина А. Р., Медведева О. И. Биохимическая активность композиционных составов наночастиц биофильных металлов и гиперразветвленных полиэфирополиолов // Бутлеровские сообщения. 2013. Т. 34, № 6. С. 22–29.
4. Петрицкая Е. Н., Рогаткин Д. А., Русанова Е. В. Сравнительная характеристика антибактериального действия препаратов серебра и наносеребра in vitro // Альманах клинической медицины. 2016. № 44 (2). С. 221–226.
5. Бабушкина И. В., Мамонова И. А., Гладкова Е. В. Обоснование комплексного подхода к местному лечению гнойно-воспалительных осложнений // Междунар. журн. прикладных и фундаментальных исследований. 2017. № 4–3. С. 501–505.
6. Белоклицкая Г. Ф., Павленко Э. М., Руденко А. В. Изучение бактерицидной активности препаратов серебра по отношению к возбудителям воспалительных процессов в тканях пародонта // Современная стоматология. 2014. № 5. С. 18–22.
7. Николаев А. Ф., Мосягина Л. П. Поливиниловый спирт и сополимеры винилового спирта в медицине // Пластические массы. 2000. № 3. С. 34–42.
8. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам // МУК 4.2.1890-04. М.: Изд. отд. Федер. центра Госсанэпиднадзора Минздрава РФ, 2004. 91 с.
9. Шульгина Т. А., Нечаева О. В. Анализ эффективности действия нанопрепаратов в составе водных растворов на биологическую активность грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов // Вестн. Костром. гос. ун-та им. Н. А. Некрасова. 2014. № 4. С. 31–36.



10. Пасько Д. А., Кириченко А. В. Молекулярно-динамическое моделирование взаимодействия поливинилового спирта с наночастицей серебра // Вісн. Харк. нац. ун-ту, сер. Хімія. 2015. Вып. 25, № 48. С. 29–38.

Antimycotic Activity of Silver Nanoparticles Depending on the Stabilizer Used

**T. A. Shulgina, O. V. Nechaeva, E. V. Glinskaya,
N. I. Daryin, A. S. Torgashova, D. A. Teslyuk,
A. V. Babailova, E. A. Panfilova**

Tatiana A. Shulgina, ORCID 0000-0003-3945-5910, Research institute of traumatology, orthopedics and neurosurgery of the Saratov State Medical University, 148, Chernyshevsky Str., Saratov, 410002, Russia, tshulgina2012@yandex.ru

Olga V. Nechaeva, ORCID 0000-0003-3331-1051, Saratov State Technical University, 77, Polytechnicheskaya Str., Saratov, 410054, Russia, olgav.nechaeva@rambler.ru

Elena V. Glinskaya, ORCID 0000-0002-1675-5438, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, elenavg-2007@yandex.ru

Nikolay I. Daryin, ORCID 0000-0002-7836-0909, «M9», 10, Komzin Str., Togliatti, 445002, Russia, nickel@nmt-9.com

Anna S. Torgashova, ORCID 0000-0003-0996-6840, Saratov State Medical University, 112, Bolshaya Kazachia Str., Saratov, 410012, Russia, gekon_toki@mail.ru

Dmitry A. Teslyuk, ORCID 0000-0002-7480-9369, Institute Ecology of Volga River Basin RAS, 10, Komzin Str., Togliatti, 445003, Russia, Dy@nmt-9.com

Anastasia V. Babailova, ORCID 0000-0002-8984-1441, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, anastasya.babailova@mail.ru

Ekaterina A. Panfilova, ORCID 0000-0001-8605-2802, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, epanfilova96@mail.ru

In the last decade, a large number of factual data about the steadily increasing complications caused by gram-positive and gram-negative microorganisms, as well as caused by fungi of the genus *Candida*, have been obtained. The developed situation was a powerful stimulus for the search and creation of new products containing substances with pronounced chemical-physical properties and high biological activity. The modern and promising direction was the using of nanotechnology, in particular, metallic nanoparticles. It is known, that metal nanoparticles have specific properties, depending on the method of chemical synthesis and the stabilizing polymer. Literature sources show that the antimicrobial effect of silver nanoparticles is due to their binding to the structural components of cell membranes, which in turn is accompanied with damaging of the membrane and microbial cell death. An experimental study of the antimycotic action of solutions of silver nanoparticles stabilized by synthetic (polyvinyl alcohol) and natural (carboxymethylcellulose) polymers against standard and clinical strains of yeast-like fungi *Candida albicans* was carried out. It was found that solutions of silver nanoparticles showed fungicidal activity against both standard and clinical strains of *C. albicans* in the concentration range from 3 to 1% irrespective of the stabilizer.

Key words: *Candida albicans*, solutions of silver nanoparticles, polymeric stabilizers.

Образец для цитирования:

Шульгина Т. А., Нечаева О. В., Глинская Е. В., Дарьин Н. И., Торгашова А. С., Теслюк Д. А., Бабайлова А. В., Панфилова Е. А. Антимикотическая активность наночастиц серебра в зависимости от используемого стабилизатора // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 465–468. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-465-468.

Cite this article as:

Shulgina T. A., Nechaeva O. V., Glinskaya E. V., Daryin N. I., Torgashova A. S., Teslyuk D. A., Babailova A. V., Panfilova E. A. Antimycotic Activity of Silver Nanoparticles Depending on the Stabilizer Used. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 465–468 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-465-468.



ЭКОЛОГИЯ

УДК 502.51:504.5

ОЦЕНКА УРОВНЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДЫ, ПРОЦЕССОВ НИТРИФИКАЦИИ И САМООЧИЩЕНИЯ ОТ ИОНОВ АММОНИЯ В МАЛОМ ВОДОТОКЕ ИЛЕВНЫ

А. Ю. Шаров, С. М. Чеснокова, Т. А. Трифонова

Шаров Алексей Юрьевич, аспирант кафедры биологии и экологии, Владимирский государственный университет имени А. Г. и Н. Г. Столетовых. E-mail: Sharov.biolog@yandex.ru

Чеснокова Светлана Михайловна, кандидат химических наук, профессор кафедры биологии и экологии, Владимирский государственный университет имени А. Г. и Н. Г. Столетовых. E-mail: Chesnokova.chemist@mail.ru

Трифопова Татьяна Анатольевна, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник кафедры географии почв, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова. E-mail: tatrifon@mail.ru

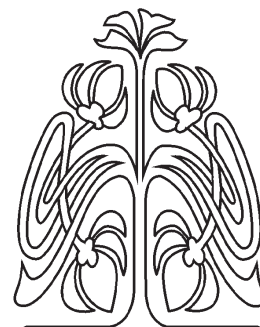
В работе представлены данные по содержанию в воде р. Илевны основных анионов и катионов, тяжёлых металлов и ионов аммония в донных отложениях. Установлено, что большинство исследованных показателей находится в рамках их предельно допустимых концентраций. Превышения этих значений регистрировались по четырём параметрам. По фосфатам превышение предельно допустимой концентрации установлено в истоке. По фторид-иону превышение норматива выявлено в точке отбора, расположенной выше впадения р. Картын. По железу предельно допустимые значения превышены в устье реки Илевна. Превышение предельно допустимой концентрации по меди выявлено в зоне влияния д. Лазорево, выше впадения р. Мокрой и устьевом створе. Дана оценка токсичности воды по величине агрегационного индекса и процессов самоочищения по величине индекса нитрификации в экосистеме водотока. Показано, что воды р. Илевны характеризуются отсутствием токсичности почти на всём её протяжении. Слабая токсичность воды регистрировалась только после впадения р. Унулка. Установлено, что самоочищающая способность реки варьирует от очень низкой до высокой. Это обусловлено особенностями гидрологического режима водотока в местах отбора проб, а также может быть связано с синергическими эффектами различных сочетаний тяжёлых металлов и биогенных элементов. На большей части своего протяжения водоток характеризуется средней самоочищающей способностью. Изучены корреляционные зависимости между индексом нитрификации и некоторыми компонентами воды. Хорошие положительные корреляции выявлены между индексом нитрификации и сульфат-ионом. Отрицательные корреляции установлены у индекса нитрификации с железом и калием.

Ключевые слова: основные анионы и катионы, токсичность воды, самоочищающая способность, корреляционные зависимости.

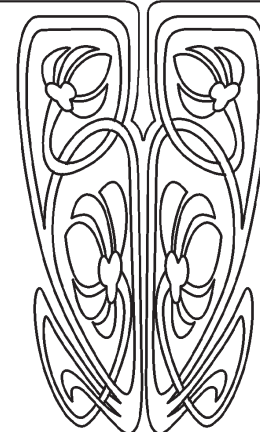
DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-469-474

Введение

Значительная часть малых рек Владимирской области испытывает постоянную антропогенную нагрузку, так как они являются основными приёмниками загрязняющих веществ (ЗВ), поступающих со сточными водами сельскохозяйственных и промышленных предприятий, коммунальных хозяйств, с талыми водами и ливнёвыми стоками с территорий населённых пунктов, а также с поверхностным стоком с пастбищ и сельхозугодий [1].



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





Кроме того, происходит вторичное загрязнение вод из донных отложений, длительно аккумулирующих ЗВ из водной фазы.

Основными компонентами указанных стоков являются соединения биогенных элементов, тяжёлые металлы, синтетические поверхностно-активные вещества, нефтепродукты, что приводит к нарушению в них процессов самоочищения, к эвтрофикации и токсификации [2, 3]. В связи с этим представляла интерес оценка уровня загрязнения, токсичности процессов самоочищения в экосистеме малого водотока Илевны.

Объекты и методы

Илевна – левый приток р. Оки, длина водотока 41 км, площадь водосбора 861 км². Исток реки расположен у пос. Булатниково Муромского района Владимирской области, устье – у с. Карачарово. Бассейн водотока полностью располагается на территории Муромского Предочья – самой распаханной части Мещёрской провинции подтайги Русской равнины на территории Владимирской области. Верховья реки расположены почти в сплошь распаханной его северной части (рис. 1).

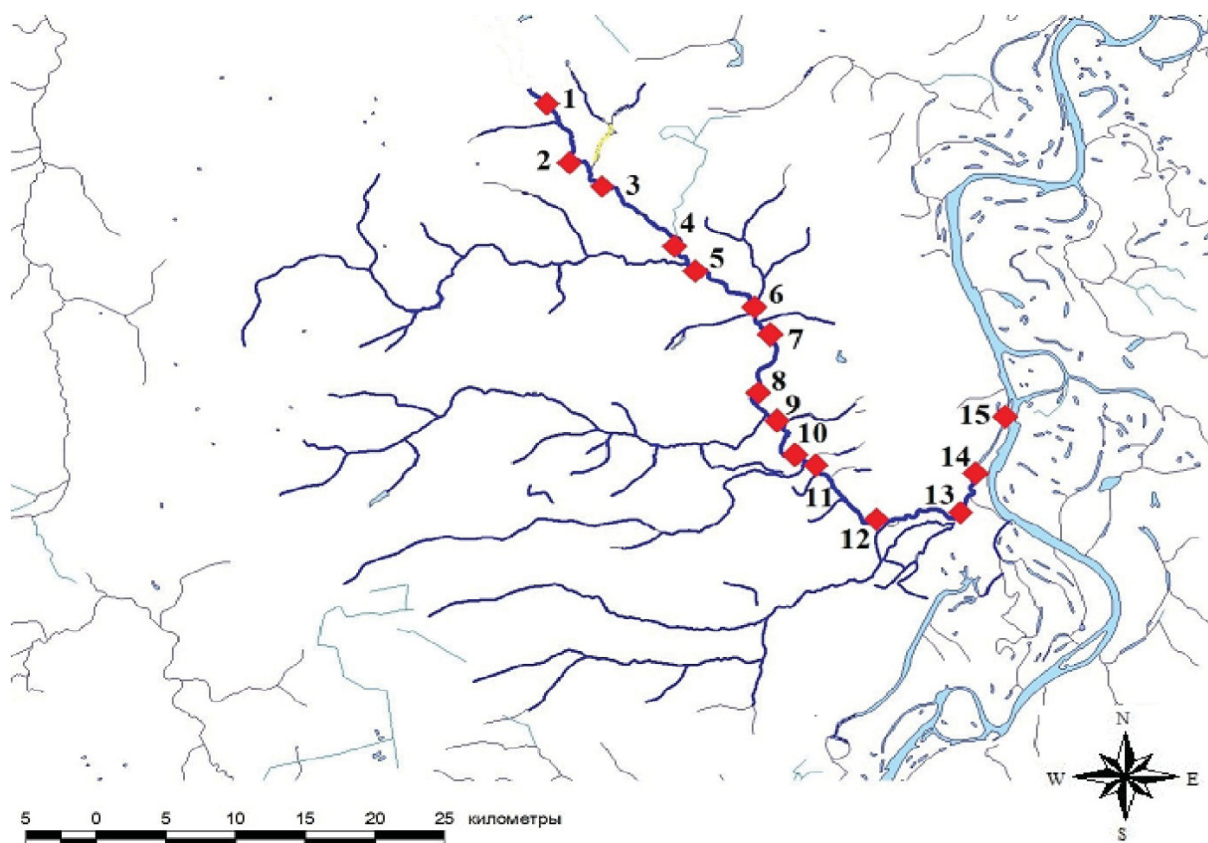


Рис. 1. Карта-схема мест отбора проб воды и донных отложений из р. Илевна: 1 – зона влияния с. Зимёнки; 2 – до вп. р. Унулка; 3 – после вп. р. Унулка; 4 – до вп. р. Картынь; 5 – после вп. р. Картынь; 6 – после вп. р. Коварда; 7 – зона влияния д. Лазарево; 8 – зона влияния д. Черемисино; 9 – после вп. р. Жерновка; 10 – зона влияния мкр. Вербовский; 11 – зона влияния МПЗ; 12 – до вп. р. Мокрая; 13 – после вп. р. Мокрая; 14 – зона влияния с. Панфилово; 15 – устье, (с. Карачарово)

Основными загрязнителями правых притоков реки являются стоки с сельхозугодий и сельских поселений. В пределах водосборных территорий притоков Жерновка и Чёрная располагается муниципальная свалка твердых бытовых отходов (ТБО) г. Муром. В р. Унулку – левый приток р. Илевны, поступают сточные воды очистных сооружений с. Зимёнки, приток Вербовка загрязняется стоками жилищно-коммунального

хозяйства и ливневой канализации мкр. Вербовский. В р. Илевну и её притоки поступают также сточные воды предприятий г. Муром («Муромский приборостроительный завод» и завод «Муром-тепловоз»). Кроме перечисленных источников, значительный вклад в загрязнение водотока вносят стоки с многочисленных несанкционированных свалок ТБО, расположенных в пойме реки и по её берегам.



Отбор проб воды проводили по ГОСТ 51592 – 2000, донных отложений – по ГОСТ 17.1.5.01 – 80. Тяжёлые металлы в воде определяли атомно-абсорбционным методом с использованием прибора КВАНТ.З-ЭТА (РД 52.24.377-95). Содержание в воде основных катионов и анионов определяли с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель-104Т» (ПНДФ 14.1.2:4.15-7-99). Содержание ионов аммония в донных отложениях определялось в их солевых вытяжках, экстрагированных 0,05М NaCl, фотометрически по интенсивности окрашивания йодистого ртутиаммония в щелочной среде (ПНДФ 14.1:2.1-95).

Самоочищающую способность экосистемы водотока оценивали по интенсивности процессов нитрификации в воде. Интенсивность процессов нитрификации $I_{нитр}$ определяли по отношению концентрации азота нитратного $N(NO_3^-)$ к концентрации азота общего минерального $N_{мин}$. [4].

$$I_{нитр} = N(NO_3^-) \cdot 100 / N_{мин}, \%$$

где $N_{мин} = N(NO_3^-) + N(NO_2^-) + N(NH_4^+)$.

Токсичность воды оценивали по величине агрегационного индекса $I_{агр}$ [5]:

$$I_{агр} = \sum \frac{C_i}{ПДК_i};$$

где C_i – концентрации в воде различных соединений азота, мг/дм³; ПДК_{*i*} – предельно допустимые концентрации (ПДК) этих соединений азота для водных объектов рыбохозяйственного значения, мг/дм³.

Способность к самоочищению от ионов аммония оценивали по [6].

Результаты и их обсуждение

Воды р. Илевны имеют нейтральную или слабощелочную реакцию, среднюю жёсткость (3,3–5,5 мольэкв/дм³), невысокий уровень загрязнения соединениями железа и характеризуются достаточно высоким содержанием ионов кальция и магния (табл. 1).

Таблица 1

Концентрация основных катионов в воде и донных отложениях р. Илевны, мг/дм³

Места отбора проб*	Ca ²⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Na ⁺	Mg ²⁺	NH ₄ ⁺ в ДО, мг/кг
1	11,2±0,4	0,17±0,019	1,49±0,03	4,60±0,01	20,42±0,65	2,01±0,17
2	48,0±0,8	0,15±0,053	0,97±0,10	3,52±0,15	17,76±0,54	3,40±0,21
3	48,8±3,1	0,12±0,012	0,81±0,09	3,50±0,09	17,95±0,47	2,47±0,19
4	56,3±6,6	0,22±0,015	1,20±0,27	4,67±0,12	18,05±0,37	2,62±0,20
5	50,8±1,2	0,21±0,019	1,07±0,07	3,80±0,03	18,30±0,48	2,14±0,20
6	46,8±2,4	0,30±0,042	1,87±0,01	4,61±0,06	14,63±0,30	3,17±0,24
7	47,6±0,5	0,14±0,048	1,90±0,17	7,86±2,17	15,22±0,26	3,47±0,26
8	48,5±3,6	0,16±0,067	1,82±0,09	6,90±0,12	14,95±0,32	2,08±0,21
9	49,1±3,6	0,17±0,026	1,76±0,09	6,47±0,08	14,67±0,27	1,93±0,11
10	52,8±1,4	0,17±0,029	1,66±0,11	8,23±0,26	17,15±0,08	2,61±0,16
11	53,4±5,0	0,19±0,044	1,91±0,08	11,08±0,20	18,84±0,59	2,37±0,13
12	56,9±1,7	0,19±0,053	1,56±0,13	10,65±0,07	19,34±0,90	2,98±0,17
13	56,6±0,6	0,15±0,018	1,77±0,06	11,35±0,12	18,73±0,14	2,16±0,10
14	55,6±2,9	0,16±0,098	1,59±0,07	12,37±0,19	18,43±0,72	2,72±0,14
15	58,2±6,8	0,22±0,061	1,97±0,19	12,65±1,39	18,94±3,21	1,76±0,08
ПДКр	180	0,5	50	120	40	

Примечание. *Места отбора проб воды и донных отложений отмечены на карте-схеме (см. рис. 1).

Из табл. 1 видно, что концентрации катионов в воде реки ниже рыбохозяйственных ПДК.

В табл. 2 представлены результаты определения концентрации основных анионов в воде реки.

Данные табл. 2 свидетельствуют о том, что содержание большинства анионов ниже ПДКр. Превышение ПДК по фосфатам в истоке объясняется непосредственной близостью к

водотоку возделываемых угодий и их смывом в водоток поверхностными и тальными водами. Содержание фторидов немногим ниже уровня ПДК практически на всём протяжении водотока и его превышение в 4-метровом (до впадения р. Картынь) створе, по видимому, обусловлено их природным происхождением.

В табл. 3 представлены концентрации тяжёлых металлов в водах реки.



Таблица 2

Концентрация основных анионов в воде р. Илевны, мг/дм³

№ створа*	Хлориды	Сульфаты	Нитраты	Фториды	Фосфаты	Нитриты
1	10,74±0,38	5,19±2,00	0,02	0,14±0,01	0,28±0,12	–
2	9,16±0,31	33,53±8,30	11,61±1,22	0,67±0,05	0,10±0,06	0,03
3	9,99±0,10	38,91±2,03	11,26±1,52	0,70±0,01	0,08±0,01	0,06
4	10,23±0,11	40,79±3,84	5,33±0,53	0,76±0,15	0,08±0,03	0,01
5	5,18±0,22	18,36±0,30	4,18±0,13	0,70±0,03	0,12±0,02	–
6	7,16±0,15	19,86±1,33	3,00±0,33	0,57±0,03	0,10±0,05	0,01
7	11,97±0,82	21,21±1,34	2,97±0,39	0,59±0,01	0,11±0,05	–
8	11,67±1,01	22,81±3,00	3,31±0,46	0,60±0,03	0,10±0,01	0,01
9	10,50±0,50	19,63±1,31	3,46±0,38	0,59±0,02	0,11±0,02	–
10	11,46±0,54	25,70±2,76	5,83±0,38	0,67±0,03	0,12±0,04	–
11	12,85±0,40	30,62±3,41	5,97±1,62	0,70±0,01	0,15±0,01	0,04
12	12,46±0,19	30,82±2,92	3,90±0,51	0,68±0,02	0,16±0,01	–
13	14,93±0,42	31,04±2,27	4,92±0,70	0,72±0,03	0,13±0,01	–
14	18,91±0,29	33,78±1,14	4,28±0,14	0,71±0,03	0,16±0,05	–
15	16,23±0,65	33,77±1,37	3,25±0,17	0,70±0,01	0,17±0,04	–
ПДКр	300	100	40	0,75	0,2	0,08

Примечание. *Обозначения см. на рис. 1.

Таблица 3

Концентрация тяжёлых металлов в воде р. Илевны, мкг/дм³

№ створа*	Cr	Cu	Pb	As	Fe
1	0,22±0,02	0,58±0,05	0,92±0,09	1,23±0,12	31,53±3,05
2	1,39±0,09	0,36±0,03	0,21±0,02	1,19±0,12	13,59±1,30
3	1,02±0,08	0,38±0,04	0,59±0,59	0,95±0,08	27,70±2,48
4	0,28±0,02	0,59±0,06	0,30±0,03	0,89±0,09	80,02±7,87
5	0,66±0,05	0,24±0,02	0,26±0,02	0,86±0,08	26,67±2,42
6	0,34±0,03	0,97±0,10	0,50±0,05	0,73±0,07	70,54±7,01
7	0,22±0,02	1,55±0,10	0,36±0,03	0,63±0,05	73,62±6,89
8	0,38±0,04	0,45±0,04	0,20±0,02	0,77±0,07	46,14±4,39
9	0,34±0,03	0,05	0,19±0,02	0,86±0,07	34,23±3,11
10	0,29±0,03	0,33±0,03	0,20±0,02	1,01±0,09	39,37±3,53
11	0,27±0,03	0,29±0,03	0,38±0,04	0,91±0,09	29,93±2,66
12	0,44±0,04	1,07±0,09	2,82±0,03	0,84±0,07	60,18±5,84
13	0,35±0,03	0,64±0,05	2,14±0,02	0,63±0,06	78,14±7,25
14	0,29±0,02	0,65±0,06	1,65±0,13	0,75±0,07	71,92±6,40
15	0,61±0,06	1,49±0,10	2,12±0,19	1,01±0,10	104,39±9,29
ПДКр	70	1	6	50	100

Примечание. *Обозначения см. на рис. 1.

Данные табл. 3 показывают, что содержание в воде р. Илевны тяжёлых металлов также значительно ниже рыбохозяйственных ПДК. Только содержание меди в створах 7, 12 и 15, а также железа в устьевом створе превышают эти значения. Превышение меди в 7-й точке отбора вызвано влиянием притока Молондайка, в который посту-

пают промышленные сточные воды завода «Муром-тепловоз», в 12-й точке – влиянием сточных вод Муромского приборостроительного завода, в устьевом створе – влиянием с. Панфилово или вторичным загрязнением вод реки.

На рис. 2 представлена динамика агрегационного индекса в экосистеме р. Илевны.

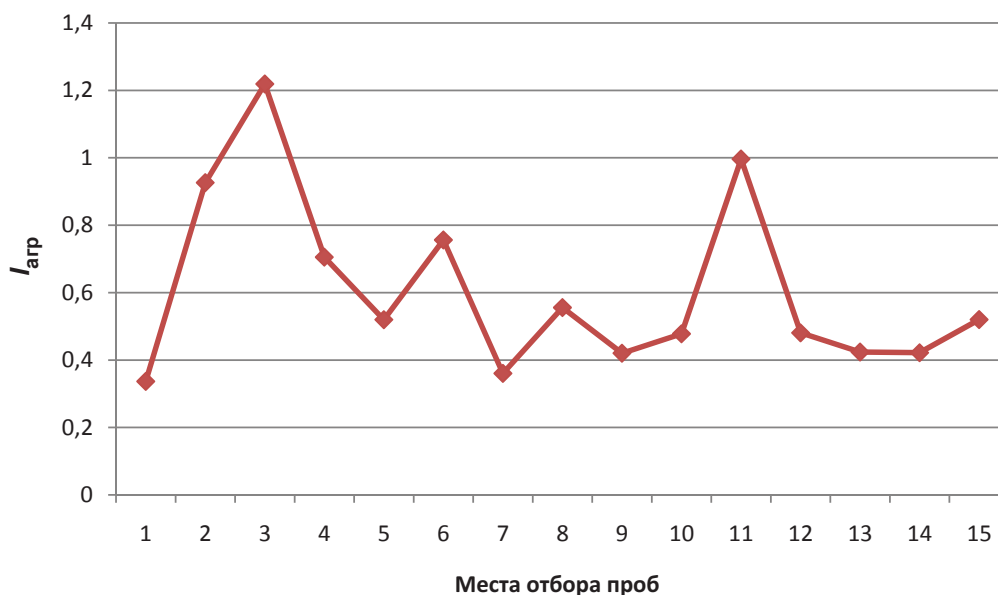


Рис. 2. Динамика агрегационного индекса в экосистеме р. Илевны

Из рис. 2 следует, что для большинства пунктов отбора проб агрегационный индекс не превышает единицы, что свидетельствует об

отсутствии токсичности. Слабая токсичность наблюдается в пункте 3 ($I_{agr}=1,22$), что связано с высоким содержанием в этой точке нитрит-ионов.

Таблица 4

Динамика индекса нитрификации и самоочищающей способности экосистемы р. Илевны

Места отбора проб*	Агрегационный индекс	Индекс нитрификации, %	Способность к самоочищению
1	0,34	3,98	Очень низкая
2	0,93	95,47	Высокая
3	1,22	95,75	
4	0,71	87,47	Средняя
5	0,52	85,39	
6	0,76	74,38	Ниже средней
7	0,36	85,79	
8	0,56	85,69	Средняя
9	0,42	85,73	
10	0,48	91,07	
11	1,00	89,35	
12	0,48	85,51	
13	0,42	90,48	Ниже средней
14	0,42	88,77	
15	0,52	81,11	

Примечание. *Обозначения см. на рис. 1.

Табл. 4 содержит данные по динамике интенсивности процессов нитрификации и самоочищающей способности в экосистеме р. Илевны. Максимальное значение индекса нитрификации 95,47% характерно для пункта 2 (до впадения р. Унулка), минимальное – 3,98% (пункт 1, исток, зона влияния с. Зимёнки). Способность реки к

самоочищению изменяется от очень низкой до высокой. Половина образцов из створов характеризуется средней самоочищающей способностью.

В табл. 5 представлены корреляционные зависимости между индексом нитрификации и некоторыми гидрохимическими показателями вод р. Илевны.



Таблица 5

Корреляционные зависимости в р. Илевне, $p < 0,05$

Корреляционные зависимости	Коэффициент корреляции
$I_{\text{нитр}} - \text{SO}_4^{2-}$	0,82
$I_{\text{нитр}} - \text{PO}_4^{3-}$	-0,74
$I_{\text{нитр}} - \text{K}^+$	-0,67

Индекс нитрификации хорошо коррелирует с содержанием в воде сульфат-ионов, удовлетворительно – с содержанием фосфат-ионов и ионов калия.

Выводы

Таким образом, несмотря на низкое содержание основных катионов, анионов и тяжёлых металлов в воде р. Илевны (ниже ПДКр), водоток характеризуется чрезвычайно высокой неоднородностью процессов нитрификации и самоочищающей способности, что, вероятно, связано с синергетическими эффектами различных сочетаний тяжёлых металлов и биогенных элементов, а также с особенностями гидрологического режима водотока в местах отбора проб. По величине агрегационного индекса воды реки характеризуются слабой токсичностью.

Список литературы

1. Астахов П. А. Состояние бассейнов малых рек Владимирской области // Экология речных бассейнов : тр. междунар. науч.-практ. конф. / под общ. ред. Т. А. Трифоновой. Владимир : Владим. гос. ун-т, 2009. С. 13–20.
2. Нежиховский Р. П. Гидролого-экологические основы водного хозяйства. СПб. : Гидрометиздат, 2009. 228 с.
3. Хрисанов Н. И., Осипов Г. К. Управление эвтрофированием водоёмов. СПб. : Гидрометиздат, 1993. 279 с.
4. Савельев О. В., Чеснокова С. М. Оценка допустимой антропогенной нагрузки малых водотоков по их самоочищающей способности // Проблемы региональной экологии. 2011. № 1. С. 6–12.
5. Лаврентьева Г. В., Рева Е. В., Сынзыныс Б. И., Мирзеабасов О. А., Рогоуленко А. В. Технология оценки экологического риска для малой реки // Вестн. Российской академии наук. 2011. № 4. С. 28–36.

Образец для цитирования:

Шаров А. Ю., Чеснокова С. М., Трифонова Т. А. Оценка уровня загрязнения воды, процессов нитрификации и самоочищения от ионов аммония в малом водотоке Илевна // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 469–474. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-469-474.

Cite this article as:

Sharov A. U., Chesnokova S. M., Trifonova T. A. Assessment of Water Pollution Level, Processes of a Nitrification and Self-Treating of Ammonium Ions in a Small Water Reservoir of Ilevna. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 469–474 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-469-474.

6. Злышко А. С. Исследование загрязнения и самоочищающей способности малых водотоков урбанизированных территорий : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владимир, 2013. 23 с.

Assessment of Water Pollution Level, Processes of a Nitrification and Self-Treating of Ammonium Ions in a Small Water Reservoir of Ilevna

A. U. Sharov, S. M. Chesnokova, T. A. Trifonova

Alexey U. Sharov, ORCID 0000-0001-7279-7192, Vladimir State University, 87, Gorkiy Str., Vladimir, 60000, Russia, Sharov.biolog@yandex.ru

Svetlana M. Chesnokova, ORCID 0000-0001-5126-1786, Vladimir State University, 87, Gorkiy Str., Vladimir, 60000, Russia, Chesnokova.chemist@mail.ru

Tatiana A. Trifonova, ORCID 0000-0002-1628-9430, Moscow State University, Leninskiye Gory, Moscow, 119991, Russia, tatrifon@mail.ru

In work data on content in Ilevna river's water of the main anions and cations, heavy metals are submitted. The majority of the studied indicators within their maximum permissible level has been established. Excesses of these values were registered in four parameters. For phosphates excess of maximum permissible level is established in a source. For fluoride ion excess of the standard is revealed in the point of selection located above confluence of the Kartynriver. Up to gland maximum permissible values are exceeded in the Ilevna river estuary. The maximum permissible level excess for copper is revealed in a zone of influence of Lazorevo, a higher than confluences of Mokrayariver and in estuarial alignment. The assessment of a toxicity of water in size of an aggregation index, and a self-cleaning processes in nitrification index size in a water current ecosystem has been given. Waters of the Ilevna River are characterized by absence of toxicity almost on all her extent has been shown. The weak toxicity of water was registered only after confluence of the Unulka River. The self-cleaning ability of the river varies from very low to high has been established. It is caused by features of the hydrological mode of a water reservoir in places of sampling and also can be connected with synergetic effects of various combinations of heavy metals and biogenic substances. Correlative dependences between a nitrification index and some components of the river's water has been studied. Good positive correlations are revealed between the nitrification index and sulfate ion. Negative correlations are established at the nitrification index with iron and potassium.

Key words: main anions and cations, toxicity of water, self-clearing ability, correlative dependences.



УДК 581.9

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИГРОМОРФНОГО СОСТАВА ВЕДУЩИХ СЕМЕЙСТВ ФЛОР РАЗНЫХ РЕГИОНОВ РОССИИ

А. В. Иванова



Иванова Анастасия Викторовна, научный сотрудник лаборатории проблем фиторазнообразия Института экологии Волжского бассейна РАН (Тольятти), кандидат биологических наук. E-mail: nastia621@yandex.ru

Каждое семейство высших сосудистых растений демонстрирует определенную степень экологической общности. В данной работе экологическая характеристика семейств оценивалась по соотношению групп гигроморф (экологических групп видов по отношению к условиям почвенного увлажнения). Гигроморфы являются частью общей системы экоморф растений, которая была разработана А. Л. Бельгардом. Характеристика семейств флоры Самарской области составлена на основе данных по 8 группам гигроморф. Для Самарской области выделено две основные гигроморфные группы семейств: «ксерофитная» (Brassicaceae, Chenopodiaceae, Asteraceae и Caryophyllaceae) и «мезофитная» (Rosaceae, Scrophulariaceae, Poaceae, Lamiaceae, Fabaceae и Boraginaceae). В географически удаленных флорах (Челябинская и Кировская области, а также Республика Мордовия) в связи с изменением видового состава и природных условий гигроморфные характеристики ведущих семейств флоры не сохраняются полностью. Количество видов в «мезофитной» группе возрастает по мере увеличения количества осадков на рассматриваемой территории. Все регионы, данные по флорам которых привлечены для сравнительного анализа, расположены в условиях более сильного увлажнения. Состав «ксерофитной» группы в географически удаленных флорах оказался значительно сокращен. Однако, следует отметить, что одни и те же семейства относительно друг друга характеризуются сходно.

Ключевые слова: экологическая характеристика семейств, гигроморфы, ведущие семейства флоры, условия увлажнения.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-475-480

Различают два типа классификаций живых организмов: искусственные и естественные. Естественная классификация, распределяя живые организмы по группам (таксонам), отражает их родство между собой. Таким образом, любая таксономическая категория объединяет группу видов, в определенной степени родственную. Как и вид – категория, к которой относится группа особей с общими признаками, семейство также характеризуется определенной степенью общности ряда признаков: морфологических, генетических, физиологических, в том числе и экологических. Поэтому численность видов в каком-либо семействе, положение семейства в спектре и состав самого семейственного спектра являются косвенными показателями экологических условий территории.

Экологическая характеристика семейств является суммой таковых слагающих его видов. Эти виды могут существенно отличаться по экологическим требованиям (отношение к температуре, влажности, освещенности и т.д.), поэтому не все семейства характеризуются однозначно. Однако дать некую общую характеристику возможно. Следует также отметить, что видовой состав одного и того же семейства в различных географических пунктах может существенно отличаться. Поэтому и экологические характеристики его изменятся. Кроме того, один и тот же вид может изменять характер взаимодействия с окружающей средой в различных условиях, например, при изменении значений других экологических факторов.

Отдельные виды между собой различаются по широте экологической амплитуды. По отношению к условиям почвенного увлажнения выделяется ряд экологических групп видов: ксерофиты, мезофиты, гигрофиты и т.д. [1]. При этом существуют типичные мезофиты: ландыш майский (*Convallaria majalis* L.), вороний глаз (*Paris quadrifolia* L.) и др. В то же время экологический портрет ряда видов не столь конкретен. Пастушья сумка (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik) произрастает в условиях, сильно отличающихся по параметрам основных экологических факторов [2]. Очевидно, поэтому на территории, имеющей большее увлажнение, данный вид характеризуется как мезофит [3], когда, попадая в соответствующие природные условия, приспосабливается к ним. В более сухих условиях пастушья сумка вполне довольствуется ксерофитными условиями [4]. Широкая экологическая пластичность вида объясняется наличием у него соответствующих адаптационных механизмов. Таким образом, будут различаться как экологические характеристики флор географически удаленных местностей, так и одних и тех же семейств в составе этих флор.

Для гигроморфной характеристики семейств флоры Самарской области выбрано 8 экологических групп видов по отношению к условиям почвенного увлажнения (гигроморф). Гигроморфы являются частью общей системы экоморф растений, которая была предложена еще А. П. Шенниковым, а затем разработана А. Л. Бельгардом [1].



Данная система была создана для условий степной зоны, но затем расширена и дополнена [5–7].

Экологическая характеристика семейств оценивалась в данной работе по соотношению групп гигроморф. Для этого в каждом семействе определялся процент содержания присутствующих в нем гигроморф. Рассматривалось 11 семейств, большая часть которых входит в десятку ведущих у европейских флор: Asteraceae, Poaceae, Fabaceae, Rosaceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae, Caryo-

phyllaceae, Lamiaceae, Boraginaceae, Cyperaceae, Scriphulariaceae.

Видовые списки семейств высших растений для Самарской области были квалифицированы по 4 основным (ксерофиты, мезофиты, гигрофиты, гидрофиты) и 4 промежуточным (гигромезофиты, мезогигрофиты, мезоксерофиты, ксеромезофиты) категориям гигроморф [4]. Распределение гигроморф с учетом всего видового состава для всей области выглядит следующим образом (рис. 1).

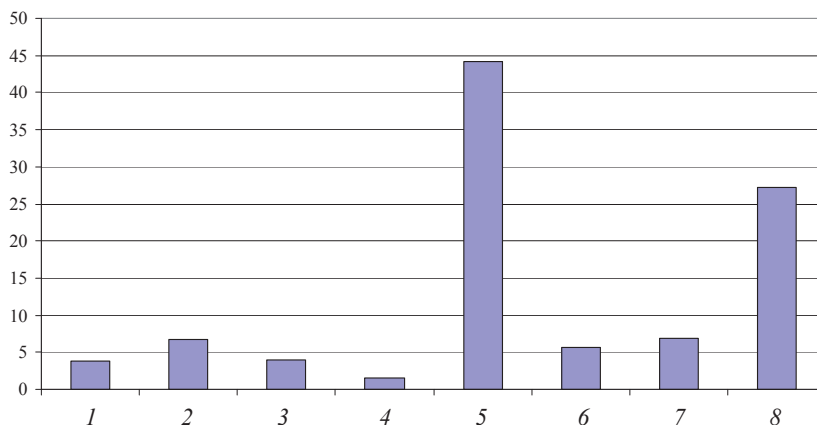


Рис. 1. Распределение видов флоры по группам гигроморф для Самарской области, %: 1 – гидрофиты, 2 – гигрофиты, 3 – гигромезофиты, 4 – мезогигрофиты, 5 – мезофиты, 6 – мезоксерофиты, 7 – ксеромезофиты, 8 – ксерофиты

С точки зрения режима увлажнения климат Самарской области характеризуется как засушливый, континентальный. Годовое количество осадков здесь колеблется от 450 мм на севере до 300 мм и менее – на юге [8]. Поэтому во флоре данной территории можно наблюдать значительное количество ксерофитов. Выделяется и вторая основная категория – мезофиты. Остальные категории, в том числе и переходные, не столь многочисленны.

Иначе выглядит картина распределения видового состава высших сосудистых растений Кировской области по основным экологическим группам [3]. Кировская область находится в зоне

избыточного увлажнения. Среднее годовое количество осадков составляет здесь 500–680 мм, и оно колеблется по районам [9]. Мезофитов гораздо больше, следующая по численности категория – гигрофиты. Их насчитывается достаточно много по причине большого количества на территории экотопов с повышенной влажностью. Группа ксерофитов очень малочисленна (рис. 2).

Очевидно, что такого рода спектр характеризует экологические условия рассматриваемой территории, а именно интенсивность увлажнения. Распределение всего видового состава по указанным группам характеризует территорию в целом.

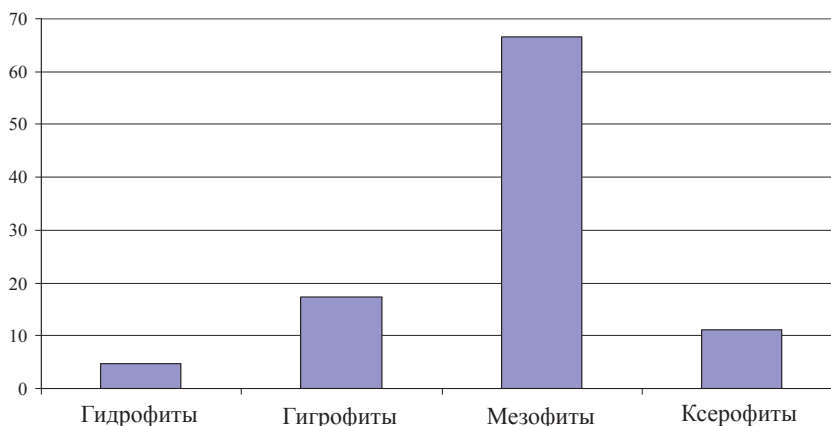


Рис. 2. Распределение видов флоры по группам гигроморф для Кировской области, %



Рассмотрим распределение видов по указанным экологическим группам внутри ведущих семейств для территории Самарской области

(рис. 3). Это позволит дать своеобразную экологическую характеристику семейств по отношению к увлажнению субстрата (почвы).

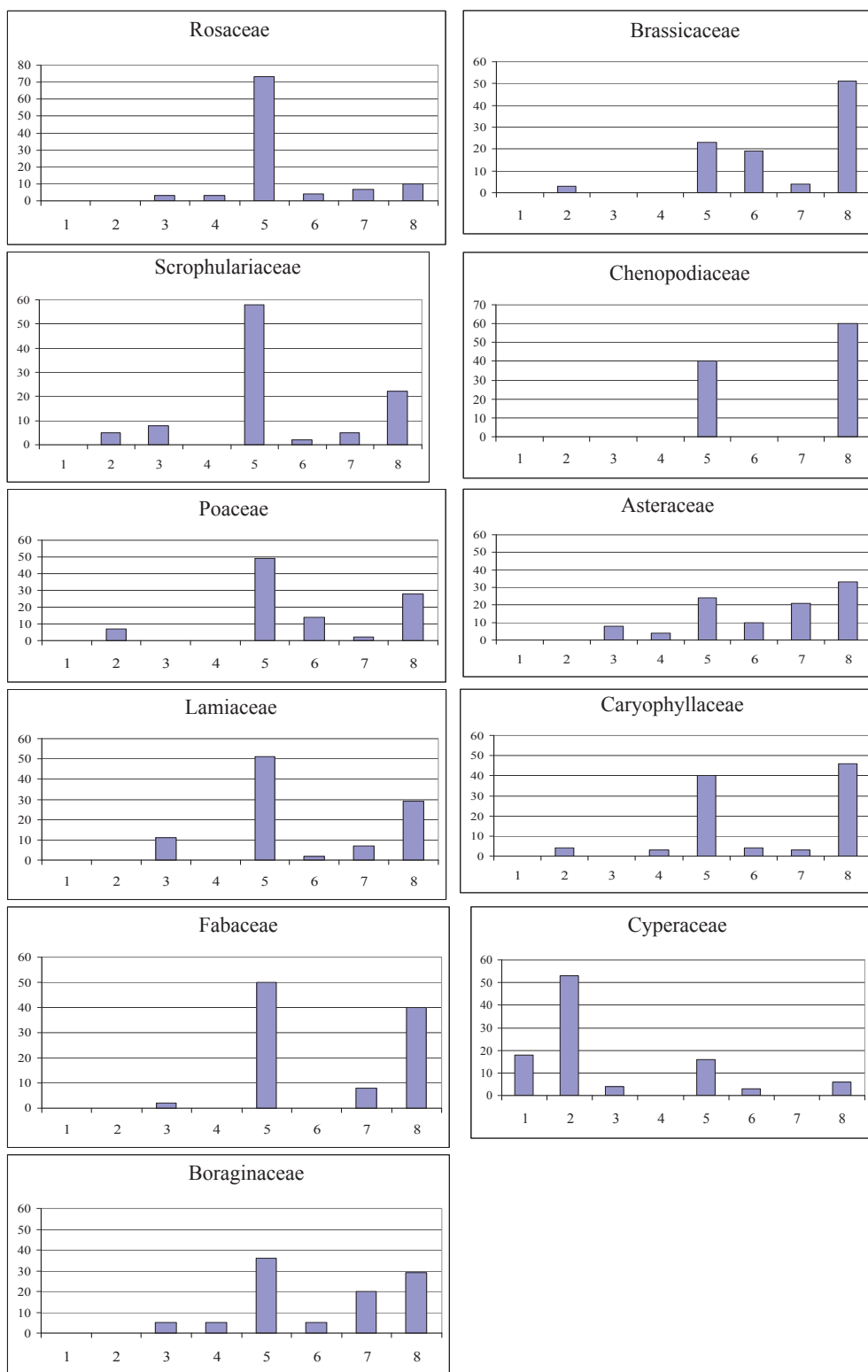


Рис. 3. Распределение видов ведущих семейств флоры Самарской области по группам гигроморф, %: 1 – гидрофиты, 2 – гигрофиты, 3 – гигромезофиты, 4 – мезогигрофиты, 5 – мезофиты, 6 – мезоксерофиты, 7 – ксеромезофиты, 8 – ксерофиты



Исходя из наличия двух основных групп видов (мезофиты и ксерофиты) и переходных категорий между ними, все рассмотренные семейства можно условно поделить на «мезофитные» и «ксерофитные». Эти черты могут быть выражены в различной степени. К мезофитной группе отнесем семейства, в составе которых виды данной экологической группы преобладают. Наиболее выражены мезофитные свойства у семейств *Rosaceae* и *Scrophulariaceae*. Слабее – у *Roaceae*, *Lamiaceae*, *Fabaceae* и *Boraginaceae*.

Семейств, относящихся к группе ксерофитных, оказалось меньше. К типичным ксерофитным относятся *Brassicaceae* и *Chenopodiaceae*. У *Asteraceae* и *Caryophyllaceae* ксерофитный характер выражен слабее.

Совершенным особняком к данной классификации стоит семейство *Syringaceae*. Известно, что его представители предпочитают водные и околородные биотопы более других, это сказывается на общем распределении видов. Это семейство является одним из крупнейших в европейской флоре и может характеризоваться как «гигрофитное».

Полученные характеристики ведущих семейств дают возможность объяснить некоторые особенности состава головной части спектра всей Самарской области и ее географических подразделений. Флора целой области принадлежит зоне бобовых, так как мезофитные свойства семейства *Fabaceae* не столь выражены, как у *Rosaceae*. Так как по территории области проходит граница природных зон, и южная ее часть лежит в степной зоне [10], спектры флор этих подразделений различаются [11]. В спектре флоры южной части высокое положение имеют маревые (*Chenopodiaceae*) как семейство с выраженными ксерофитными свойствами, так как условия увлажнения юга и севера территории области значительно различаются.

Полученные экологические характеристики семейств флоры применимы в полной мере для Самарской области. Как было сказано выше, они могут не дублироваться полностью на территориях других регионов с иными климатическими условиями. Рассмотрим, насколько схоже характеризуются крупнейшие семейства в географически удаленных областях.

Следует отметить, что все регионы, данные по флорам которых привлечены для анализа [3, 4, 12, 13], расположены либо в климатических областях с большим количеством осадков, нежели Самарская область, или включают в себя более увлажненные территории. Для Республи-

ки Мордовия характерно 444–525 мм осадков в год [14], а в Челябинской области выпадает 500–800 мм в горно-лесной зоне и 270–400 мм в лесостепной и степной [13].

Анализируя распределение семейств по составу экологических групп, можно сказать следующее. В группе мезофитных семейств все предсказуемо: количество видов в этой группе возрастает по мере увеличения количества осадков на рассматриваемой территории. Однако характеристика каждого из них сохраняется. Виды же с ксерофитными свойствами в составе этих семейств показаны лишь для Республики Мордовия. Только в составе *Roaceae* есть представители в Челябинской области.

В составе ксерофитной группы существенно смещается экологический профиль. Здесь можно скорее говорить о присутствии видов ксерофитной группы, нежели об их преобладании. Присутствуют они в составе всех семейств во флорах Челябинской области и Мордовии. В Кировской области эта группа очень малочисленная во флоре (см. рис. 2).

Семейство *Brassicaceae* теряет черты ксерофитности в более северных флорах. Возможно, часть видов переходит в промежуточную категорию (ксеромезофиты). И эта промежуточная группа еще преобладает в Мордовии, а севернее снижает численность.

Семейство *Chenopodiaceae* в отношении ксерофитности более консервативно. Здесь мы еще наблюдаем численный перевес ксерофитов, или же группы ксеромезофитов. Если же рассматривать семейства флоры Кировской области отдельно, то можно отметить наибольший процент содержания ксеромезофитов именно среди маревых, хотя они, безусловно, уступают мезофитам.

Семейства *Asteraceae* и *Caryophyllaceae* ведут себя схоже. Можно сказать, что их ксерофитный характер теряется, становятся более выражены мезофитные черты.

Таким образом, каждое семейство высших сосудистых растений действительно демонстрирует некую экологическую общность. Эти общие экологические черты могут быть более или менее выражены (рис. 4). Для Самарской области выделено две основные группы семейств: ксерофитная (*Brassicaceae*, *Chenopodiaceae*, *Asteraceae* и *Caryophyllaceae*) и мезофитная (*Rosaceae*, *Scrophulariaceae*, *Roaceae*, *Lamiaceae*, *Fabaceae* и *Boraginaceae*). В географически удаленных флорах в связи с изменением видового состава и природных условий гигроморфологические характеристи-



Рис. 4. Распределение видов ведущих семейств флор рассматриваемых областей по группам гигроморф, %: 1 – гидрофиты, 2 – гигрофиты, 3 – гигромезофиты, 4 – мезогигрофиты, 5 – мезофиты, 6 – мезоксерофиты, 7 – ксеро-мезофиты, 8 – ксерофиты



ки ведущих семейств флоры не сохраняются полностью. Однако одни и те же семейства относительно друг друга характеризуются сходно.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16_04_00747_а).

Список литературы

1. *Бельгард А. Л.* Лесная растительность юго-востока УССР. Киев : Изд-во Киев. ун-та, 1950. 264 с.
2. *Марков М. В.* Пастушья сумка обыкновенная // Биологическая флора Московской области / под ред. Т. А. Работнова. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1978. Вып. 4. С. 86–95.
3. *Тарасова Е. М.* Флора Вятского края. Ч. 1. Сосудистые растения. Киров : ОАО «Кировская областная типография», 2007. 440 с.
4. Сосудистые растения Самарской области : учеб. пособие / под ред. А. А. Устиновой, Н. С. Ильиной. Самара : ООО «ИПК «Содружество», 2007. 400 с.
5. *Альбицкая М. А.* Основные закономерности формирования травяного покрова в искусственных лесах степной зоны УССР // Искусственные леса степной зоны Украины. Харьков : Изд-во Харьк. ун-та, 1960. С. 155–208.
6. *Тарасов В. В.* К вопросу о биоэкологической паспортизации сорных растений лесных культур Днепропетровской области // Биогеоэкологические особенности лесов Присамарья и их охрана : тр. комплексной экспедиции. Днепропетровск : Изд-во Днепропетр. ун-та, 1981. С. 122–139.
7. *Матвеев Н. М., Филиппова К. Н., Демина О. Е.* Систематический и экоморфный анализ флоры Красносарского лесного массива в зоне настоящих степей // Вопросы экологии и охраны природы в лесостепной и степной зонах : межвед. сб. науч. тр. Самара : Самар. ун-т, 1995. Вып. 1 С. 41–71.
8. Атлас земель Самарской области / глав. ред. Л. Н. Порошина. М. : Федеральная служба геодезии и картографии России, 2002. 100 с.
9. Климат. Фенология. Экологический риск : учеб.-метод. пособие / сост. С. Ю. Огородникова, Л. М. Попцова, Н. М. Алалякина. Киров : ООО «Типография «Старая Вятка», 2012. 94 с.
10. Физико-географическое районирование Среднего Поволжья / под ред. А. В. Ступишина. Казань : Изд-во Казан. ун-та, 1964. 173 с.
11. *Иванова А. В., Костина Н. В., Розенберг Г. С., Саксонов С. В.* Семейственные спектры флор территории Волжского бассейна // Бот. журн. 2016. Т. 101, № 9. С. 1042–1055.
12. Сосудистые растения Республики Мордовия (конспект флоры). Саранск : Изд-во Морд. ун-та, 2010. 352 с.
13. *Куликов П. В.* Конспект флоры Челябинской области (сосудистые растения). Екатеринбург ; Миасс : Геотур, 2005. 537 с.
14. *Горцев В. И.* Природа Мордовии. Саранск : Морд. кн. изд-во, 1958. 124 с.

Comparative Characteristics of the Hygromorphic Composition of the Leading Families of Florae of Different Regions of Russia

A. V. Ivanova

Anastasia V. Ivanova, ORCID 0000-0003-2467-546X, Institute Ecology of Volga River Basin RAS, 10, Komzina Str., Togliatti, 445003, Russia, nastia621@yandex.ru

Each family of higher vascular plants demonstrates a certain degree of ecological community. In this paper, the ecological characteristics of families were estimated by the ratio of groups of hygromorphs (ecological groups of species in relation to soil moisture conditions). Hygromorphs are part of the general system of plant ecomorphs, which was developed by A. L. Belgardas. The characteristics of the families of the flora of Samara region are compiled on the basis of data on 8 groups of hygromorphs. Two main hygromorphic groups of families have been identified for Samara region: "xerophytic" (Brassicaceae, Chenopodiaceae, Asteraceae and Caryophyllaceae) and "mesophytic" (Rosaceae, Scrophulariaceae, Poaceae, Lamiaceae, Fabaceae and Boraginaceae). In geographically remote floras (Chelyabinsk and Kirov regions as well as the Republic of Mordovia) due to changes in species composition and natural conditions, the hygromorphic characteristics of the leading families of the flora are not completely preserved. The number of species in the "mesophytic" group increases as the amount of precipitation increases in the territory under consideration. All regions, whose flora data are involved for comparative analysis, are located in conditions of stronger moistening. The composition of the "xerophytic" group in geographically remote flora was significantly reduced. However, it should be noted that the same families are similar in relation to each other.

Key words: ecological characteristics of families, hygromorphs, leading families of flora, humidification conditions.

Образец для цитирования:

Иванова А. В. Сравнительная характеристика гигроморфного состава ведущих семейств флор разных регионов России // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 475–480. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-475-480.

Cite this article as:

Ivanova A. V. Comparative Characteristics of the Hygromorphic Composition of the Leading Families of Florae of Different Regions of Russia. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 475–480 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-475-480.



УДК 581.9

ВЗАИМОСВЯЗЬ ФЛОРИСТИЧЕСКОГО И ЛАНДШАФТНОГО РАЗНООБРАЗИЯ ТЕРРИТОРИИ НА ПРИМЕРЕ ФИЗИКО-ГЕОГРАФИЧЕСКОГО РАЙОНА ЛЕСОСТЕПНОЙ ЗОНЫ



А. В. Иванова, Н. В. Костина, Р. С. Кузнецова

Иванова Анастасия Викторовна, научный сотрудник лаборатории проблем фиторазнообразия, Институт экологии Волжского бассейна РАН (Тольятти), кандидат биологических наук. E-mail: nastia621@yandex.ru

Костина Наталья Викторовна, старший научный сотрудник лаборатории моделирования и управления экосистемами, Институт экологии Волжского бассейна РАН (Тольятти), кандидат биологических наук. E-mail: knva2009@yandex.ru

Кузнецова Разина Саитнасимовна, научный сотрудник лаборатории моделирования и управления экосистемами, Институт экологии Волжского бассейна РАН (Тольятти), кандидат биологических наук. E-mail: knva2009@yandex.ru

Флористическое разнообразие является частью общего биоразнообразия территории и связано с ее устойчивостью. В настоящее время существует несколько взглядов на классификацию биоразнообразия по причине достаточно большого количества его форм. Зависимость видового богатства флоры от различных факторов изучалась в ряде работ. Проанализировано влияние географических факторов на видовое разнообразие флоры в пределах Сокского физико-географического района лесостепной зоны (часть провинции Высокого Заволжья, Самарская область). В геоморфологическом отношении данный район представляет собой волнистую возвышенную равнину, расчлененную глубокими и широкими речными долинами. В результате проведенного корреляционно-регрессионного анализа получено уравнение зависимости числа видов флоры от значений максимального размаха высот и площади обследования. Выявлено статистически значимое влияние указанных факторов на видовое разнообразие флоры. Высокое влияние максимального размаха высот объясняется тем, что при увеличении данного показателя возрастает разнообразие экологических условий. В результате этого образуется сравнительно большее количество экологических ниш. По этой причине становится возможным обитание на территории и большего количества видов. Таким образом, данная закономерность подтверждается на уровне отдельного физико-географического района.

Ключевые слова: видовое разнообразие флоры, экологические условия, площадь обследования, максимальный размах высот.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-481-485

Введение

Изучение биоразнообразия любой территории имеет большое теоретическое и практическое значение. Биоразнообразие связано с экологической устойчивостью территории и ее

биологическим будущим. В настоящее время существует целая классификация биоразнообразия, которая максимально охватывает все его формы [1]: α -, β -, γ -разнообразие [2], ε -, δ -разнообразие [3] и др. Кроме того, Р. Уиттекер предложил выделять инвентаризационное и дифференцирующее разнообразие [4].

Число видов на определенной территории, включающей в себя более одного местообитания (γ -разнообразие), зависит от ряда факторов. Считается, что главным образом их комплекс сводится к трем составляющим: энергия, постоянство и площадь [5]. При этом под энергией понимается количество света, используемого растениями. В свою очередь, количество усвоенной световой энергии зависит от светового излучения и увлажнения территории. Под постоянством понимается степень суточного или сезонного изменения важнейших климатических факторов – температуры и влажности.

Характер отношений между площадью и числом обитающих на ней видов изучается островной биогеографией. Известно, что число видов пропорционально площади острова [6]. Данное утверждение применимо как к биоте островов в прямом смысле этого слова, так и к другим ситуациям изоляции отдельных экосистем от подобных (озера, лесные участки, окруженные комплексом степных сообществ, отдельные горные вершины).

Зависимость видового богатства флоры от различных факторов изучалась в ряде работ [7–9]. Все факторы можно объединить в несколько групп: исторические, абиотические, биотические и антропогенные. В составе современных абиотических факторов рассматривается категория ландшафтно-топологических факторов (разность высот, глубина расчленения, дисперсия высот). В целом подтверждается, что факторы географического разнообразия играют важную роль в пространственном распределении видового разнообразия флоры [7].

В ландшафтах умеренной зоны увеличение амплитуды высот способствует обогащению флоры, что связано в первую очередь с увеличением числа местообитаний [10]. Очевидно,



это утверждение справедливо только в пределах одной природной зоны как одной системы координат. При сравнении участков, находящихся в различных климатических условиях, необходимо учитывать изменение еще и других факторов, а также и то, что климатические параметры часто сильно коррелируют между собой [11].

Объекты и методы исследования

В данной работе сделана попытка проанализировать влияние географических факторов на видовое разнообразие флоры в пределах одного физико-географического района лесостепной зоны. В качестве примера была рассмотрена территория Сокского физико-географического района, который в геоморфологическом отношении является частью провинции Высокого Заволжья и представляет собой волнистую возвышенную равнину, расчлененную глубокими и широкими речными долинами [12].

Река Сок является средней по величине рекой, а для рассматриваемого района она одна

из крупных. Это типичная равнинная река Волжского бассейна, площадь ее водосбора составляет 11,7 тыс. км². Она расположена на северо-востоке Самарской области и протекает с северо-востока на юго-запад. Длина реки 363 км, общее падение 244 м, которое особенно выражено в верховьях. Большой своей протяженностью река протекает по широкой хорошо выработанной асимметричной долине с возвышенным правым берегом. Здесь более глубокие и узкие эрозионные врезы, гуще долинно-балочная сеть. Левый берег более пологий с неглубоко врезанной долинно-балочной сетью. На своем протяжении она принимает 53 притока длиной не менее 1 км [13]. Самый крупный из них правый приток р. Кондурча длиной 294 км.

Зависимость видового разнообразия флоры от некоторых географических факторов изучалась на трех участках (рис. 1), находящихся в различных частях бассейна реки. Типичные формы рельефа рассматриваемых участков приведены на рис. 2.

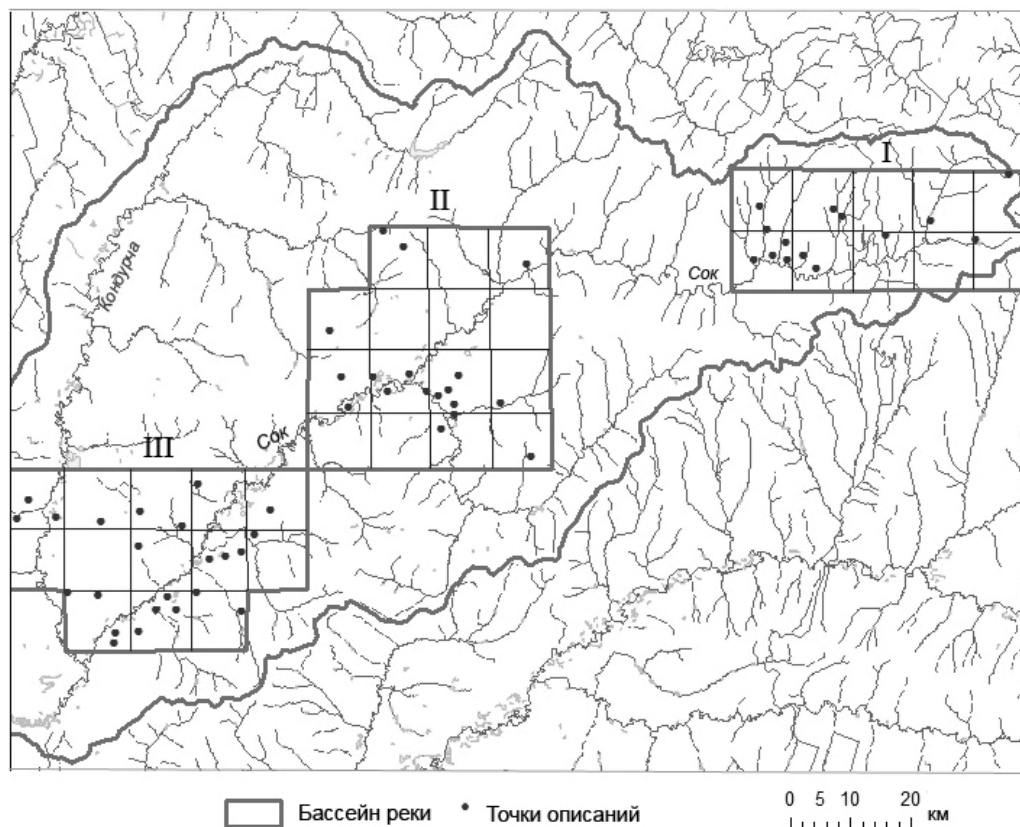


Рис. 1. Расположение рассматриваемых участков в бассейне р. Сок

Каждый из изучаемых участков разбит на квадраты площадью 100 км² (10 км × 10 км). Эти квадраты содержат разное количество флористических описаний, обозначенных на рисунках

точками. В расчете принимали участие как три указанных на рис. 1, 2 участка целиком, так и отдельные квадраты с количеством видов не менее 300 (по объединенному списку).

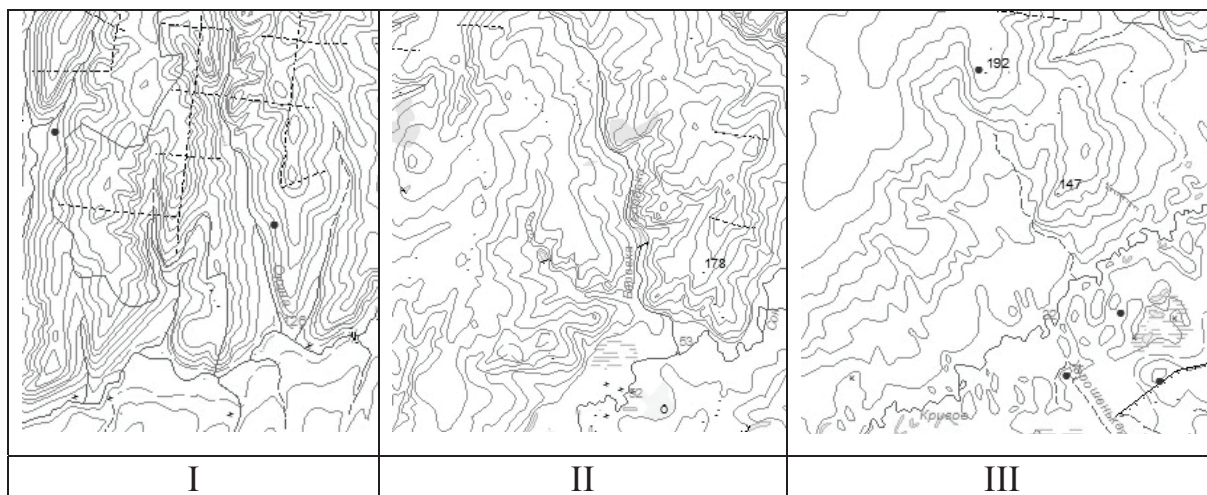


Рис. 2. Фрагменты характерных форм рельефа каждого из рассматриваемых участков

Использованные флористические описания различаются между собой по количеству видов (30—600), фитоценотической приуроченностью описания (различное количество парциальных флор, описанных полно или отчасти), а также по частоте наблюдения (одноразовые посещения, регулярные посещения в разные периоды вегетационного сезона).

Участок I расположен в самой верхней части бассейна, площадь его составляет 1000 км². Это наиболее расчлененная территория, здесь находится самая высокая в бассейне точка, высота ее составляет 380 м и расположена она на водоразделе рек Сока и Кандыз. Самая низкая точка расположена на высоте 91 м в месте впадения в р. Сок ее левого притока р. Телегас. Максимальный размах высот составляет почти 290 м. Средняя глубина эрозионных врезок в целом для участка составляет 170 м, а густота долинно-балочной сети 0,6—0,8 км/км².

Участок II расположен в среднем течении реки, площадь его охватывает территорию в 1500 км². В него попадают примерно одинаковые участки правого и левого берега реки. Рельеф в пределах участка более или менее равномерный, сюда попадает несколько водораздельных холмов с относительно плоскими вершинами. Самая высокая точка этого участка – 303 м – расположена в междуречье рек Инжа и Липовка левых притоков р. Кондурча. Самая низкая точка – 48 м – немного выше впадения в Сок ее левого притока р. Орлянки. Размах высот в пределах участка составляет 255 м, а средняя высота для всего участка – 110 м, густота долинно-балочной сети 0,4—0,6 км/км².

Участок III расположен в нижнем течении реки и охватывает юго-западный край Сокских Яров. Площадь участка составляет 1300 км².

В пределы участка попадают поймы рек Сок и Кондурчи, которые в их нижнем течении довольно широкие и местами заболочены. Сюда же попадают небольшой участок левого берега Кондурчи, средние и нижние течения левых притоков Сока – р. Хорошенькая, р. Тростянка и р. Черновка. Территория участка по сравнению с участками I и II менее расчленена. Самая высокая точка расположена в междуречье Сока и Кондурчи на высоте 227 м, а самая низкая на высоте 30 м, в месте впадения Кондурчи. Размах высот на участке составляет 197 м. Средняя высота для всего участка 100 м, а густота долинно-балочной сети 0,3–0,5 км/км².

Результаты и их обсуждение

Проведенный корреляционно-регрессионный анализ позволил построить зависимость числа видов от ряда факторов: максимальный размах высот (м), густота долинно-балочной сети (км/км²), значение средней высоты над уровнем моря (м), величина обследованной площади (км²).

Обнаружено достоверное влияние значения максимального размаха высот (удельный вес влияния 60,2%). Влияние густоты овражно-балочной сети и значений средней высоты над уровнем моря на данном материале оказалось не достоверным. Важным фактором выступает также площадь обследования, логарифм которой демонстрирует достоверное влияние (удельный вес влияния 31,85%).

В результате анализа получено следующее уравнение:

$$N = -76.51, + 1.73R_{\max} + 52.96\ln(S),$$

где N – число видов; R_{\max} – максимальный размах высот; S – площадь обследования.



Таким образом, подтверждается положение о том, что чем больше максимальный размах высот на территории, тем большее количество видов возможно ожидать на ней. Это утверждение справедливо и в пределах одного физико-географического района. Действительно, если размах высот на территории больше, то больше и реальная площадь обследования, которая не может быть измерена на плоскости по карте. Если же сравнивать два участка, имеющих на карте одинаковую площадь, то реальная площадь будет больше у того участка, где больше размах высот. Увеличение амплитуды высот приводит также к росту разнообразия форм микрорельефа, которое увеличивает количество экотопов, а следовательно, и обитающих видов.

Зависимость количества видов от увеличения площади обследования изучалась нами на данных трех участках и ранее. Было обнаружено, что на участке I (см. рис. 1) достижение ареала-минимума конкретной флоры (выявление большей части видового состава) происходит быстрее, чем на двух других участках [14]. Вероятно, это и происходит по причине большего разнообразия экологических условий на участке I.

Безусловно, наряду с величиной максимального размаха высот влияние других факторов нельзя исключить, так как даже в пределах одного физико-географического района климатические условия имеют некоторые отличия (количество осадков, температурный режим и др.). Тем не менее полученное уравнение может быть использовано при оценке полноты проводимых флористических исследований для лесостепной зоны Самарской области.

Заключение

Достоверно высокое влияние максимального размаха высот, очевидно, объясняется тем, что при увеличении данного показателя образуется большее количество экологических ниш, так как возрастает разнообразие экологических условий. По этой причине становится возможным обитание на территории большего количества видов. Остальные рассмотренные показатели связаны с максимальным размахом высот. Так, средняя высота над уровнем моря входит в диапазон размаха высот. С увеличением размаха высот возрастает и площадь обследования.

Густота долинно-балочной сети представляет собой лишь увеличение площади повто-

ряющихся экотопов, видимо, поэтому сама по себе ее величина не так важна. Просто присутствие аналогичных природных комплексов определяет наличие характерного списка видов и повторяемость местообитаний этот список не увеличивает.

Список литературы

1. Лебедева Н. В., Криволицкий Д. А. Биологическое разнообразие и методы его измерения // География и мониторинг разнообразия. М. : Изд-во Науч. и учеб.-метод. центра, 2002. С. 8–75.
2. Уиттекер Р. Сообщества и экосистемы. М. : Прогресс, 1980. 328 с.
3. Чернов Ю. И. Биологическое разнообразие : сущность и проблемы // Успехи современной биологии. 1991. Т. 111, вып. 4. С. 499–507.
4. Whittaker R. H. Evolution of species diversity in land communities // *Evol. Biol.* 1977. Vol. 10. P. 1–67.
5. Дзунино М., Дзуллини А. Биогеография (эволюционные аспекты). М. : ФГУП «Типография» Россельхозакадемии, 2010. 317 с.
6. MacArthur R. M., Wilson E. O. The theory of Island Biogeography. Princeton ; N.Y. : Princeton Univ. Press., 1967. 203 p.
7. Морозова О. В. Таксономическое богатство Восточной Европы : факторы пространственной дифференциации / отв. ред. А. А. Тишков. М. : Наука, 2008. 328 с.
8. Шмидт В. М. Зависимость количественных показателей конкретных флор европейской части от географической широты // *Бот. журн.* 1979. Т. 64, № 2. С. 172–183.
9. Malyshev L., Nimis P. L., Bolognini G. Essays on the modeling of spatial floristic diversity in Europe : British Isles, West Germany and East Europe // *Flora.* 1994. Vol. 189. P. 79–88.
10. Pyšek P., Kucera T., Jarosik V. Plant species richness of nature reserves: the interplay of area, climate and habitat in a central European landscape // *Global Ecology and Biogeogr.* 2002. Vol. 11. P. 279–289.
11. Чернов Ю. И. Экология и биогеография. Избранные работы. М. : Т-во науч. изд. КМК, 2008. 580 с.
12. Физико-географическое районирование Среднего Поволжья / под ред. А. В. Ступишина. Казань : Изд-во Казан. ун-та, 1964. 197 с.
13. Кузнецова Р. С. Бассейн реки Сок : общая характеристика притоков // *Изв. Самар. науч. центра РАН.* 2014. Т. 16, № 5. С. 36–42.
14. Иванова А. В., Костина Н. В. Выявление площади минимум-ареала конкретной флоры с учетом антропогенной трансформации территории // *Изв. Самар. науч. центра РАН.* 2015. Т. 17, № 4, ч. 1. С. 77–80.



Interrelation of Floristic and Landscape Diversity of the Territory on the Example of the Physiographic Area of Forest-Steppe Zone

A. V. Ivanova, N. V. Kostina, R. S. Kuznetsova

Anastasia V. Ivanova, ORCID 0000-0003-2467-546X, Institute Ecology of Volga River Basin RAS, 10, Komzin Str., Togliatti, 445003, Russia, nastia621@yandex.ru

Natalia V. Kostina, ORCID 0000-0002-8666-2130, Institute Ecology of Volga River Basin RAS, 10, Komzin Str., Togliatti, 445003, Russia, knva2009@yandex.ru

Rasina S. Kuznetsova, ORCID 0000-0002-7870-4230, Institute Ecology of Volga River Basin RAS, 10, Komzin Str., Togliatti, 445003, Russia, knva2009@yandex.ru

Floristic diversity is part of the overall biodiversity of the area and is associated with its sustainability. At present, there are

several views on the classification of biodiversity due to the rather large number of its forms. The dependence of the species richness of flora on various factors was studied in a number of works. The influence of geographic factors on the species diversity of flora within the Soksky physiographic region of the forest-steppe zone (part of the province of the High Transvolga, Samara Region) is analyzed. In geomorphological terms, this area is a wavy, elevated plain, dissected by deep and wide river valleys. As a result of the correlation-regression analysis, the equation of the dependence of the number of species of flora on the values of the maximum sweep of heights and the area of the survey is obtained. A significant influence of these factors on the species diversity of the flora is revealed. The considerable influence of the maximum range of heights is explained by the fact that as the given index increases, the diversity of ecological conditions increases as well. As a result, a relatively larger number of ecological niches are formed. For this reason, it becomes possible to inhabit more species in the territory. Thus, this regularity is confirmed at the level of a single physical and geographical region.

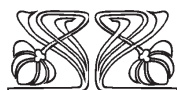
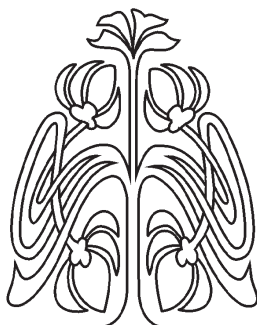
Key words: species diversity of flora, ecological conditions, survey area, maximum sweep of heights.

Образец для цитирования:

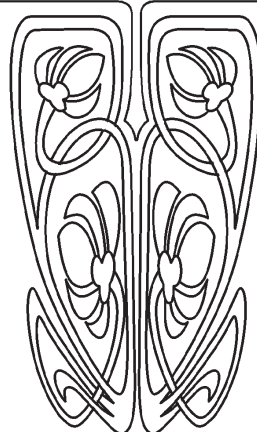
Иванова А. В., Костина Н. В., Кузнецова Р. С. Взаимосвязь флористического и ландшафтного разнообразия территории на примере физико-географического района лесостепной зоны // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 481–485. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-481-485.

Cite this article as:

Ivanova A. V., Kostina N. V., Kuznetsova R. S. Interrelation of Floristic and Landscape Diversity of the Territory on the Example of the Physiographic Area of Forest-Steppe Zone. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 481–485 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-481-485.



ПОДПИСКА



Подписка на I полугодие 2018 года

Индекс издания в объединенном каталоге
«Пресса России» 36012, раздел 30
«Научно-технические издания.
Известия РАН. Известия вузов».

Журнал выходит 4 раза в год.

Цена свободная.

Оформить подписку онлайн можно
в интернет-каталоге «Пресса по подписке» (www.akc.ru).

Адрес издательства:

410012, Саратов, Астраханская, 83;
Тел.: +7 (845-2) 51-45-49, 52-26-89
Факс: +7 (845-2) 27-85-29
E-mail: izvestiya@sgu.ru

Адрес редколлегии серии:

410012, Саратов, Астраханская, 83,
СГУ имени Н. Г. Чернышевского,
биологический факультет
Тел./факс: +7 (845-2) 22-51-38
E-mail: ichbe-sgu@yandex.ru
Website: <http://ichbe.sgu.ru>