

СОДЕРЖАНИЕ

Научный отдел

Химия

Неврюева Н. В., Смирнова Т. Д. Определение ципрофлоксацина в лекарственных препаратах методом ОФ ВЭЖХ с использованием организованных сред 5

Аль-Саиди М. З. Т., Штыков С. Н. Синтез и спектроскопическое изучение некоторых фенилазонафтолов 9

Панкратов А. Н., Цивилева О. М., Цымбал О. А., Белова Л. А. Квантовохимическое обоснование природы интермедиата и региоселективности гомолитического окислительного сочетания L-цистеина 14

Лобачев А. Л., Фомина Н. В., Монахова Ю. Б. Идентификация нефтей Самарской области с использованием метода главных компонент и факторного дискриминантного анализа 23

Фомина В. И., Малинкина О. Н., Гегель Н. О., Абрамов А. Ю., Шиповская А. Б. Влияние природы модифицирующей добавки на реологические свойства концентрированной системы хитозан – органическая кислота – вода 28

Байбурдов Т. А., Беризовская Е. И., Васин В. В., Гончаров В. М., Малинин А. В., Перельгин В. С., Ступенькова Л. Л., Юрасов Н. А. Использование полимерных сорбентов в технологии экологического мониторинга водных объектов 36

Пичкаев О. В., Дворянова Е. М., Гаркушин И. К. Изучение стабильного тетраэдра LiF-KF-KCl-K₂WO₄ четырехкомпонентной взаимной системы Li, K|F, Cl, WO₄ 44

Биология

Попов Н. В., Аникин В. В., Удовиков А. И. Оценка эпизоотологической значимости блох (*Insecta, Siphonaptera*) в феномене сезонности проявления чумы в степных природных очагах чумы сусликового типа Северного, Северо-Западного Прикаспия и Предкавказья 47

Крицкая Т. А., Кашин А. С. Клональное микроразмножение пиона тонколистного (*Paeonia tenuifolia* L.) 55

Нешко А. А., Гринёв В. С., Крючкова Е. В., Федоненко Ю. П., Любунь Е. В., Турковская О. В. Биосорбция Cu(II) экзополисахаридом *Enterobacter cloacae* K7 61

Володина В. В., Грушко М. П., Федорова Н. Н. К вопросу о гистопатологических нарушениях почки каспийского тюленя (*Phoca Caspica* Gmelin, 1788) в системе «мать–плод» 68

Козырева Е. А., Болдырев В. А. Материалы к изучению лишенофлоры Национального парка «Хвалынский» (Саратовская область) 72

Полещук Т. О., Плешакова Е. В., Решетников М. В., Пальцев И. С. Микробиологическая индикация почв над подземным хранилищем природного газа 76

Экология

Давиденко О. Н., Невский С. А., Лысенко Т. М. Новые данные о галофитной растительности Саратовской области 82

Золотарева Н. В., Подгаевская Е. Н. Памятник природы «Елизаветинские горные степи» – итоги 45 лет исследований (Свердловская область) 87

Золотухин А. И., Занина М. А. Адаптации древесных растений после теплового стресса в Прихоперье 93

Воронин М. Ю., Мосолова Е. Ю., Табачишин В. Г., Еловенко А. Ю. Особенности размещения и численность водоплавающих птиц на водоёме-охладителе Балаковской атомной станции в зимний период 99

Торгашкова О. Н., Левина Е. С., Гахраманов С. Г. Оценка самоочищения реки Волги в окрестностях города Саратова 102

Савонин А. А., Филиппчев А. О. Сезонная динамика размеров индивидуального участка самцов и самок американской норки (*Neovison vison* Schreber, 1777) на территории Саратовской области 106

Приложения

Personalia

К 100-летию со дня рождения профессора Н. И. Лариной 112

К юбилею Владимира Владимировича Игнатова 115

Сведения об авторах

Решением Президиума ВАК Министерства образования и науки РФ журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертационных исследований на соискание ученой степени доктора и кандидата наук

Зарегистрировано в Министерстве Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций, свидетельство о регистрации СМИ ПИ № 77-7185 от 30 января 2001 года. 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 по каталогу ОАО Агентства «Роспечать» 36013, раздел 26 «Природа. Мир животных и растений». Журнал выходит 4 раза в год

Заведующий редакцией
Бучко Ирина Юрьевна

Редактор
Митенёва Елена Анатольевна

Художник
Соколов Дмитрий Валерьевич

Редактор-стилист
Степанова Наталья Ивановна

Верстка
Ковалева Наталья Владимировна

Технический редактор
Ковалева Наталья Владимировна

Корректор
Крылова Елена Борисовна

Адрес редакции:
410012, Саратов, ул. Астраханская, 83
Издательство Саратовского университета
Тел.: (845-2) 52-26-89, 52-26-85
E-mail: izvestiya@sgu.ru

Подписано в печать 03.03.2015.
Формат 60x84 1/8.
Усл. печ. л. 14, 16 (15,25).
Тираж 500 экз. Заказ 3.

Отпечатано в типографии
Издательства Саратовского
университета

© Саратовский государственный
университет, 2015

**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».

CONTENTS**Scientific Part****Chemistry**

Nevryueva N. V., Smirnova T. D. Method of Determination of Ciprofloxacin HPLC Using Organized Media in Pharmaceuticals 5

Al-Saidi M. Z. T., Shtykov S. N. Synthesis and Spectroscopic Study of Some Phenylazonaphthols 9

Pankratov A. N., Tsvileva O. M., Tsymbal O. A., Belova L. A. A Quantum Chemical Substantiation of the Intermediate Nature and Regioselectivity of Homolytic Oxidative Coupling of L-cysteine 14

Lobachev A. L., Fomina N. V., Monakhova Yu. B. Identification of Oils from Samara Region Using Principal Component Analysis and Factor Discriminant Analysis 23

Fomina V. I., Malinkina O. N., Gegel N. O., Abramov A. Yu., Shipovskaya A. B. Influence of the Modifying Additive Nature on the Rheological Properties of the Concentrated Chitosan–Organic Acid–Water System 28

Bayburdov T. A., Berizovskaya E. I., Vasin V. V., Goncharov V. M., Malinin A. V., Pereygin V. S., Stupen'kova L. L., Yurasov N. A. Using Polymeric Sorbent Technologies for Ecology Monitoring of Water Objects 36

Pichkaev O. V., Dvoryanova E. M., Garkushin I. K. Study of the Stable Tetrahedron LiF–KF–KCl–K₂WO₄ of the Quinary Reciprocal System Li,K||F,Cl,WO₄ 44

Biology

Popov N. V., Anikin V. V., Udovikov A. I. Assessment of Epizootiological Value of Fleas (Insecta, Siphonaptera) in the Phenomenon of Seasonal Plague Manifestations in the Steppe Natural Plague Foci of Souslik Type in the Northern, North-Western Pre-Caspian and Pre-Caucasus Regions 47

Kritckaia T. A., Kashin A. S. Clonal Micropropagation of *Paeonia tenuifolia* L. 55

Neshko A. A., Grinev V. S., Kryuchkova Ye. V., Fedonenko Yu. P., Lyubun Ye. V., Turkovskaya O. V. Biosorption of Cu (II) by an Exopolysaccharide Isolated from *Enterobacter cloacae* K7 61

Volodina V. V., Grushko M. P., Fedorova N. N. To the Question of Histopathological Disorders of the Kidney of the Caspian Seal (*Phoca caspica* Gmelin, 1788) in the System «Mother–Fetus» 68

Kozyreva E. A., Boldyrev V. A. Materials to the Study of the Lichen Flora of the National Park «Khvalynsky» (Saratov Region) 72

Poleshchuk T. O., Pleshakova Ye. V., Reshetnikov M. V., Paltsev I. S. Microbiological Indication of Soil above the Underground Storage of Natural Gas 76

Ecology

Davidenko O. N., Nevskiy S. A., Lysenko T. M. New Data on the Halophytic Vegetation of the Saratov Region 82

Zolotareva N. V., Podgaevskaya E. N. Current State of «Elizavetinskies Mountain Steppes»: Results of 45-years Investigation (Sverdlovsk Oblast) 87

Zolotukhin A. I., Zanina M. A. The Adaptations of Woody Plants after a Thermal Stress in the Khopyor River Region 93

Voronin M. Yu., Mosolova E. Yu., Tabachishin V. G., Elovenco A. Yu. Location Features and Abundance of Waterfowl in the Pond Cooler of the Balakovo Nuclear Power Plant in the Winter 99

Torgashova O. N., Levina E. C., Qahramanov C. G. Assessment of Self-purification of the Volga River Near the City of Saratov 102

Savonin A. A., Filipechev A. O. Seasonal dynamics Individual Plot Sizes of Males and Females of the American Mink (*Neovison vison* Schreber, 1777) in the Saratov Region 106

Appendices**Personalia**

On the 100th Anniversary of Professor N. I. Larina 112

To Anniversary of V. V. Ignatov 115

Information about the Authors

117



**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ ЖУРНАЛА
«ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА. НОВАЯ СЕРИЯ»**

Главный редактор

Чумаченко Алексей Николаевич, доктор геогр. наук, профессор (Саратов, Россия)

Заместитель главного редактора

Стальмахов Андрей Всеволодович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)

Ответственный секретарь

Халова Виктория Анатольевна, кандидат физ.-мат. наук, доцент (Саратов, Россия)

Члены редакционной коллегии:

Балаш Ольга Сергеевна, кандидат экон. наук, доцент (Саратов, Россия)

Бучко Ирина Юрьевна, директор Издательства Саратовского университета (Саратов, Россия)

Данилов Виктор Николаевич, доктор ист. наук, профессор (Саратов, Россия)

Ивченков Сергей Григорьевич, доктор социол. наук, профессор (Саратов, Россия)

Коссович Леонид Юрьевич, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)

Макаров Владимир Зиновьевич, доктор геогр. наук, профессор (Саратов, Россия)

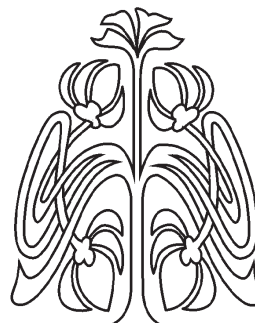
Прозоров Валерий Владимирович, доктор филол. наук, профессор (Саратов, Россия)

Усанов Дмитрий Александрович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)

Устьянцев Владимир Борисович, доктор филос. наук, профессор (Саратов, Россия)

Шамионов Раиль Мунирович, доктор психол. наук, профессор (Саратов, Россия)

Шляхтин Геннадий Викторович, доктор биол. наук, профессор (Саратов, Россия)



**EDITORIAL BOARD OF THE JOURNAL
«IZVESTIYA OF SARATOV UNIVERSITY. NEW SERIES»**

Editor-in-Chief – Chumachenko A. N. (Saratov, Russia)

Deputy Editor-in-Chief – Stalmakhov A. V. (Saratov, Russia)

Executive Secretary – Khalova V. A. (Saratov, Russia)

Members of the Editorial Board:

Balash O. S. (Saratov, Russia)

Buchko I. Yu. (Saratov, Russia)

Danilov V. N. (Saratov, Russia)

Ivchenkov S. G. (Saratov, Russia)

Kossovich L. Yu. (Saratov, Russia)

Makarov V. Z. (Saratov, Russia)

Prozorov V. V. (Saratov, Russia)

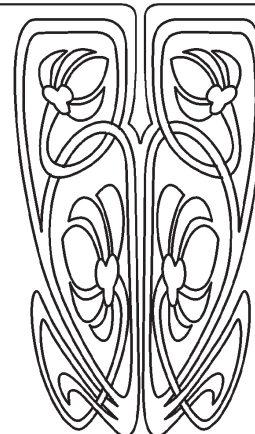
Usanov D. A. (Saratov, Russia)

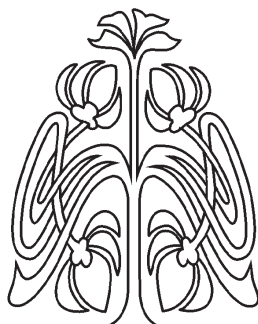
Ustyantsev V. B. (Saratov, Russia)

Shamionov R. M. (Saratov, Russia)

Shlyakhtin G. V. (Saratov, Russia)

**РЕДАКЦИОННАЯ
КОЛЛЕГИЯ**





**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

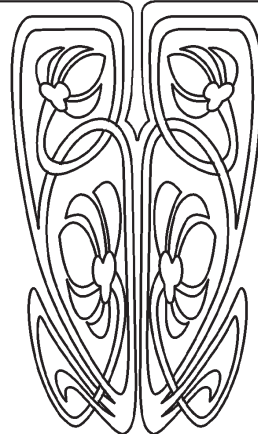
Федотова Ольга Васильевна, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)

Ответственный секретарь

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



**РЕДАКЦИОННАЯ
КОЛЛЕГИЯ**



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.-корр. 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.-корр. 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»**

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

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

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

Members of the Editorial Board:

Anikin V. V. (Saratov, Russia)

Boldyrev V. A. (Saratov, Russia)

Gribov L. A. (Moscow, Russia)

Kashin A. S. (Saratov, Russia)

Konnova S. A. (Saratov, Russia)

Kuzmina R. I. (Saratov, Russia)

Mushtakova S. P. (Saratov, Russia)

Rozenberg G. S. (Toliatty, Russia)

Chernova R. K. (Saratov, Russia)

Shipovskay A. B. (Saratov, Russia)



ХИМИЯ

УДК 543.544.5.068.7

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ МЕТОДОМ ОФ ВЭЖХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОРГАНИЗОВАННЫХ СРЕД

Н. В. Неврюева, Т. Д. Смирнова¹

Саратовский государственный медицинский университет
E-mail: natasha.k.83@mail.ru

¹Саратовский государственный университет
E-mail: smirnovatd@mail.ru

Показано, что при анализе лекарственных средств группы фторхинолонов методом обращено-фазовой ВЭЖХ с флуориметрическим детектором модификация подвижной фазы γ -циклодекстрином приводит к снижению предела обнаружения антибиотиков до 8 раз. Установлена возможность определения ципрофлоксацина в присутствии производных тетрациклинового и хинолонового рядов. Предлагаемая методика апробирована в анализе лекарственных препаратов, содержащих ципрофлоксацин.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография, фторхинолоны, флуоресценция, организованные среды.

Method of Determination of Ciprofloxacin HPLC Using Organized Media in Pharmaceuticals

N. V. Nevryueva, T. D. Smirnova

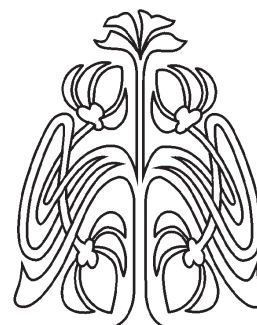
It is shown that in the analysis of medicines fluoroquinolone by reversed-phase HPLC with fluorimetric detection modification mobile phase γ -cyclodextrin leads to a decrease in the detection limit of antibiotics to 8 times. The possibility of determination of ciprofloxacin in the presence of tetracycline and quinolone derivative series. The proposed method is tested in the analysis of pharmaceutical preparations containing ciprofloxacin.

Key words: high performance liquid chromatography, fluoroquinolones, fluorescence, organized environment.

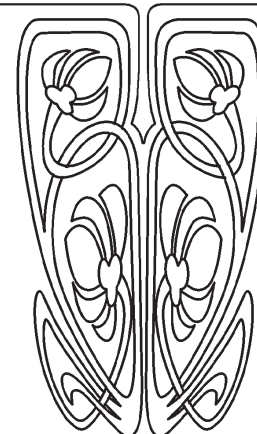
Введение

Обеспечение высокого качества лекарственных средств является одной из приоритетных задач в области здравоохранения Российской Федерации. Система контроля фармацевтического производства включает стадии мониторинга качества производства, эффективности и безопасности лекарственных препаратов, находящихся в обращении. В целях совершенствования контроля качества фармацевтической продукции возникает необходимость в простых и дешевых способах определения в них содержания основного вещества.

Антибиотики занимают особое место в химиотерапии инфекционных болезней. Производные тетрациклина и хинолона характеризуются широким спектром действия и находят применение в клинике и ветеринарии. Для определения ципрофлоксацина (ЦФ)



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





используют микробиологические, спектрофотометрические, хроматографические методы анализа.

Неоспоримые преимущества хроматографических методов состоят в возможности анализа объектов сложного состава и одновременного определения нескольких биологически активных веществ, относящихся к одному классу соединений. Наиболее часто используют для определения фторхинолонов обращено-фазовую ВЭЖХ с флуориметрическим детектором [1]. В качестве подвижной фазы (ПФ) применяют высокотоксичную смесь метанол – вода, 50:50 (об./об.) [2], NaH_2PO_4 – ацетонитрил (85:15, об./об.) pH 6.0 [1, 3], смесь ацетонитрила и ацетатного буфера (pH 3.6) [4]. Время разделения компонентов анализируемой смеси может достигать 30–40 мин.

Известно, что использование организованных сред в составе подвижных фаз в некоторых случаях позволяет избежать применения токсичных растворителей, повысить интенсивность аналитического сигнала и сократить время разделения [5].

Целью настоящей работы является изучение влияния добавок некоторых циклодекстринов в подвижную фазу ВЭЖХ на разделение и чувствительность определения ЦФ с использованием флуориметрического детектора.

Экспериментальная часть

Реагенты. Растворы всех основных и вспомогательных химических реактивов готовят на бидистиллированной воде. Антибиотики фторхинолонового ряда – ЦФ, налидиксовая кислота (НК), флюмеквин (ФЛ) («Sigma»), а также тетрациклин (ТТ) и окситетрациклин (ОТТ) («Mergk») содержат не менее 98% основного вещества. Рабочие растворы антибиотиков концентрации 0.25 мг/мл готовят растворением точной навески. Используют водные растворы α -, β -, γ -циклодекстринов (ЦД) («Fluka») с содержанием основного вещества не менее 98%. Для приготовления подвижной фазы используют ацетонитрил («Panteas») с содержанием основного вещества 99,9%. Ацетатно-аммиачные буферные растворы готовят из 2М CH_3COOH и $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (квалификация х.ч.).

Аппаратура. Хроматографирование проводят на высокоэффективном жидкостном хроматографе «Стайер» фирмы «Аквилон», Россия. Детектирование осуществляют с помощью флуориметрического детектора «Стайер» (Россия) с кварцевой галогеновой лампой. Раз-

делительная колонка – Phenomenex Luna 5u C_{18} с защитным картриджом («Phenomenex C_{18} »). Хроматограммы обрабатывают с помощью программы «Мультихром».

Результаты и их обсуждение

Выбор оптимальных условий разделения. Известно, что площадь хроматографического пика определяемого вещества зависит от ряда параметров и в первую очередь – от *состава подвижной фазы* (ПФ). В качестве органического растворителя нами выбран наименее токсичный и наиболее часто используемый на практике ацетонитрил. Для определения ЦФ апробированы ПФ состава ацетонитрил : ацетатно-аммиачный буферный раствор (pH 3.0–8.0); ацетонитрил – $2.7 \cdot 10^{-3}$ М щавелевая кислота (pH 2.5). Установлено, что в случае использования смеси ацетонитрил : ацетатно-аммиачный буфер (43:57 об./об.) площадь хроматографического пика ЦФ ($t_{\text{уд}} = 2.0$ мин) максимальна. Изучение *влияния кислотности* ПФ на хроматографическое разделение ЦФ в диапазоне pH 3.0–10.0 позволило установить, что интенсивность аналитического сигнала наблюдается при pH 4.3–4.5 ($t_{\text{уд}} = 2.0$ мин). При понижении кислотности площадь пика уменьшается, сокращается время удерживания, а в щелочной среде (pH 9.0) пик пропадает.

Как следует из литературы, в анализе чаще всего используют *скорость ПФ* 1 мл/мин. В нашем случае при уменьшении этого параметра в 2 раза время удерживания ЦФ возрастает до 10 мин, что увеличивает время анализа, а возрастание скорости потока ПФ способствует нежелательному увеличению давления в системе (до 140 мА). Таким образом, нами в качестве оптимальной выбрана скорость 1 мл/мин.

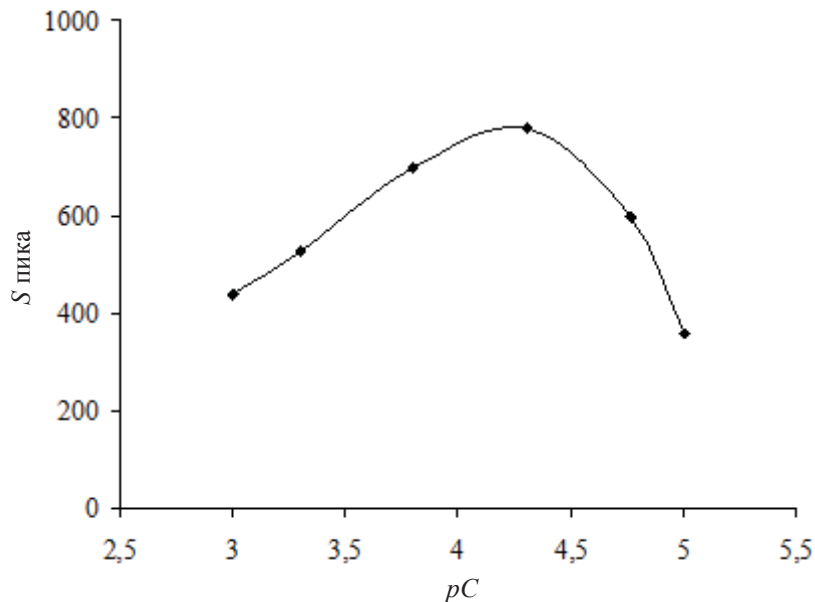
Время удерживания ЦФ в установленных оптимальных условиях хроматографирования составляет 2 мин.

Влияние организованных сред. Изучено влияние добавок различных концентраций α -, β -, и γ -ЦД в ПФ на величину площади хроматографического пика ЦФ. Показано, что хроматографические характеристики ЦФ в присутствии α - и β -ЦД не меняются ввиду небольших размеров полости циклодекстринов. В присутствии γ -ЦД при соотношении компонентов ПФ ацетонитрил : ацетатно-аммиачный буфер = 43:57 и оптимальной кислотности (pH 4.5) наблюдается увеличение площади пика в 1.5 раза. Такое возрастание интенсивности собственной флуоресценции аналита связано с



образованием комплекса включения и удалением молекул воды из его микроокружения, а также проявлением защитного эффекта полости циклодекстрина от влияния посторонних тушителей.

Время удерживания при добавлении в ПФ γ -ЦД не изменяется и составляет 2 мин. Площадь пика зависит от концентрации γ -ЦД и максимальна при $5 \cdot 10^{-5} \text{M}$ (рисунок).



Зависимость площади хроматографического пика в системе ЦФ – γ -ЦД от концентрации – γ -ЦД, $C_{\text{ЦФ}} = 25 \text{ мкг/мл}$, ПФ: ацетонитрил: ацетатно-аммиачный буфер (43:57 об./об., рН = 4,5), время удерживания 2 мин

Построение градуировочного графика. В каждую из десяти пробирок вносят 1 мкл ацетатно-аммиачного буферного раствора (рН 4,5), добавляют $0,25 \text{ мкл } 1 \cdot 10^{-3} \text{ M } \gamma\text{-ЦД}$, раствор ЦФ в диапазоне концентраций от 0,10–300 мкг/мл, буферный раствор до общего объема 5 мкл и

тщательно перемешивают. Из каждой пробирки отбирают 50 мкл и вводят в хроматограф. В табл. 1 представлены некоторые метрологические характеристики определения ЦФ. Как видно из табл. 1, в присутствии ЦД предел обнаружения (ПрО) понижается в 9 раз.

Таблица 1

Метрологические характеристики определения ЦФ

Фторхинолон	Модификатор ПФ	Диапазон определяемых концентраций, мкг/мл	ПрО, мкг/мл	Уравнение градуировочного графика	r^2
ЦФ	–	2,5–100	1,7	$y = 17,6x + 80,6$	0,99
	γ -ЦД	0,25–75	0,2	$y = 28,5x + 64,5$	0,99
ЦФ в присутствии некоторых антибиотиков	–	2,5–100	1,4	$y = 15,4x + 220$	0,99
	γ -ЦД	0,25–75	0,2	$y = 26,6x + 64,5$	0,99

Определение ЦФ в смеси с некоторыми антибиотиками. Изучена возможность хроматографического определения ЦФ в присутствии флюомеквина, тетрациклина и окситетрациклина. Установлено, что время удерживания ЦФ в указанных условиях отличается от времен удерживания представленных антибиотиков (табл. 2).

Для построения градуировочного графика определения ЦФ в присутствии других антибиотиков в каждую из десяти пробирок вносят 1 мл ацетатно-аммиачного буферного раствора (рН 4,5), добавляют $0,25 \text{ мкл } 1 \cdot 10^{-3} \text{ M } \gamma\text{-ЦД}$, 0,10–100 мкг/мл ЦФ и антибиотики так, чтобы их концентрация в растворах составляла 50 мкг/мл, разбавляют буферным раствором



Таблица 2

Количественные хроматографические характеристики антибиотиков в присутствии γ -ЦД

Антибиотик	Время удерживания, мин	Площадь пика	F_{ass}	α	N
Ципрофлоксацин	2.0	810.0	0.87	1.7	$6.30 \cdot 10^3$
Флюмеквин	12.8	47.25	0.84	11.6	$1.22 \cdot 10^3$
Налидиксовая кислота	3.8	534.3	0.75	2.8	$1.54 \cdot 10^3$
Тетрациклин	2.7	67.90	0.84	1.7	$1.13 \cdot 10^3$
Окситетрациклин	6.2	642.7	0.80	5.3	$2.96 \cdot 10^3$

Примечание. α – коэффициент селективности, $\alpha = (t_R - t_m)_1 / (t_R - t_m)_2$, где t_R – время удерживания антибиотика, t_m – время пребывания антибиотика в подвижной фазе; N – число теоретических тарелок, $N = 16(t_R/W)^2$, t_R – удерживания, W – ширина пика у основания.

до общего объема 5 мкл и 50 мкл вводят в хроматограф. Результаты анализа представлены в табл. 2. Как видно из табл. 2, пик, соответствующий ЦФ, имеет наибольшую площадь и характеризуется максимальным числом теоретических тарелок.

Определение ЦФ в лекарственных препаратах. Методика апробирована на лекарственных препаратах, содержащих ЦФ, – глазных каплях различного производства: «Ципролет» фирмы Dr. Reddy's laboratories (Индия), «Ципрофлоксацин» АКОС Синтез (г. Курган), «Ципромед» Promed Exports (Индия). Кроме определяемого ЦФ, лекарственный препарат содержит вспомогательные вещества: этилендиаминтетрауксусную кислоту, маннитол, ацетат натрия, уксусную кислоту, которые, как нами предварительно установлено, не мешают определению.

Методика определения. Исследуемый раствор (0.2 мкл) лекарственных препаратов после 25-кратного разбавления помещают в две пробирки и добавляют в каждую 0.25 мкл $5 \cdot 10^{-3}$ М γ -ЦД, в одну из них – стандартную добавку ЦФ (20–30 мкг/мл) и разбавляют до общего объема 5 мкл ацетатно-аммиачным буферным раствором pH 4.5, затем 50 мкл вводят в хроматограф, измеряют аналитический сигнал для двух проб с добавкой и без нее. Содержание ЦФ в лекарственном препарате определяют по формуле

$$C_x = 25 \cdot C_{ст} \cdot S_1 / S_2 - S_1,$$

где $C_{ст}$ – стандартная добавка ЦФ, мг/мл; S_1 – площадь пика для пробы без добавки; S_2 – площадь пика ЦФ для пробы со стандартной добавкой; C_x – искомая концентрация ЦФ в лекарственном препарате, мг/мл.

Результаты определения представлены в табл. 3.

Правильность определения контролировали методом «введено–найдено».

Таблица 3
Результаты определения ЦФ в лекарственных препаратах, заявленное содержание 3 мг/мл ($n = 3, P = 0.95$)

Препарат	Найдено, мг/мл	S_r
«Ципролет», Индия	2.62 ± 0.07	0.03
«Ципрофлоксацин», Курган	2.49 ± 0.15	0.06
«Ципромед», Индия	2.29 ± 0.05	0.02

Выводы

Установлено, что при определении антибиотиков группы фторхинолонов методом обращено-фазовой ВЭЖХ с флуориметрическим детектором модификация подвижной фазы γ -циклодекстрином приводит к снижению предела обнаружения до 9 раз. Показана возможность определения ципрофлоксацина в присутствии антибиотиков тетрациклинового и хинолонового рядов. Время удерживания ципрофлоксацина составляет всего 2 мин, что позволяет сократить анализ исследуемых объектов. Предлагаемым способом установлено содержание ципрофлоксацина в трех лекарственных препаратах.

Список литературы

1. Ramos M., Aranda A., Garcia E., Reuvers T., Hooghuis H. Simple and sensitive determination of five quinolones in food by liquid chromatography with fluorescence detection // J. Chromatogr. B. 2003. Vol. 789, № 2. P. 373–381.
2. Dincel A., Yildirim F., Caglayan F., Bozkyrt A. Determination of ciprofloxacin in human gingival crevicular fluid by high-performance liquid chromatography // Acta Chromatogr. 2015. № 15. P. 308–314.
3. Imre S., Dogaru M. T., Vari C. E., Muntean T., Kelemen L. Validation of an HPLC method for the determination of ciprofloxacin in human plasma // J. Pharm. Biomed. Anal. 2003. Vol. 33, № 1. P. 125–130.



4. Zotou A., Miltiadou N. Sensitive LC determination of ciprofloxacin in pharmaceutical preparations and biological fluids with fluorescence detection // J. Pharm. Biomed. Anal. 2002. Vol. 28, № 3–4. P. 559–568.
5. Штыков С. Н. Химический анализ в нанореакторах : основные понятия и применение // Журн. аналит. химии. 2002. Т. 57, № 10. С. 1018–1028.
6. Студ Д. В., Эмвуд Д. Л. Супрамолекулярная хи-

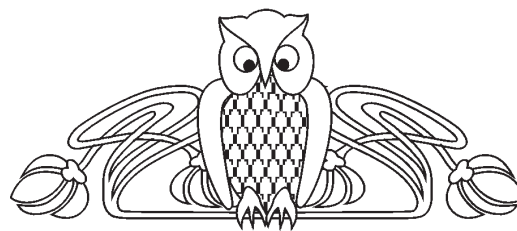
- мия : в 2 т. Т. 1. М. : Академкнига, 2007. С. 372–379.
7. Штыков С. Н., Смирнова Т. Д., Былинкин Ю. Г., Калашникова Н. В., Жемеричкин Д. А. Определение ципрофлоксацина и энрофлоксацина методом сенсibilизированной флуоресценции европия в присутствии второго лиганда и мицелл анионных ПАВ // Журн. аналит. химии. 2007. Т. 62, № 2. С. 153–157.

УДК 543-412:546.171.6:544.127

СИНТЕЗ И СПЕКТРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ФЕНИЛАЗОНАФТОЛОВ

М. З. Т. Аль-Саиди^{1, 2}, С. Н. Штыков¹

¹Саратовский государственный университет
²AL-Mustansiriyah University, College of Science,
Department of Chemistry, Iraq
E-mail: m19z73@yahoo.com
E-mail: shtykovsn@mail.ru



Описан синтез восьми фенилазонафтолов, содержащих гидроксигруппы, карбокси-, сульфогруппы и альдегидные группы. Приведены данные об их элементном составе, результатах термогравиметрического, ЯМР-спектроскопического исследования и электронные спектры поглощения в этаноле.

Ключевые слова: фенилазонафтолы, синтез, спектральные свойства.

Synthesis and Spectroscopic Study of Some Phenylazonaphthols

M. Z. T. Al-Saidi, S. N. Shtykov

Synthesis of eight phenylazonaphthols containing hydroxyl-, carboxy-, sulpho- and aldehyde groups was described. The data concerning elemental, thermogravimetric analysis, NMR-spectra and electronic absorption spectra in ethanol were described.

Key words: phenylazonaphthols, synthesis, spectral properties.

Введение

Согласно мировым оценкам, азосоединения составляют около 70% всех выпускаемых в мире красителей, что обусловлено легкостью их синтеза, большим разнообразием структур и цветовой гаммы, яркостью и устойчивостью окраски [1–3]. Синтетические азосоединения широко используются в настоящее время в пищевой, текстильной, полимерной, фармацевтической, косметической, судостроительной, автомобильной промышленности, химии, биологии, медицине, нелинейной оптике и аналитической химии в качестве красителей, пигментов, лекарственных препаратов, комплексообразующих реагентов, молекулярных зондов, фотохромных

веществ, элементов хранения информации, в фотодинамической терапии, цифровой электронике и т.д. [3–8].

Одним из отличительных свойств азосоединений, влияющих на их окраску и химическое поведение, является азохинонгидразонная таутомерия, впервые обнаруженная еще в середине XIX века [9]. Постоянный интерес к таутомерии азосоединений в аналитической химии вызван разной окраской таутомеров, их разным содержанием в твердых препаратах и растворах и разной реакционной способностью по отношению к ионам металлов [9, 10].

Анализ литературы показал, что у одних азосоединений электронные спектры поглощения таутомеров сильно перекрываются, что затрудняет изучение таутомерного равновесия, а у некоторых – азо- и хинонгидразонным таутомерам соответствуют практически индивидуальные полосы [9–13]. Для объяснения таких отличий необходимы систематические исследования факторов и путей направленного воздействия на таутомерное равновесие соединений, что имеет не только теоретическое, но и важное практическое значение, поскольку позволяет регулировать содержание в растворе комплексообразующей формы органического реагента и определять конечный аналитический эффект.

Известно, что соотношение концентраций таутомерных форм в растворе зависит от строения молекулы, природы и положения в ней заместителей, концентрации самого вещества,



а также от внешних факторов (рН, температура), среди которых основная роль, несомненно, принадлежит растворителю [9, 12–14]. Для выяснения взаимовлияния природы и положения заместителей и факторов среды на таутомерию и положение максимумов спектров азо- и хинонгидразонного таутомеров нами синтезирована серия препаратов – фенилазонафтолов, которые охарактеризованы методами ИК-, ЯМР-, электронной спектроскопии и препаративной химии. Соединения 3–8 синтезированы впервые.

Экспериментальная часть

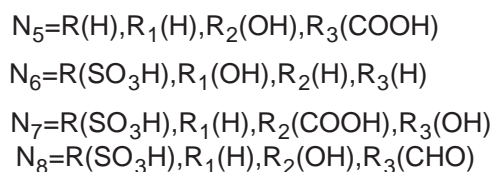
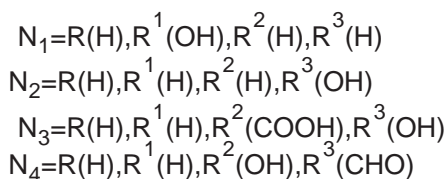
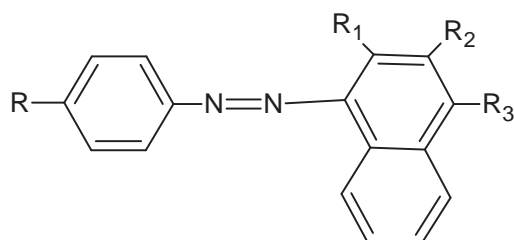
Для получения diaзосоставляющей использовали анилин и сульфаниловую кислоту, квалификации ч.д.а., в качестве азосоставляющей – 1-нафтол, 2-нафтол, (оба ч.д.а.), 1-нафтол-2-карбоксикислоту, 2-нафтол-1-альдегид, 2-нафтол-1-карбоксикислоту (препараты фирмы TCI, Германия, 99% основного вещества). Все вещества использовали без дополнительной очистки. Для создания необходимой кислотности раствора применяли концентрированную соляную кислоту, гидроксид и карбонат натрия, квалификации ч.д.а. Нитрит

натрия имел квалификацию ч.д.а. Для приготовления растворов азосоединений и снятия их спектров поглощения применяли этанол ректифицированный по ГОСТ 5964-82Э. Синтезированные препараты сушили в сушильном шкафу при температуре не выше 110°C. Для оценки чистоты использовали пластинки ТСХ марки Сорбфил с нанесенным силикагелем (Краснодар). Элементный анализ проводили на CHNOS элементном анализаторе vario MICRO. Термогравиметрические исследования проводили на дериватографе OD-102 на воздухе в интервале температур 20–900°C со скоростью нагрева 10°/мин, с Pt-Rh термопарой и эталоном – прокаленным оксидом алюминия. Спектры поглощения получали на спектрофотометре Shimadzu 1800 (Япония). Спектры ЯМР ¹H регистрировали на приборе Varian 400 в дейтерированном ДМСО-d₆ с внутренним стандартом тетраметилсиланом.

Результаты и их обсуждение

Структура и условия синтеза фенилазонафтолов

Общая формула синтезированных фенилазонафтолов имеет следующий вид



Видно, что основными заместителями в молекулах фенилазонафтолов являются гидроксигруппа нафтола в положении 2 или 4 по отношению в азогруппе (заместители R₁ и R₃), сульфогруппы в фенильном и нафтильном кольцах (заместители R и R₂), карбоксигруппа (заместитель R₂) и альдегидная группа (заместитель R₂) в нафтильном кольце. Азосоединения синтезировали по методикам, составленным нами на основе анализа литературы [11, 13–15]. Схемы синтеза азосоединений с применением в качестве diaзосоставляющей анилина и сульфаниловой кислоты различались, поэтому методики синтеза сульфосодержащих и не-

сульфированных азосоединений приводятся отдельно.

Синтез азосоединений 1–5

К 0.72 г (0.005 моль) 1-нафтола или 2-нафтола приливали 5 мл 3 М раствора гидроксида натрия, перемешивали и охлаждали до 0°C. К 0.50 мл (0.0053 моль) анилина добавляли 2.5 мл концентрированной соляной кислоты, 5 мл дистиллированной воды и по каплям раствор нитрита натрия (0.37 г, 0.0053 моль) в 5 мл дистиллированной воды, поддерживая температуру смеси около 0°C. Приготовленный раствор diaзосоединения добавляли на холоду к раствору нафтола при интенсивном переме-



шивании. Выпавший кроваво-красный осадок вместе с реакционной смесью оставляли на 20 мин в ледяной бане. Раствор подкисляли соляной кислотой до pH 1–2, выпавший осадок азосоединения отфильтровывали, промывали холодной водой, сушили и очищали перекристаллизацией из смеси этанол–вода.

Синтез азосоединений 6–8

К навеске 0.49 г (2.8 ммоль) сульфаниловой кислоты добавляли 5 мл воды, 0.13 г карбоната натрия и помещали стакан в горячую воду до получения прозрачного раствора. В другом стакане растворяли 0.2 г нитрита натрия в 1 мл воды. Раствор сульфаниловой кислоты смешивали с раствором нитрита натрия и медленно добавляли 0.5 мл конц. HCl в течение 10 мин при температуре не выше 10°C. К 0.38 г (2.6 ммоль) 2-нафтола (или соответствующему

числу молей другого нафтола) добавляли 2 мл 2.5 М раствора гидроксида натрия и помещали в водяную баню со льдом и магнитной мешалкой, перемешивая смесь в течение 10 мин. Полученный раствор нафтола приливали при перемешивании к диазотированной сульфаниловой кислоте, поддерживая pH > 5 по бумаге Конго и температуру не выше 10°C, далее перемешивали еще 20–25 мин. Полученный азокраситель выделяли добавлением соляной кислоты до pH меньше 1, раствор охлаждали, осадок отфильтровывали, промывали насыщенным раствором хлорида натрия, сушили и очищали перекристаллизацией из смеси этанол–вода. В табл. 1 приведены сведения о температуре плавления, процентном выходе препаратов и результатах их элементного анализа.

Таблица 1

Некоторые характеристики синтезированных азосоединений

Соединение	Формула	Выход, %	T _{пл.} °C	Элементный анализ*		
				C, %	H, %	N, %
1	C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O	82	129–130	77.4 (78.0)	4.84(5.28)	11.3 (11.1)
2	C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O	78	208–210	77.4 (77.8)	4.87(5.29)	11.3(11.0)
3	C ₁₇ H ₁₂ N ₂ O ₃	85	180–181	69.9 (70.6)	4.13(4.70)	9.58(9.41)
4	C ₁₇ H ₁₂ N ₂ O ₂	87	120–121	73.9 (73.6)	4.37(5.10)	10.1(10.6)
5	C ₁₇ H ₁₂ N ₂ O ₃	90	130–132	69.9 (68.4)	4.13(4.70)	9.85(10.1)
6	C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O ₄ S	79	202 разл	–	–	–
7	C ₁₇ H ₁₂ N ₂ O ₆ S	77	233 разл	–	–	–
8	C ₁₇ H ₁₂ N ₂ O ₅ S	62	252 разл	–	–	–

Примечание. *Расчетное и экспериментальное (в скобках) содержание элемента.

Термогравиметрическое исследование показало, что азосоединения, не содержащие сульфогруппы, не имеют кристаллизационной воды, а сульфосодержащие – имеют одну молекулу кристаллизационной воды. При хроматографировании на пластинках ТСХ наблюдали только одну зону вещества, что подтверждало чистоту полученного соединения.

ЯМР-спектр ¹H соединения 7 приведен на рис. 1. Видно, что он включает сигналы протонов нафталинового, бензольного колец, протоны –H, –COOH и –СОН групп. Положения сигналов протонов других азосоединений приведены в табл. 2. Число сигналов протонов соответствует их числу в молекулах. Химический сдвиг протонов гидроксильной, карбоксильной

и альдегидной групп зависит от их участия во внутримолекулярной водородной связи. Более тщательная интерпретация протонных сигналов будет рассмотрена в последующих публикациях, посвященных детальному изучению свойств каждого из синтезированных соединений. Необходимо отметить, что спектры ЯМР получали в дейтерированном диметилсульфоксиде, который, являясь апротонным растворителем, должен лучше стабилизировать хинонгидразонный таутомер.

Спектры поглощения

Спектры поглощения некоторых фенилазонафтолов с различным положением гидроксигруппы в нафталиновом цикле приведены на рис. 2.

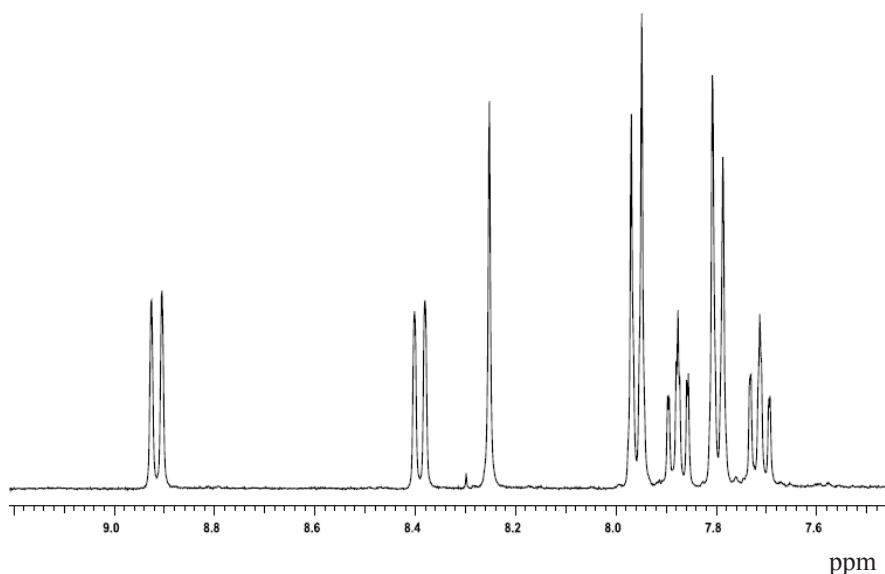
Рис. 1. Протонный спектр соединения 7 в ДМСО-d⁶

Таблица 2

Сигналы ЯМР протонов синтезированных азосоединений

Соединение	Хим. сдвиг, ppm	Количество протонов	Вид сигнала	Тип протона
1	6.77–8.56	11	Мультиплет	Ar-H
	11.56	1	Синглет	ОН
2	7.20–7.86	11	Мультиплет	Ar-H
	11.15	1	Синглет	ОН
3	7.47–8.90	11	Мультиплет	Ar-H
	12.65	1	Синглет	ОН
4	6.91–8.55	10	Мультиплет	Ar-H
	10.79	1	Синглет	СНО
	11.99	1	Синглет	ОН
5	6.91–8.55	10	Мультиплет	Ar-H
	15.79	1	Синглет	ОН
6	6.88–8.55	10	Мультиплет	Ar-H
	15.79	1	Синглет	ОН
7	7.69–8.92	9	Мультиплет	Ar-H
	8.25	1	Синглет	ОН
8	6.88–7.99	9	Мультиплет	Ar-H
	8.54	1	Синглет	СНО
	15.80	1	Синглет	ОН

Видно, что сильное влияние на форму спектра, включающего азо- и хинонгидразонный таутомеры, оказывает как положение гидроксигруппы в нафталиновом цикле, возможность её участия в образовании внутримолекулярной водородной связи с азотом азогруппы, так и наличие сульфогруппы в фенильном кольце. Так, из рис 2, а видно, что в этаноле имеется максимум при 485 и плечо при 420 нм, т.е. доминирующей является гидразоформа, об-

разующаяся за счет переноса протона с гидроксигруппы на азот азогруппы. Интересно, что спектры соединений 4, 5 и 6, у которых гидроксигруппа также образует внутримолекулярную водородную связь с азогруппой, имеют спектр поглощения в этаноле такой же, как и соединение 1, т.е. введение в *o*-положение к гидроксигруппе карбоксильной или альдегидной группы не влияет на таутомерное равновесие.

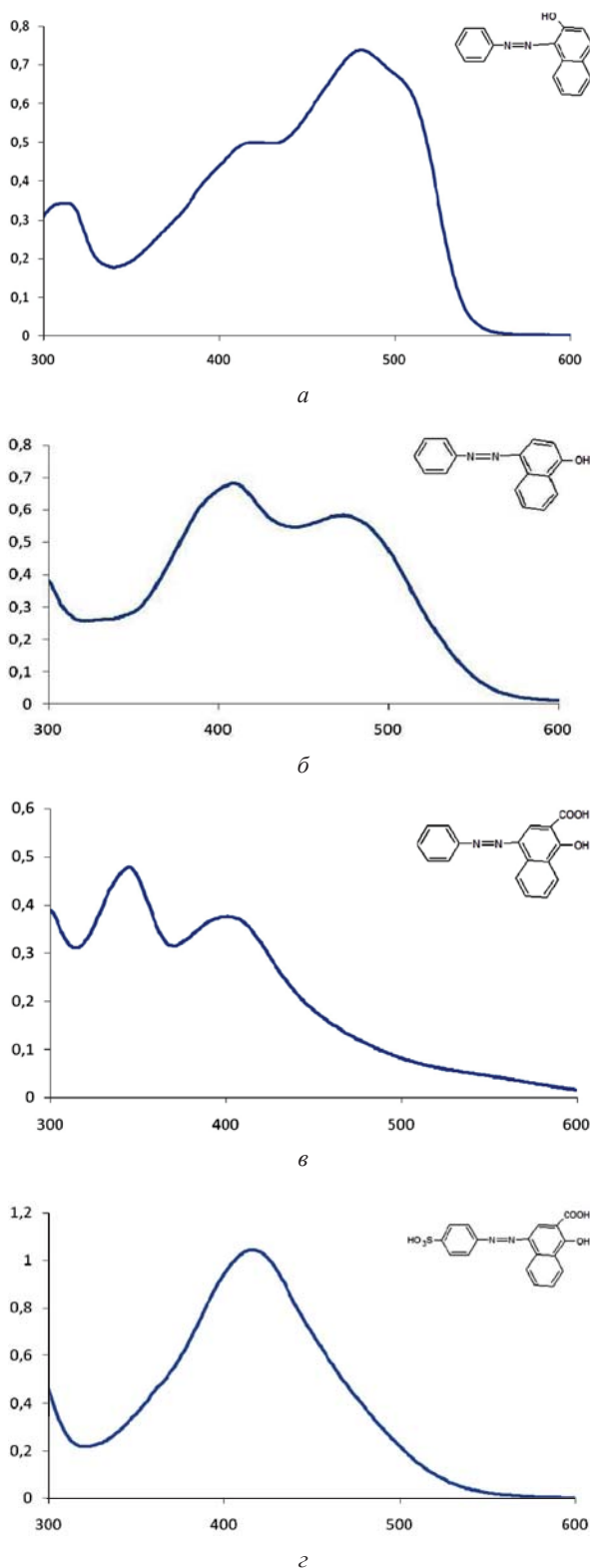


Рис. 2. Спектры поглощения соединений в 95 %-ном этаноле. $C_R = 5 \times 10^{-5}$ М: а – 1; б – 2; в – 3; з – 7

Соединение 2 не может образовывать внутримолекулярную водородную связь и в этаноле имеет два максимума при 470 и 415 нм, причем

концентрация азоформы больше, чем гидразоформы. Резкое отличие в электронных спектрах появляется, когда гидроксигруппа в положении 1 образует внутримолекулярную водородную связь с находящейся в *o*-положении карбоксильной группой. Спектр резко смещается гипсохромно и в растворе практически доминирует азоформа азосоединения с максимумом спектра при 405 нм. Кроме того, в спектре появляется новый максимум при 350 нм, природа которого неясна. Введение сульфогруппы в бензольное кольцо этого азосоединения (соединение 7) снова приводит к резкому изменению в спектре в этаноле, который имеет только один максимум при 420 нм, принадлежащий азоформе, а гидразоформа в растворе практически отсутствует. Таким образом, предварительное исследование синтезированных соединений позволило показать важную роль расположения ОН-группы в нафталиновом кольце и других заместителей, способных вступать с ней во внутримолекулярную водородную связь. Следующим этапом работы будет исследование влияния других заместителей и сравнение влияния на азо-хинонгидразонную таутомерию протондонорных и протонакцепторных растворителей.

Список литературы

1. Степанов Б. И. Введение в химию и технологию органических красителей. М.: Химия, 1977. 488 с.
2. Carliell C. M., Barclay S. J., Shaw C., Wheatley A. D., Buckley C. A. The effect of salts used in textile dyeing on microbial decolourisation of a reactive azo dye // Environ. Technol. 1998. Vol. 19, № 11. P. 1133–1137.
3. Bafana A., Devi S. S., Chakrabarti T. Azo dyes: past, present and the future // Environ. Rev. 2011. Vol. 19. P. 350–370.
4. Иванов В.М. Перспективные аспекты применения гетероциклических азосоединений в аналитической химии // Журн. аналит. химии. 1991. Т.46, № 4. С. 645–674.
5. Амелин В. Г., Третьяков А. В. Адсорбционно закрепленные азореагенты в химических тест-методах анализа, использующих принципы осадочной хроматографии на бумаге // Журн. аналит. химии. 2003. Т. 58, № 8. С. 829–837.
7. Yesodha S. K., Pillai Ch. K. S., Tsutsumi N. Stable polymeric materials for nonlinear optics: a review based on azobenzene systems // Progr. Polym. Sci. 2004. Vol. 29. P. 45–74.
8. Isak S. J., Eyring E. M., Spikes J. D., Meekins P. A. Direct blue dye solutions: photo properties // J. Photochem. Photobiol. A: Chem. 2000. Vol. 134. P. 77–85.
9. Берштейн И. Я., Гинзбург О. Ф. Таутомерия в ряду



- ароматических азосоединений // Успехи химии. 1972. Т. 41, № 2. С. 177–202.
10. Амелин В. Г., Иванов В. М., Свистунова Т. П. Влияние ПАВ на комплексобразование циркония и вольфрама с *n*-нитробензолазопирокатехином // Журн. аналит. химии. 1989. Т. 44, № 5. С. 866–872.
 11. Reeves R. L., Kaiser R. S. Selective solvation of hydrophobic ions in structured solvents. Azo-hydrazone tautomerism of azo dyes in aqueous organic solvents // J. Org. Chem. 1970. Vol. 35, № 11. P. 3670–3675.
 12. Ball P., Nicholls C. H. Azo-hydrazone tautomerism of hydroxylazo compounds – A review // Dyes Pigment. 1982. Vol. 3. P. 5–26.
 13. Штыков С. Н., Окунев А. В., Сафарова М. И. Таутомерное равновесие сульфопроизводных 4-фенилазо-1-нафтола в мицеллярных растворах Бридж-35 и Тритона X-100 // Журн. аналит. химии. 2003. Т. 58, № 11. С. 1154–1160.
 14. Ünal A., Eren B., Eren E. Investigation of the azo-hydrazone tautomeric equilibrium in azo dye involving the naphthalene moiety by UV-vis spectroscopy and quantum chemistry // J. Mol. Struct. 2013. Vol. 1049. P. 303–309.
 15. Лернер И. М., Берлин А. И., Славачевская Н. М. Указатель препаративных синтезов органических соединений. Л.: Химия, Ленингр. отд-ние, 1973. 344 с.

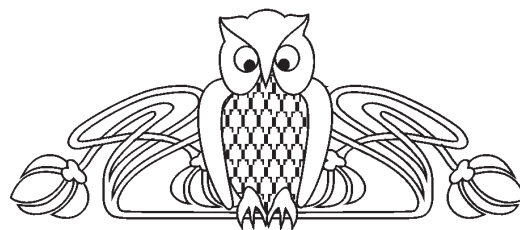
УДК (539.193/194 + 541.6) : 577.112.386.2

КВАНТОВОХИМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИРОДЫ ИНТЕРМЕДИАТА И РЕГИОСЕЛЕКТИВНОСТИ ГОМОЛИТИЧЕСКОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СОЧЕТАНИЯ L-ЦИСТЕИНА

А. Н. Панкратов¹, О. М. Цивилева², О. А. Цымбал¹, Л. А. Белова¹

¹Саратовский государственный университет
E-mail: PankratovAN@info.sgu.ru

²Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов
E-mail: tsivileva@ibppm.sgu.ru



Предпринято квантовохимическое обоснование природы интермедината (тиильный радикал) и региоселективности (S,S-сочетание) реакции гомолитической окислительной димеризации L-цистеина с образованием L-цистина. Протеканию реакции не препятствует электростатический фактор.

Ключевые слова: цистеин, гомолитическое окислительное сочетание, интермединат, региоселективность, спиновая плотность, электростатический фактор, квантовохимическое исследование.

A Quantum Chemical Substantiation of the Intermediate Nature and Regioselectivity of Homolytic Oxidative Coupling of L-cysteine

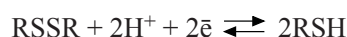
A. N. Pankratov, O. M. Tsivileva,
O. A. Tsybmal, L. A. Belova

A quantum chemical substantiation of the intermediate (thiyl radical) nature and reaction regioselectivity (S,S-coupling) of the L-cysteine homolytic oxidative dimerization resulting by the L-cystine formation has been carried out. The electrostatic factor does not prevent the reaction occurrence.

Key words: cysteine, homolytic oxidative coupling, intermediate, regioselectivity, spin density, electrostatic factor, quantum chemical investigation.

L-Цистеин $H_2NCH(CH_2SH)COOH$ и L-цистин $HOOCCH(NH_2)CH_2SSCH_2CH(NH_2)COOH$ явля-

ются условно незаменимыми (эссенциальными) α -аминокислотами живых организмов, располагающихся на разных ступенях эволюции [1–3]. Редокс-пары типа дисульфид – тиол (меркаптан, тиоспирт) [1–4]



играют огромную роль в живой природе (взаимопревращение L-цистин – L-цистеин [1–3], редокс-процессы с участием глутатиона (γ -глутамилцистеинилглицина) [1–3], α -липоевой (тиоктовой) кислоты (тиоктацида)), в химии хелатообразующих аналитических реагентов – тиогликолевой (меркаптоуксусной) кислоты $HSCH_2COOH$ [5], 8-меркаптохинолина (хинолин-8-тиола, тиооксина) [5–7] и др. L-Цистеин, глутатион, 2-меркаптоэтиламин (2-аминоэтантол, 2-аминоэтилмеркаптан, тиоэтанолламин, цистеамин, меркамин) $HSCH_2CH_2NH_2$, его окисленный димер бис-(2,2'-аминоэтил)дисульфид (бис-(β -аминоэтил)дисульфид, цистамин) $H_2NCH_2CH_2SSCH_2CH_2NH_2$ и другие серусодержащие соединения являются радиопротекторами [8–11].



Тиофенол (бензолтиол, меркаптобензол, фенилмеркаптан, фенилтиол) C_6H_5SH и его производные находят применение в синтезе лекарственных препаратов, пестицидов, красителей, полимеров, ингибиторов радикальных реакций, стабилизаторов и других добавок к синтетическим каучукам [12], важны как модельные вещества для изучения кислотно-основных [13], окислительно-восстановительных и других свойств различных ароматических и гетероароматических тиолов.

Селен – жизненно важный микроэлемент с уникальными биологическими функциями; его соединения обладают широким спектром биологического действия [14]. В наноразмерном состоянии селен является многообещающей платформой для адресной доставки инкапсулированных лекарственных веществ непосредственно во внутриклеточное пространство, позволяющей значительно уменьшить концентрацию препарата без снижения его эффективности, без повреждения здоровых тканей и органов.

Вероятно, в культурах микроорганизмов элементный селен образуется в результате взаимодействия его соединения с остатками *L*-цистеина [15]. В связи с этим с помощью методов визуального наблюдения и фотографической регистрации, рентгенофазового анализа, ВЭЖХ, КР, ЯМР 1H , энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии, сканирующей электронной микроскопии, квантовой химии (DFT на уровне $B3LYP/6-311++G(d,p)$) нами было изучено биоподобное взаимодействие 1,5-дифенилселенопентандиона-1,5 (диацетофенонилселенид, бис(бензоилметил)селенид, препарат ДАФС-25) $C_6H_5COCH_2SeCH_2COC_6H_5$ со стехиометрическим и избыточным количеством *L*-цистеина в водных растворах различной кислотности. В ходе реакции *in vitro* органический селенид (0.5 г на 50 мл растворителя) количественно подвергается деструкции до метилфенилкетона (ацетофенон) $C_6H_5COCH_3$, селен восстанавливается до элементного состояния, а *L*-цистеин окисляется до *L*-цистина. Первоначально образующийся красный селен переходит в термодинамически более устойчивую кристаллическую серую аллотропную модификацию. Если в гетерогенной реакционной системе объем буферного раствора увеличить в 20 раз, то образуется микрогетерогенный раствор и/или взвесь красного селена. В случае генезиса элементного селена в грибных культурах последний отлагается на гифах мицелия также в красной форме.

Превращение *L*-цистеина в *L*-цистин – один из многочисленных примеров реакций гомолитического (радикального) окислительного сочетания (димеризации) ([4, 16–18] и др.).

Проблема объяснения направления протекания реакций окисления *L*-цистеина до *L*-цистина (не только диацетофенонилселенидом, но и другими окислителями, а также в электрохимическом, радиационно-химическом и иных вариантах) актуальна для предсказания химического, электрохимического поведения, устойчивости к действию ионизирующих излучений, радиопротекторной активности названных выше и других ключевых для химии и биохимии редокс-систем дисульфид – тиол.

Цель настоящей работы – квантовохимическое обоснование природы интермедиата и региоселективности реакции гомолитического окислительного сочетания *L*-цистеина.

Методология теоретического исследования

Квантовохимические расчеты проводили гибридным методом теории функционала плотности (DFT) [19–22] по программам пакета Gaussian 03W [23] аналогично тому, как это реализовано в работах, цитируемых в [16]. В рамках SCF использован гибридный функционал $B3LYP$, сочетающий трехпараметровый обменный функционал Бекке [24, 25] и корреляционный функционал Ли – Янга – Парра (LYP) [26]. Расчеты осуществляли с использованием критерия сходимости «tight» [26, 27]. Взят достаточно широкий базисный набор $6-311++G(3df,3pd)$ [28, 29]. Для корректного учета неподеленных электронных пар в изученных молекулярных системах включены диффузные функции. В гармоническом приближении рассчитывались частоты колебаний для оценки энергии нулевых колебаний, которые были включены во все величины относительной энергии. Все равновесные структуры без мнимых частот отвечают точкам минимумов на поверхностях потенциальной энергии. Условие сходимости по RMS-матрице плотности составляло $1 \cdot 10^{-8}$ в течение 200 итерационных циклов, по MAX-матрице плотности – $1 \cdot 10^{-6}$, по энергии – $1 \cdot 10^{-6}$ а.е. Начальная геометрия генерировалась по программам пакета *HyperChem* [*HyperChem* (TM), *Hypercube, Inc.*, Gainesville, Florida 32601, U.S.A.] и оптимизировалась методом PM3 [30, 31]. Анализ натуральных связевых орбиталей (NBO-анализ) [32–35] проводили по программе NBO 3.1 [35].



Результаты и их обсуждение

Для обсуждения природы возможного интермедиата димеризации *L*-цистеина мы произвели квантовохимические расчеты пространственно-

го, электронного строения и частот колебаний молекул и катион-радикалов *L*-цистеина и объекта сравнения – молекулы сероводорода H_2S (табл. 1).

Таблица 1

Длина, натуральный порядок (индекс К. Б. Уайберга) и частоты валентных колебаний связей S-H, рассчитанные на уровне теории B3LYP/6-311++G(3df,3pd) и UB3LYP/6-311++G(3df,3pd)



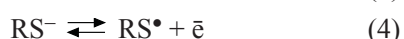
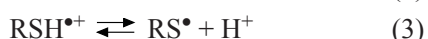
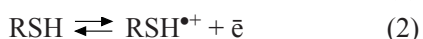
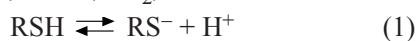
Молекулярная система	Длина связи, Å		Натуральный порядок связи	Частоты, cm^{-1}
	расчет	эксперимент [40]		
H_2S	1.342	1.335	0.987	2705; 2692
$H_2S^{\bullet+}$	1.363	–	0.244	2571; 2568
RSH	1.343	$1.329 \pm 0.005^*$	0.766	2678
$RSH^{\bullet+}$	1.349	–	0.241	2646

Примечание. *Среднее значение, основанное на определении длины подобных связей во многих родственных молекулах.

α -Аминокислоты в кристаллах ([36–39] и др.) и в водных растворах [2, 3] существуют в виде цвиттер-ионов. Тем не менее мы рассматривали аминокислоты в молекулярной форме, поскольку: 1) это более адекватная модель аминокислотного звена в полипептидной цепи; 2) многие биохимические процессы [1–3], в том числе включающие усвоение селена, протекают в липофильных, а не водных, средах; 3) при газофазных квантовохимических *ab initio* и DFT расчетах биполярные структуры в ходе оптимизации геометрии перегруппировываются в молекулярные формы.

Расчеты показали, что молекула и катион-радикал сероводорода имеют точечную группу симметрии C_{2v} , молекула и катион-радикал *L*-цистеина – группу C_1 . Как для сероводорода, так и для *L*-цистеина при удалении электрона длина связи S-H остается почти неизменной, в то время как резко снижается ее натуральный порядок (индекс К. Б. Уайберга) и уменьшается частота валентного колебания.

Первоначально можно предположить следующие полуреакции с участием *L*-цистеина ($R = CH(NH_2)(COOH)CH_2$):



Процессы (1) и (3) являются протолитическими, (2) и (4) – окислительно-восстановительными, (5) и (6) – рекомбинационными.

Известно [41–45], что катион-радикал сероводорода является сверхкислотой (суперкислотой) [7, 46–49]. Близкая степень разрыхленности связи S-H в катион-радикалах сероводорода и *L*-цистеина позволяет сделать вывод о сверхкислотном характере катион-радикала *L*-цистеина даже безотносительно к реакционной среде. Это не противоречит эксперименту: очень часто депротонирование катион-радикалов не зависит от кислотности среды и может протекать даже в сильных кислотах [43]. Сказанное безусловно справедливо для катион-радикала $H_2S^{\bullet+}$ сероводорода (значение $pK_a \approx -23$) [41–45] и сопоставимого с ним по кислотности (по данным наших расчетов) катион-радикала *L*-цистеина.

Таким образом, катион-радикал *L*-цистеина $RSH^{\bullet+}$ ($R = CH(NH_2)(COOH)CH_2$) отщепляет протон (полуреакция 3), и в реакцию гомолитической димеризации вступает электронейтральный тиильный радикал RS^\bullet . Сверхкислотный [7, 46–49] характер катион-радикала *L*-цистеина исключает стадию (5).

В середине 1980-х – начале 1990-х гг. было показано, что региоселективность реакций гомолитической окислительной и восстановительной димеризации (сочетания) органических соединений различных классов управляется спиновой плотностью на атомах в реакционных интермедиатах (электронейтральных радикалах, катион-радикалах, анион-радикалах), рассчитанной *ab initio*, DFT и полуэмпирическими методами квантовой химии.

Сформулированы общие тенденции распределения спиновой плотности в радикальных и ион-радикальных интермедиатах и закономер-



ности, регулирующие реакционную способность и региоселективность гомолитического (окислительного и восстановительного) сочетания органических соединений различных классов. Для объяснения и предсказания направлений указанных реакций апробировано квантовохимическое рассмотрение с позиций анализа кинетического (включая спиновую плотность), термодинамического, стерического факторов ([16–18] и др.).

В числе решенных проблем этим же автором в указанный период отмечена химическая неэквивалентность ароматических колец в катион-радикалах замещенных соединений рядов дифениламина $(C_6H_5)_2NH$ и трифениламина $(C_6H_5)_3N$ с точки зрения распределения спиновой плотности, обоснованы направления гомолитического окислительного сочетания незамещенных и замещенных соединений названных рядов и их гетероциклических аналогов (карбазол, акридан, акридон, феноказин, фенотиазин). Проанализировано влияние строения реакционного центра, состояния неподеленной электронной пары аминного атома азота (см. [16–18] и библиографию этих работ), а также (совместно с профессором С. П. Муштаковой и профессором, членом-корреспондентом РАН Л. А. Грибовым) роль дальнедействующих сил (электростатический потенциал молекул) на протолитические и окислительно-восстановительные свойства аминосоединений [50].

Впоследствии найдены корреляции окислительно-восстановительного потенциала диариламинов с первым потенциалом ионизации и на этой основе создана методология прогноза селективности аналитических редокс-реагентов, а также выведены количественные соотношения, связывающие величины pK_a , характеризующие протонирование аминов по азоту и диссоциацию карбоксизамещенных реагентов по $COOH$ -группе, со сродством к протону дифениламинов и COO^- -содержащих анионов, и выражения для более точной по сравнению с прямым квантовохимическим расчетом оценки дипольного момента молекул [51,

52]. Обосновано строение продукта окисления дифениламина [53].

Спиновая плотность ($\rho_{\text{спин}}$) [54–57] на атоме серы в тиольном интермедиате RS^\bullet , рассчитанная нами на уровне теории UB3LYP/6-311++G(3df,3pd), составляет 0.980. На всех атомах С, N, O абсолютная величина $\rho_{\text{спин}}$ не выше 0.08. На атомах С, N, O, несущих избыток спиновой плотности, значение $\rho_{\text{спин}}$ не превышает 0.04.

Как видно, спиновая плотность в основном сосредоточена на атоме серы. Тем самым подтверждается радикальный механизм окисления *L*-цистеина и объясняется факт окислительного сочетания *L*-цистеина по атому серы.

Волновая функция в неограниченном методе Д. Р. Хартри – В. А. Фока [54, 55, 58], используемом для расчета спиновой плотности, не является собственной функцией оператора \hat{S}^2 и содержит примесные компоненты высших мультиплетностей. Для устранения спин-контаминации волновой функции при квантовохимических расчетах нами использована процедура спин-аннигиляции [55]. В результате полный спин S^2 после аннигиляции для радикалов RS^\bullet ($R = CH(NH_2)(COOH)CH_2$) и $RCOO^\bullet$ ($R = CH(NH_2)CH_2SH$) составил 0.7500, что точно совпадает с величиной для чистого дублетного состояния, характерного для радикальных частиц с одним неспаренным электроном.

Последнее свидетельствует о том, что спиновая плотность как индекс реакционной способности применена корректно, как и в предыдущих исследованиях [4, 16–18]. Впрочем, названный индекс доказал свою предсказательную силу даже в тех случаях, когда чистота спинового состояния не обеспечена [59].

В молекуле и катион-радикале *L*-цистеина карбоксильная группа $COOH$ обладает более выраженными кислотными свойствами по сравнению с тиольной SH . Это следует хотя бы из известных данных о сравнительной кислотности $COOH$ - и SH -групп [60, 61]. В катион-радикале *L*-цистеина $COOH$ -группа должна, подобно тиольной, являться сверхкислотной (табл. 2).

Таблица 2

Длина, натуральный порядок (индекс К. Б. Уайберга) и частота валентного колебания связи $O-H$, рассчитанные на уровне теории B3LYP/6-311++G(3df,3pd) и UB3LYP/6-311++G(3df,3pd)
 $R = CH(NH_2)CH_2SH$

Молекулярная система	Длина связи, Å		Натуральный порядок связи	Частота, cm^{-1}
	расчет	эксперимент [40]		
RCOOH	0.968	$0.97 \pm 0.01^*$	0.740	3744
RCOOH ⁺	0.971	–	0.179	3719

Примечание. *Среднее значение, основанное на определении длины подобных связей во многих родственных молекулах $R'OH$, где R' означает самые различные органические и неорганические структурные группы.



В ходе оптимизации геометрии возможно на первый взгляд радикала $\text{H}_2\text{NCH}(\text{CH}_2\text{SH})\text{COO}^\bullet$, полученного удалением электрона из дис-

социированного по COOH -группе L -цистеина $\text{H}_2\text{NCH}(\text{CH}_2\text{SH})\text{COO}^-$, происходит элиминирование молекулы оксида углерода (IV) CO_2 (рис. 1).

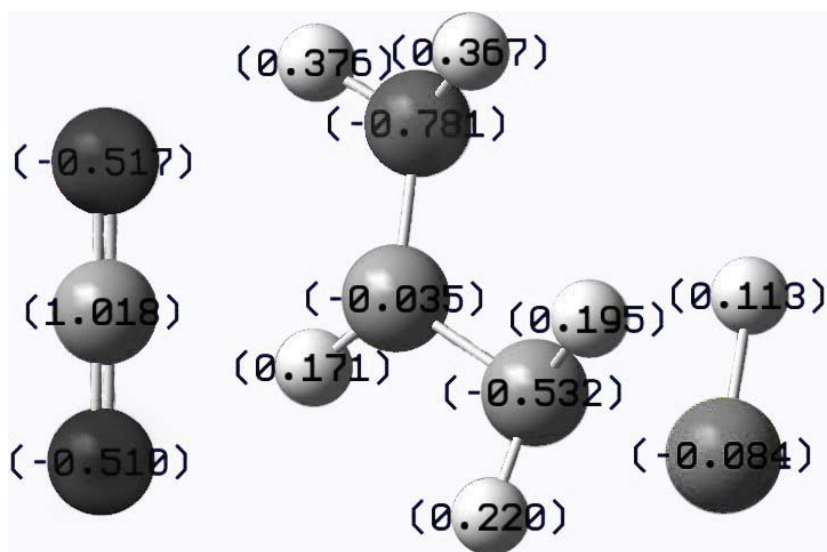


Рис. 1. Naturalный заряд на атомах в молекулярной системе, образующейся в результате оптимизации геометрии начального приближения радикала RCOO^\bullet ($\text{R} = \text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{SH}$)

В равновесном комплексе $\text{CO}_2 \cdots \bullet\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2 \cdots \text{SH}$ молекула CO_2 геометрически почти сформирована.

Длина обеих связей $\text{C} \cdots \text{O}$ составляет 1.159–1.160 Å, что согласуется с экспериментом [62] для молекулы оксида углерода (IV) – 1.162 Å. Валентный угол COC , равный 178.6°, почти не отличается от экспериментального значения 180°, отвечающего линейной молекуле [62].

Расстояние между метиновым атомом углерода и углеродным атомом фрагмента CO_2 составляет 3.389 Å. Валентный угол $\text{NC}(\text{метиновый})\text{C}(\text{CO}_2)$ равен 104.5°, валентные углы $\text{C}(\text{метиновый})\text{C}(\text{CO}_2)\text{O}(\text{CO}_2)$ 89.2° и 92.2° соответственно с ближайшим к азоту и более от него удаленным кислородными атомами; фрагмент CO_2 перпендикулярен оси $\text{C}(\text{метиновый})\text{C}(\text{CO}_2)$. Двугранные (торсионные) углы $\text{NC}(\text{метиновый})\text{C}(\text{CO}_2)\text{O}(\text{CO}_2)$ с участием перечисленных в том же порядке атомов кислорода имеют величины –3.5° и 176.6°, то есть взаимное расположение связи $\text{N}-\text{C}(\text{метиновый})$ и одной из связей $\text{C} \cdots \text{O}$ практически отвечает заслоненной конформации.

НРА-Заряд на атоме углерода CO_2 -подсистемы равен 1.018, на атомах кислорода (в обозначенной выше последовательности) –0.517 и –0.510. Суммарный натуральный заряд составляет –0.009, натуральный порядок связей $\text{C} \cdots \text{O}$

(упоминаемых в том же порядке, что и O-атомы) 0.470 и 0.472. Значимых величин спиновой плотности на атомах C и O не отмечается.

Для сравнения приведем рассчитанные нами характеристики для изолированной молекулы CO_2 : в линейной молекуле длина связи $\text{C}=\text{O}$ 1.159 Å, натуральный заряд на атоме углерода 1.017, на атомах кислорода –0.5085, натуральный индекс К. Б. Уайберга $\text{C}=\text{O}$ -связей 1.886.

Существенное отличие фрагмента CO_2 в составе молекулярной системы $\text{CO}_2 \cdots \bullet\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2 \cdots \text{SH}$ от индивидуальной молекулы оксида углерода(IV) состоит лишь в натуральном порядке связи углерод–кислород: если в молекуле CO_2 связь $\text{C}=\text{O}$ типично двойная, то в уходящей CO_2 -подсистеме комплекса не возникло даже одинарной.

Связывание между атомами углерода метиновой группы CH и подсистемы CO_2 в комплексе $\text{CO}_2 \cdots \bullet\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2 \cdots \text{SH}$ практически отсутствует (натуральный порядок 0.0003, по сути, нулевой), так что можно констатировать тенденцию к необратимому декарбоксилации.

Налицо пространственные условия, благоприятствующие образованию связи между углеродным атомом метиленовой группы CH_2 и атомом серы: соответствующее расстояние $\text{C}-\text{S}$ равно 1.898 Å в системе $\text{CO}_2 \cdots \bullet\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2 \cdots \text{SH}$ и 1.836 Å в молекуле L -цистеина. Связь $\text{S}-\text{H}$



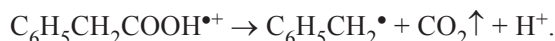
имеет длину 1.342 Å в комплексе и 1.343 Å в молекуле; валентный угол CSH в названных молекулярных системах – 95.5° и 95.7° соответственно. Средние экспериментальные значения, основанные на определении параметров подобных связей и углов во многих родственных молекулах, представлены величинами $1.817 \pm \pm 0.005$ Å (C-S в R₂S), 1.329 ± 0.005 Å (S-H в RSH) и 100° (CSH в RSH). Здесь символ R использован для иллюстрации координации (валентности) рассматриваемых атомов и означает самые разные структурные группы – органические и неорганические. Результаты квантовохимических расчетов обсуждаемых пространственных характеристик молекулы *L*-цистеина согласуются также с данными рентгеноструктурного [37, 38] и нейтронографического [39] анализа. В частности, для длины связи C-S в кристаллической структуре *L*-цистеина приводятся значения 1.86 и 1.77 Å в двух независимых молекулах [37]; связь S-H имеет длину 1.45 и 1.36 Å в цвиттер-ионах H₃N⁺CH(CH₂SH)COO⁻ *L*-цистеина, участвующих в межмолекулярных водородных связях S-H...S и S-H...O соответственно [39]. Величины геометрических параметров системы CO₂...CH(NH₂)CH₂...SH близки к таковым для молекулы *L*-цистеина. В то же время натуральный индекс К. Б. Уайберга составляет 0.242 в комплексе (имеется лишь некоторое связывание) и 1.012 в молекуле (одинарная связь сформирована). На атоме серы в комплексе CO₂...CH(NH₂)CH₂...SH сосредоточен небольшой избыток (0.146) спиновой плотности. Главным образом (0.803) спиновая плотность локализована на метиновом атоме углерода.

Тенденция к элиминированию оксида углерода (IV) CO₂ присуща не только *L*-цистеину, то есть не связана лишь с наличием в молекуле SH-группы. Наши расчеты показывают спонтанный выброс небольшой устойчивой молекулы CO₂ также радикалами H₂NCH(CH₃)COO•, H₂NCH₂COO• *L*-2-аминопропановой кислоты (*L*-аланин) H₂NCH(CH₃)COOH и аминокислоты (глицин, гликокол) H₂NCH₂COOH.

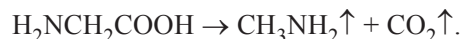
Гибридный характер DFT (наличие полумпирической составляющей) в ряде случаев приводит к непредсказуемому асимптотическому поведению адиабатического потенциала при большом межъядерном расстоянии. Поэтому не следует переоценивать точность расчета представленных выше расстояний между валентно не связанными (C(CH) и C(CO₂)) и слабосвязанными (C(CH₂) и S) атомами и, как следствие, соответствующих характеристик связывания

(значений натурального порядка связей C(CH)...C(CO₂) и C(CH₂)...S). В то же время, поскольку в качестве начального приближения геометрии до DFT-оптимизации была взята пространственная структура радикала H₂NCH(CH₂SH)COO• с нормальными значениями длины связей, направление (отщепление молекулы CO₂) и необратимый характер распада названного гипотетического радикала DFT-расчет передает верно.

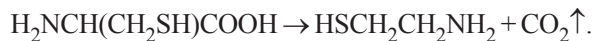
Возможность отрыва молекулы CO₂ от COO•-радикала *L*-цистеина подтверждается данными литературы. Известен [63, 64] подобный распад катион-радикала фенилуксусной (-толуиловой) кислоты C₆H₅CH₂COOH:



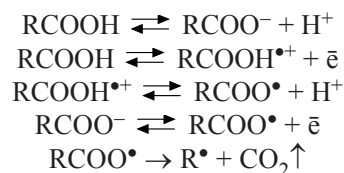
При облучении глицина H₂NCH₂COOH рентгеновскими лучами, α-частицами и дейтронами основными конечными продуктами, образующимися, по-видимому, только при растворении или другом размягчении кристалла, являются метиламин CH₃NH₂ и оксид углерода (IV) CO₂ [8]:



В результате рентгеновского облучения *L*-цистеина в сухом состоянии он декарбоксилируется, давая цистеамин HSCH₂CH₂NH₂ [8]:



На основе результатов квантовохимического рассмотрения можно представить альтернативное упомянутому выше гипотетическое направление окислительного превращения *L*-цистеина (R = CH(NH₂)CH₂SH) (без учета дальнейшей трансформации радикала R•, в том числе димеризации и других гомолитических процессов с участием метинового атома углерода, и маловероятного отщепления сульфгидрильного радикала •SH с последующим его участием в радикальных стадиях; RCOO• представляет собой CO₂...CH(NH₂)CH₂...SH):



Однако в ходе экспериментального исследования (ВЭЖХ, ЯМР ¹H) в реакционных смесях взаимодействия диацетофенилселенида с *L*-цистеином нами не обнаружено цистеамин HSCH₂CH₂NH₂, который мог бы образоваться путем захвата атома водорода H• радикалом •CH(NH₂)CH₂SH, продуктов сочетания с уча-



ствием указанного радикала, а также этиламина $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NH}_2$, аминокетена (виниламин) $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{NH}_2$ (в форме выпадающего в осадок полимера), других возможных продуктов деструкции системы $\text{CO}_2\cdots\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\cdots\text{SH}$ и гомолитических превращений ее осколков; предполагаемые интермедиаты $\text{CO}_2\cdots\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\cdots\text{SH}$, $\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{SH}$, $\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{S}^\bullet$ не вовлечены в реакцию органического селенида с *L*-цистеином.

По-видимому, в сверхкислотном [7, 46–49] катион-радикальном состоянии протоненная сила группы SH сопоставима с протонодонорной способностью группы COOH. Об этом косвенно свидетельствует соразмерный характер резкого снижения натурального индекса К. Б. Уайберга связей S-H и O-H при переходе от молекул к катион-радикалам (см. табл. 1 и 2). При этом более высокая степень локализации (0.980) спиновой плотности на атоме серы в тиильном радикале

$\text{H}_2\text{NCH}(\text{CH}_2\text{S}^\bullet)\text{COOH}$ по сравнению со степенью ее сосредоточения (0.803) на метиновом атоме углерода комплекса $\text{CO}_2\cdots\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\cdots\text{SH}$ может обеспечивать более высокую скорость димеризации тиильного радикала по S-центру и, следовательно, селективность участия именно тиильного интермедиата в окислительном сочетании *L*-цистеина.

Итак, по данным проведенных квантовохимических расчетов, согласующихся с данными литературы [1–3] и наших экспериментов, единственным направлением окислительной димеризации *L*-цистеина является S,S-сочетание с образованием *L*-цистина.

Протеканию реакции окислительного S,S-сочетания тиильного радикала RS^\bullet ($\text{R} = \text{CH}(\text{NH}_2)(\text{COOH})\text{CH}_2$) способствует сравнительно небольшой натуральный положительный заряд на атоме серы (рис. 2, а). Для

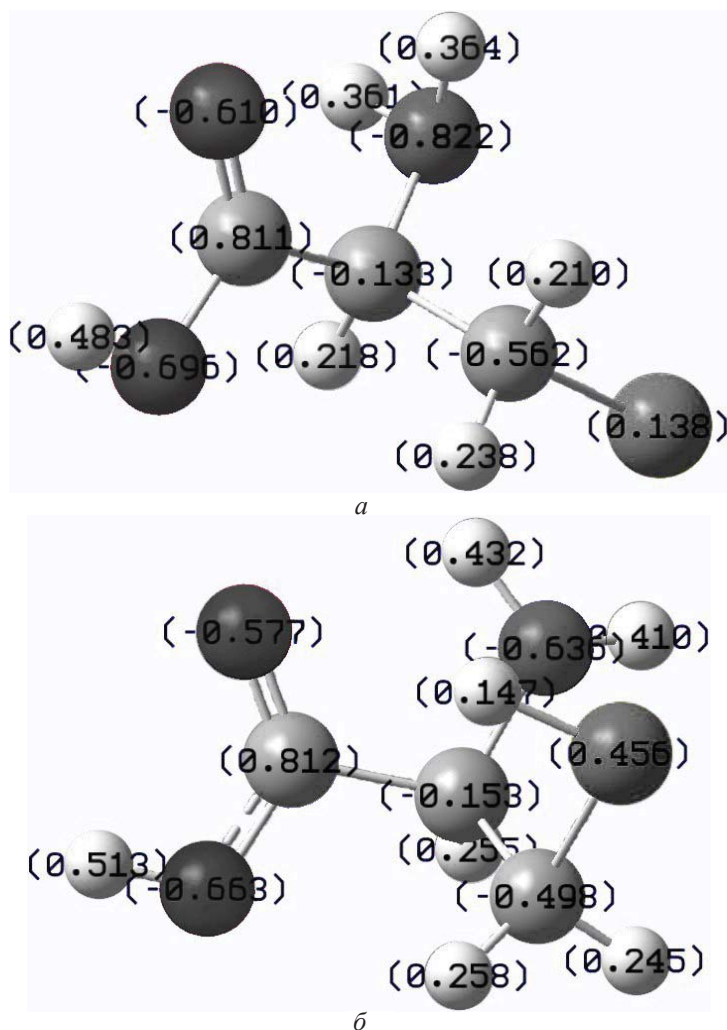


Рис. 2. Натуральный заряд на атомах в тиильном радикале (а) и катион-радикале (б) *L*-цистеина по данным UB3LYP/6-311++G(3df,3pd)-расчетов



гипотетической стадии димеризации катион-радикала $RSH^{\bullet+}$ влияние электростатического фактора было бы не столь благоприятным (рис. 2, б).

Заключение

На уровне $B3LYP/6-311++G(3df,3pd)$ рассчитана пространственная и электронная структура молекулы и катион-радикала *L*-цистеина. Катион-радикал является сверхкислотой. Интермедиат реакции сочетания *L*-цистеина – электронейтральный тиильный радикал, на основе распределения спиновой плотности на атомах в котором обосновано направление гомолитической окислительной димеризации *L*-цистеина с образованием дисульфида – *L*-цистина. Протеканию реакции *S,S*-сочетания не препятствует электростатический фактор.

Список литературы

1. Янг Л., Моу Дж. Метаболизм соединений серы / пер. с англ. Е. В. Горяченко; под ред. и с предисл. С. Я. Капланского. М.: Изд-во иностр. лит., 1961. 196 с. (Young L., Maw G. A. The Metabolism of Sulphur Compounds. L.: Methuen & Co Ltd; N.Y.: John Wiley & Sons, Inc., 1958).
2. Общая органическая химия / под ред. Д. Бартона, У. Д. Оллиса. Т. 10. Нуклеиновые кислоты, аминокислоты, пептиды, белки / Е. Хаслам, Г. М. Блэкборн, Р. Т. Уокер, Д. В. Хатчинсон, П. М. Харди, Д. Т. Элмор, Б. К. Бикрофт, Г. Лоу, Р. С. Шепард, Дж. С. Баррет, А. Дж. Кирби, Г. К. С. Вуд, Б. Т. Голдинг; под ред. Е. Хаслама; пер. с англ. В. И. Беганели, А. А. Коста, С. Н. Кочеткова; под ред. Н. К. Кочеткова, М. А. Членова. М.: Химия, 1986. 704 с. (Comprehensive Organic Chemistry. The Synthesis and Reactions of Organic Compounds / D. Barton, W. D. Ollis, Chairman and Deputy Chairman of the Editorial Board. Vol. 5. Biological Compounds / ed. by E. Haslam. Oxford; N.Y.; Toronto; Sydney; P.; Frankfurt: Pergamon Press, 1979).
3. Алейникова Т. Л., Авдеева Л. В., Андрианова Л. Е., Белушкина Н. Н., Волкова Н. П., Воробьева С. А., Голенченко В. А., Губарева А. Е., Корлякова О. В., Лихачева Н. В., Павлова Н. А., Рубцова Г. В., Силяева С. А., Силюянова С. Н., Титова Т. А. Биохимия / под ред. Е. С. Северина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 784 с.
4. Панкратов А. Н. Избранные главы электрохимии органических соединений. Ионные жидкости. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2011. 132 с.
5. Коренман И. М. Органические реагенты в неорганическом анализе. М.: Химия, 1980. 448 с.
6. Банковский Ю. А. Химия внутрикомплексных соединений меркаптохинолина и его производных. Рига: Зинатне, 1978. 488 с.
7. Панкратов А. Н. Кислоты и основания в химии. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2006. 196 с.
8. Своллоу А. Радиационная химия органических соединений / пер. с англ. И. В. Верещинского, В. А. Кронгауза, В. Д. Орехова; под ред. В. Л. Карпова. М.: Изд-во иностр. лит., 1963. 408 с. (Swallow A. J. Radiation Chemistry of Organic Compounds. Oxford; L.; N.Y.: Pergamon Press, 1960).
9. Нанобашвили Е. М., Чиракадзе Г. Г., Симонидзе М. Ш., Бахтадзе И. Г., Иваницкая Л. В. Радиолитические соединения: в 2 ч. Тбилиси: Мецниереба, 1967. Ч. 1. 148 с.
10. Бяков В. М., Ничипоров Ф. Г. Внутритрековые химические процессы. М.: Энергоатомиздат, 1986. 152 с.
11. Пикаев А. К. Современная радиационная химия. Радиолит газы и жидкостей / отв. ред. В. И. Спицын. М.: Наука, 1986. 440 с.
12. Химическая энциклопедия / гл. ред. Н. С. Зефиоров; зам. гл. ред. Н. Н. Кулов. М.: Большая рос. энцикл., 1995. Т. 4. 639 с.
13. Панкратов А. Н., Шалабай А. В. Квантовохимическая оценка протолитических свойств тиофенолов // Журн. структур. химии. 2004. Т. 45, № 5. С. 800–806.
14. Schrauzer G. N. Nutritional Selenium Supplements: Product Types, Quality, and Safety // J. Amer. College of Nutrition. 2001. Vol. 20, № 1. P. 1–4.
15. Torres S. K., Campos V. L., León C. G., Rodríguez-Llamazares S. M., Rojas S. M., González M., Smith C., Mondaca M. A. Biosynthesis of Selenium Nanoparticles by *Pantoea agglomerans* and Their Antioxidant Activity // J. of Nanoparticle Research. 2012. Vol. 14, № 11. P. 1–9.
16. Pankratov A. N. Electronic Structure and Reactivity of Inorganic, Organic, Organoelement and Coordination Compounds: An Experience in the Area of Applied Quantum Chemistry // Quantum Chemistry Research Trends / J. S. M. Anderson, S. Tolosa Arroyo, P. W. Ayers, J. C. Cesco, A. L. A. Fonseca, A. Hidalgo García, C. Kozmutza, J. A. Sansón Martín, R. D. Muhandirange, D. L. Nascimento, F. S. Ortiz, A. N. Pankratov, J. E. Pérez, M. V. Putz, J. I. Rodriguez, Yun Shi, O. E. Taurian, D. C. Thompson, L. Udvardi, J. H. van Lenthe, I. Varga, J. B. Wang, Hai-tao Zhang, Zheng-yu Zhou; ed. M. P. Kaisas. N.Y.: Nova Science Publishers, Inc., 2007. P. 57–125.
17. Pankratov A. N. Trends in Spin Density Distribution in Radical Intermediates in Connection with Homolytic Coupling Directions of Organic Compounds // J. Mol. Struct.: THEOCHEM. 1994. Vol. 315, № 1. P. 179–186.
18. Pankratov A. N., Stepanov A. N. Oxidation and Homolytic Coupling Regioselectivity of Carbazole in Acidic Media // Croatica Chem. Acta. 1997. Vol. 70, № 2. P. 585–598.
19. Шлютер М., Шэм Л. Теория функционала плотности // Физика за рубежом: сб. науч.-поп. ст. Теория поля. Жидкие кристаллы. Физика твердого тела. Астро- и геофизика. Новости физики / А. Сингер, Дж. Литстер, Р. Биржено, П. Першан, Э. Сеймалски, У. Бринкмен, П. Клейдис, Р. Пиндак, Д. Монктон, Дж. Волф, Дж. Филипс, М. Шлютер, Л. Шэм, Г. Ньюкирк, К. Фрейзиер; пер. с англ. Л. М. Бли-



- нова, Д. В. Гальцова, К. А. Кикоина, А. В. Когана, Е. З. Мейлихова. М. : Мир, 1983. С. 179–203.
20. Koch W., Holthausen M. C. A Chemist's Guide to Density Functional Theory. Toronto : Willey-VCH, 2001. 293 p.
21. Кон В. Электронная структура вещества – волновые функции и функционалы плотности // Успехи физ. наук. 2002. Т. 172, № 3. С. 336–348.
22. Sousa S. F., Fernandes P. A., Ramos M. J. General Performance of Density Functionals // J. Phys. Chem. A. 2007. Vol. 111, № 42. P. 10439–10452.
23. Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Zakrzewski V. G., Montgomery J. A., Stratmann R. E., Burant J. C., Dapprich S., Millan J. M., Daniels A. D., Kudin K. N., Strain M. C., Farkas O., Tomasi J., Barone V., Cossi M., Cammi R., Mennucci B., Pomelli C., Adamo C., Clifford S., Ochterski J., Petersson G. A., Ayala P. Y., Cui Q., Morokuma K., Malich D. K., Rabuck A. D., Raghavachari K., Foresman J. B., Cioslowski J., Ortiz J. V., Baboul A. G., Stefanov B. B., Liu G., Liashenko A., Piskorz P., Komaromi I., Gomperts R., Martin R. L., Fox D. J., Keith T., Al-Laham M. A., Peng C. Y., Nanayakkara A., Gonzalez C., Challacombe M., Gill P. M. W., Johnson B., Chen W., Wong M. W., Andreas J. L., Head-Gordon M., Replogle E. S., Pople J. A. Gaussian 03, Revision B.03 / Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, 2003.
24. Becke A. D. Density-Functional Exchange-Energy Approximation with Correct Asymptotic Behavior // Phys. Rev. A. 1988. Vol. 38, № 6. P. 3098–3100.
25. Becke A. D. Density-Functional Thermochemistry. III. The Role of Exact Exchange // J. Chem. Phys. 1993. Vol. 98, № 7. P. 5648–5652.
26. Lee C., Yang W., Parr R. G. Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density // Phys. Rev. B. 1988. Vol. 37, № 2. P. 785–789.
27. Schlegel H. B., McDouall J. J. W. Do You Have SCF Stability and Convergence Problems? // Computational Advances in Organic Chemistry / eds. C. Ögretir, I. G. Csizmadia. The Netherlands : Kluwer Academic, 1991. P. 167–185 (NATO-ASI Series C 330).
28. Krishnan R., Binkley J. S., Seeger R., Pople J. A. Self-Consistent Molecular Orbital Methods. XX. A Basis Set for Correlated Wave Functions // J. Chem. Phys. 1980. Vol. 72, № 1. P. 650–654.
29. McLean A. D., Chandler G. S. Contracted Gaussian Basis Sets for Molecular Calculations. I. Second Row Atoms, $Z = 11-18$ // J. Chem. Phys. 1980. Vol. 72, № 10. P. 5639–5648.
30. Stewart J. J. P. Optimization of Parameters for Semiempirical Methods. I. Method // J. Comput. Chem. 1989. Vol. 10, № 2. P. 209–220.
31. Stewart J. J. P. Optimization of Parameters for Semiempirical Methods. II. Applications // J. Comput. Chem. 1989. Vol. 10, № 2. P. 221–264.
32. Reed A. E., Curtiss L. A., Weinhold F. Intermolecular Interactions from a Natural Bond Orbital, Donor-Acceptor Viewpoint // Chem. Rev. 1988. Vol. 88, № 6. P. 899–926.
33. Немухин А. В., Вейнхольд Ф. Концепция Льюиса в современной квантовой химии // Рос. хим. журн. (Журнал Российского химического общества им. Д. И. Менделеева). 1994. Т. 38, № 6. С. 5–11.
34. Weinhold F., Landis C. R. Valency and Bonding: A Natural Bond Orbital Donor-Acceptor Perspective. Cambridge : Cambridge University Press, 2005. 760 p.
35. Glendening E. D., Reed A. E., Carpenter J. E., Weinhold F. A. NBO Version 3.1, 1995.
36. Китайгородский А. И., Зоркий П. М., Бельский В. К. Строение органических и элементоорганических молекул: Библиографический указатель. 1929–1979 / отв. ред. М. А. Порай-Кошиц. М. : Наука, 1984. 284 с.
37. Harding M. M., Long H. A. The Crystal and Molecular Structure of L-Cysteine // Acta Crystallogr. Section B. 1968. Vol. 24, № 8. P. 1096–1102.
38. Kerr K. A., Ashmore J. P. Structure and Conformation of Orthorhombic L-Cysteine // Acta Crystallogr. Section B. 1973. Vol. 29, № 10. P. 2124–2127.
39. Kerr K. A., Ashmore J. P., Koetzle Th. F. A Neutron Diffraction Study of L-Cysteine // Acta Crystallogr. Section B. 1975. Vol. 31, № 8. P. 2022–2026.
40. Гордон А., Форд Р. Спутник химика. Физико-химические свойства, методики, библиография / пер. с англ. Е. Л. Розенберга, С. И. Коппель. М. : Мир, 1976. 543 с. (Gordon A. J., Ford R. A. The Chemist's Companion. A Handbook of Practical Data, Techniques, and References. N.Y. ; L.; Sydney; Toronto : A Wiley-Interscience Publication, John Wiley and Sons, 1972).
41. Летичевская Н. Н., Шинкарь Е. В., Берберова Н. Т., Охлобыстин О. Ю. Катион-радикал сероводорода в роли сверхкислоты // Журн. общ. химии. 1996. Т. 66, вып. 11. С. 1785–1787.
42. Берберова Н. Т. Роль неорганических ион-радикалов в органических и неорганических реакциях // Сорос. образоват. журн. 1999. № 1 (38). С. 28–34.
43. Берберова Н. Т. Органические ион-радикалы // Сорос. образоват. журн. 1999. № 5 (42). С. 48–53.
44. Берберова Н. Т., Шинкарь Е. В. Катион-радикал сероводорода и органические реакции с его участием // Изв. АН. Сер. хим. 2000. № 7. С. 1182–1188.
45. Берберова Н. Т. Неизвестные свойства сероводорода // Сорос. образоват. журн. 2001. Т. 7, № 9 (70). С. 38–42.
46. Olah G. A., Surya Prakash G. K., Sommer J. Superacids. N.Y. : Wiley-Interscience, 1985. 371 p.
47. Olah G. A., Klumpp D. A. Superlectrophiles and Their Chemistry. N.Y. : Wiley-Interscience, 2007. 301 p.
48. Olah G. A., Surya Prakash G. K., Sommer J., Molnár A. Superacid Chemistry. N.Y. : John Wiley & Sons, Inc., 2009. 850 p.
49. Мчедлов-Петросян Н. О. Жидкофазные электролитные и лиофильные нанодисперсные системы // Укр. хим. журн. 2013. Т. 79, № 11–12. С. 3–26.
50. Панкратов А. Н., Муштакова С. П., Грибов Л. А. Электронное строение молекул дифенильных мостиковых соединений // Теорет. и эксперим. химия. 1985. Т. 21, № 1. С. 84–88.
51. Pankratov A. N., Shchavlev A. E. Semiempirical Quantum Chemical PM3 Computations and Evaluations of



- Redox Potentials, Basicities and Dipole Moments of the Diphenylamine Series As Analytical Reagents // *Canad. J. Chem.* 1999. Vol. 77, № 12. P. 2053–2058.
52. Панкратов А. Н., Щавлев А. Е. Протолитические, окислительно-восстановительные и полярные свойства реагентов ряда дифениламина : квантовохимическая оценка // *Журн. аналит. химии.* 2001. Т. 56, № 2. С. 143–150.
53. Панкратов А.Н. Строение продукта окисления дифениламина – родоначального представителя ряда аналитических редокс-реагентов // *Журн. аналит. химии.* 2001. Т. 56, № 2. С. 161–163.
54. Минкин В. И., Симкин Б. Я., Миняев Р. М. Теория строения молекул. Ростов н/Д : Феникс, 1997. 560 с.
55. Ермаков А. И. Квантовая механика и квантовая химия. М. : Изд-во Юрайт; ИД Юрайт, 2010. 555 с.
56. Minkin V. I. Glossary of Terms Used in Theoretical Organic Chemistry (IUPAC Recommendations 1999) // *Pure and Appl. Chem.* 1999. Vol. 71, № 10. P. 1919–1981.
57. Глоссарий терминов, используемых в теоретической органической химии (окончание) // *Журн. орган. химии.* 2001. Т. 37, вып. 7. С. 1105–1112.
58. Цирельсон В. Г. Квантовая химия. Молекулы, молекулярные системы и твердые тела. М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2010. 496 с.
59. Жидомиров Г. М., Багатурьянц А. А., Абронин И. А. Прикладная квантовая химия. Расчеты реакционной способности и механизмов химических реакций. М. : Химия, 1979. 296 с.
60. Яновская Л. А. Современные теоретические основы органической химии. М.: Химия, 1978. 360 с.
61. Днепровский А. С., Темникова Т. И. Теоретические основы органической химии. Строение, реакционная способность и механизмы реакций органических соединений. Л. : Химия. Ленингр. отд-ние, 1991. 560 с.
62. Ахметов Н. С. Общая и неорганическая химия. М. : Высш. шк., 2006. 743 с.
63. Тодрес З. В. Ион-радикалы в органическом синтезе. М. : Химия, 1986. 240 с.
64. Camaioni D. M., Franz J. A. Carbon-Hydrogen vs. Carbon-Carbon Bond Cleavage of 1,2-Diarylethane Radical Cations in Acetonitrile-Water // *J. Org. Chem.* 1984. Vol. 49, № 9. P. 1607–1613.

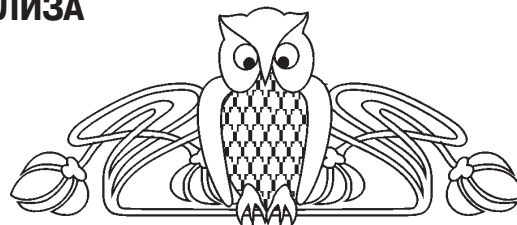
УДК 543.041

ИДЕНТИФИКАЦИЯ НЕФТЕЙ САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ГЛАВНЫХ КОМПОНЕНТ И ФАКТОРНОГО ДИСКРИМИНАНТНОГО АНАЛИЗА

А. Л. Лобачев¹, Н. В. Фомина¹, Ю. Б. Монахова²

¹Самарский государственный университет
E-mail: nkichimaeva@mail.ru

²Саратовский государственный университет
E-mail: yul-monakhova@mail.ru



Разработка методов идентификации месторождений нефти является приоритетной задачей нефтяной промышленности. В ходе исследования были определены следующие параметры для 2963 образцов нефти с пяти месторождений Самарской области: плотность, выход фракций при температуре 200 °С и 300 °С, массовая доля серы, содержание сероводорода, метил- и этилмеркаптанов, массовая концентрация хлористых солей и давление насыщенных паров. Матрица экспериментальных данных обработана с помощью хемометрического метода главных компонент (МГК) и факторного дискриминантного анализа (ФДА). Полученные модели позволяют определять месторождение образцов нефти с вероятностью практически 100%. Проведена проверка хемометрических моделей с помощью независимого тестового набора, которая показала достоверность и устойчивость моделей. Результаты проведенного анализа свидетельствуют о перспективности применения хемометрических методов для дискриминации образцов нефти различных месторождений Самарской области, а подобный подход может быть использован и для классификации образцов нефти из других регионов.

Ключевые слова: нефть, метод главных компонент, факторный дискриминантный анализ, классификация.

Identification of Oils from Samara Region Using Principal Component Analysis and Factor Discriminant Analysis

A. L. Lobachev, N. V. Fomina, Yu. B. Monakhova

Development of methods for identification of oils is of high priority in oil industry. The following parameters for 2963 oil samples from five oilfields in the Samara region were determined: density, fraction yield at 200 °C and 300 °C, the mass fraction of sulfur, hydrogen sulphide, methyl and ethyl mercaptan, the mass concentration of chloride salts, the saturated vapor pressure. The matrix of experimental data was analyzed using principal component analysis (PCA) and factorial discriminant analysis (FDA) methods. The models obtained are able to determine the oilfield of samples with probability of almost 100%. Chemometric models have been proved



by the independent test set validation, which showed the accuracy and stability of the models. The results of the analysis indicated the prospects of application of chemometric methods in the investigation of oil samples from Samara region and the developed approach can be used to discriminate oils from another regions.

Key words: oil, principal component analysis, factor discriminant analysis, classification.

Развитие новых отраслей науки и техники, анализ объектов природного и техногенного происхождения, занимающий ключевое место в экологических экспертизах, химической, нефтяной, пищевой промышленности, ставят перед аналитической химией задачу совершенствования методов качественного и количественного анализа. В зависимости от поставленных целей и задач выбираются схемы проведения анализа, этапность их реализации, методы исследований.

Наиболее простой и доступный метод идентификации – использование индивидуальных эталонных веществ или эталонных смесей. Необходимо лишь разложить анализируемую смесь при таких же условиях, при которых была разделена эталонная смесь. Но провести однозначную идентификацию таким образом можно только тогда, когда исследователь имеет необходимые эталонные вещества, причем компоненты смеси хорошо разделяются. Как правило, на практике данные условия не выполняются.

Нефть – весьма сложный объект анализа [1], для идентификации которого предпочтительным является использование математических методов моделирования экспериментальных данных. Особый интерес представляет определение месторождения, на котором добыт тот или иной образец нефти. Иногда для решения этой задачи используется комбинация аналитических методов. Так, авторами [2] на примере нефтей Ханты-Мансийского АО показано, что для идентификации источников нефтяных загрязнений по составу примесей могут быть использованы гамма-спектрометрический, атомно-абсорбционный, атомно-эмиссионный и рентгенофлуоресцентный методы анализа, а также индуктивно-связанная плазма с масс-спектрометрической или оптической регистрацией. Однако методы высокого разрешения также могут не давать 100%-ной надежности идентификации материала сложного состава.

Таким образом, на сегодняшний день основным путем решения задачи идентификации географического происхождения нефтей является прямой метод, который заключается в проведении полного качественного и количественного анализа состава материала и дальнейшего

сравнения полученных данных с данными о материале сравнения. Однако идентификация и количественное определение абсолютно всех компонентов реальных объектов принципиально невозможны из-за отсутствия индивидуальных стандартных веществ (компонентов нефти). В общем случае причиной отсутствия стандартов могут быть дороговизна, малый срок годности, но чаще всего отсутствие его как такового. В любом случае данное принципиальное ограничение заставляет искать новые подходы в обработке и использовании полученной химиками-аналитиками информации на основе развития различных безэталонных аналитических методов, в частности, использования интегральной совокупности аналитических сигналов, обработанных с помощью различных статистических методов.

В настоящей работе изучена возможность использования метода главных компонент (МГК) и факторного дискриминантного анализа (ФДА) для определения месторождения нефти по ее стандартным показателям качества.

Экспериментальная часть

В работе проводилось определение стандартных характеристик проб нефти, отобранных с пяти месторождений Самарской области. Пробы отбирались в соответствии с ГОСТ 2517-85 «Нефть и нефтепродукты. Методы отбора проб», всего за период январь-декабрь 2011 г. с каждой группы месторождений было проанализировано от 350 до 725 проб нефти.

Определяли такие характеристики, как плотность (ареометрически по ГОСТ 3900-85, использовали ареометр для нефти АН соответствующего диапазона), выход фракций при температуре 200 °С и 300 °С (по ГОСТ 2177-99, на аппарате для разгонки нефти и нефтепродуктов DU-4), массовую долю серы (по ГОСТ Р 51947-2002, использовали энергодисперсионный рентгенофлуоресцентный анализатор OXFORD Lab-X-3500), содержание сероводорода, метил- и этилмеркаптанов (хроматографически по ГОСТ Р 50802-95, использовали комплекс хроматографический «Хроматэк-Кристалл-5000»), массовую концентрацию хлористых солей (титриметрически по ГОСТ 21534-76, использовали экстрактор хлористых солей ПЭ-8110, DE-8110, средства измерения в соответствии с требованиями ГОСТ), массовую долю воды (по ГОСТ 2477-65), давление насыщенных паров (по ASTM D 323-08, использовали автоматический анализатор давления насыщенных паров AutoReid). Данные характеристики предложены в качестве параметров для моделирования.



Набор данных составил выборку из 2963 образцов, из них 686 относятся к первому, 716 – ко второму, 725 – к третьему, 357 – к четвертому и 479 – к пятому месторождению нефти, различающихся по географическому положению.

Моделирование данных производили на основе программного комплекса MATLAB 2013b (The MathWorks, Natick, USA) с встроенной в него оболочкой для хемометрических расчетов SAISIR [3].

Для визуализации и поиска скрытых закономерностей в экспериментальных данных был использован МГК [4]. В качестве предварительной обработки использовано центрирование данных. Метод ФДА выбран для классификации месторождений нефти по географическому положению [5]. Наличие большой выборки объектов позволило применить метод проверки модели с помощью тестового набора. Для этого все образцы разделены случайным образом на обучающий (1975 образцов) и проверочный (988 образцов) наборы данных.

Результаты и их обсуждение

Метод главных компонент

Хемометрическое исследование многомерных данных независимо от природы сигналов

(спектры, хроматограммы, дискретные данные) обычно начинают с применения метода главных компонент [6–9]. МГК дает возможность отделить содержательную часть данных от шума, что позволяет представить полезную информацию в более компактном виде, удобном для визуализации и интерпретации [5,6].

В нашем случае МГК применен для матрицы данных размером 2963·9 (9 различных характеристик для 2963 объектов). Установлено, что данные могут быть описаны тремя главными компонентами (ГК), которые в сумме объясняют 99.9% дисперсии данных (ГК1 – 97.6%, ГК2 – 1.5% и ГК3 – 0.8%). График счетов в пространстве ГК1–ГК2 показывает дискриминацию кластеров, соответствующих различным месторождениям нефти (рис. 1). Очевидно, что кластеры, отвечающие месторождениям 3–5, достаточно хорошо разделены друг от друга, однако кластеры групп месторождений 1 и 2 значительно перекрываются между собой. Следует отметить, что эти два кластера не разделены при рассмотрении третьей ГК, например, в пространстве ГК1–ГК3 или ГК2–ГК3.

Для выявления влияния девяти переменных на разделение групп месторождений был использован график нагрузок (рис. 2).

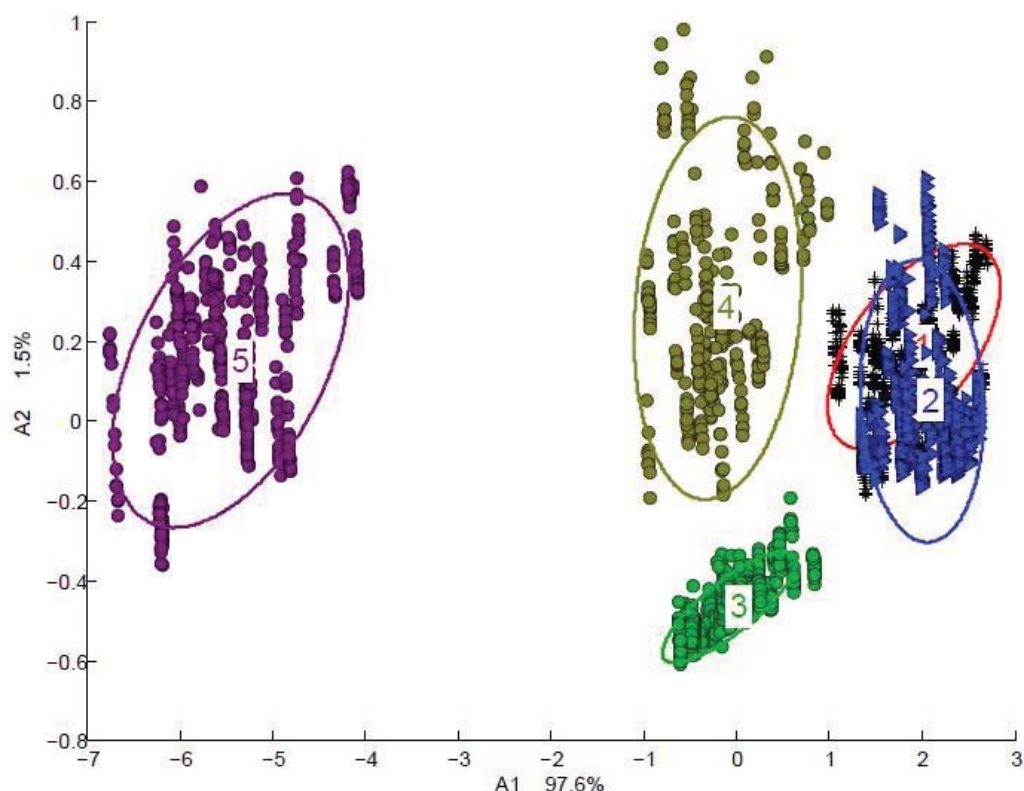


Рис. 1. График счетов в пространстве ГК1–ГК2 (эллипсы построены с вероятностью 95%, цифры указывают кластер каждого месторождения)

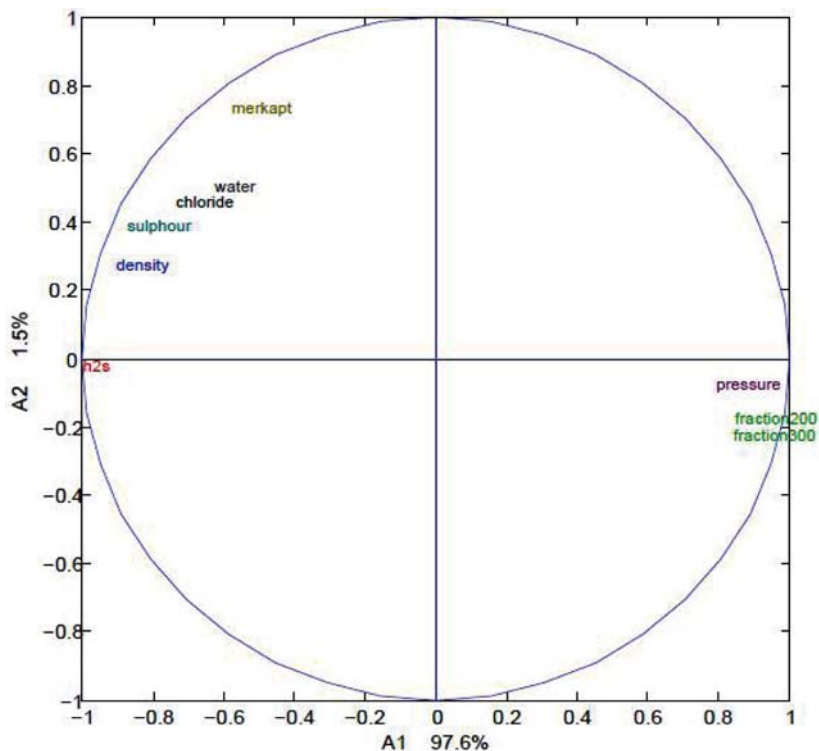


Рис. 2. График нагрузок в пространстве ГК1–ГК2: density – плотность при 20°C, chloride – концентрация хлорных солей, water – массовая доля воды, sulphour – массовая доля серы, pressure – давление насыщенных паров, h2s – масс. доля сероводорода, merkapt – массовая доля метил- и этилмерктопанов в сумме, fraction 200 – выход фракций при 200°C, fraction 300 – выход фракций при 300°C

Видно, что такие параметры, как выход фракций при 200°C и 300°C, характеризуют месторождения 1 и 2, в то время как массовая доля сероводорода и значение плотности особенно значимы для месторождения 5.

Факторный дискриминантный анализ

Следующим этапом работы стало построение классификационной модели для установления принадлежности новых образцов к месторождению по географическому положению. С этой целью использовали факторный дискриминантный анализ – один из классификационных методов с обучением [5, 10, 11].

Обучающий набор образцов (1975 объектов) использован для построения модели классификации, с помощью которой новый образец может быть отнесен к конкретному месторождению. Результаты классификации в виде матрицы неточностей (*confusion matrix*) для обучающего набора данных приведены в табл. 1. Общий процент правильных классификаций с учетом всех 5 групп составил более 99%. Только 17 образцов были неправильно распознаны: 16 образцов, фактически принадлежащие ко 2-му месторождению, были классифицированы как объекты 4-го месторождения, а образец 1

из 4-го месторождения ложно отнесен к 1-му месторождению (см. табл. 1). Следует отметить, что дискриминантный анализ обеспечивает большую точность разделения групп месторождений, чем МГК, обеспечивая также полное разделение кластеров 1-го и 2-го месторождений.

Таблица 1

Матрица неточностей по результатам классификации объектов из обучающего набора методом ФДА

	1	2	3	4	5
1	456	0	0	0	0
2	0	454	0	16	0
3	0	0	493	0	0
4	1	0	0	224	0
5	0	0	0	0	331

Примечание. По горизонтали – фактические, по вертикали – предсказанные группы.

Очевидно, что построенная нами модель нуждается в полноценной проверке. Для этого выбран метод тест-валидации, так как объем выборки достаточен для проверки такого типа. В табл. 2 представлены результаты отнесения объектов из тестового набора к пяти группам месторождений. Как и в случае обучающего набора данных, наибольшая неопределенность



существует в отнесении между 2-м и 4-м месторождением (принадлежность 7 из 246 объектов второй группы была ложно предсказана). Процент точных предсказаний составил 97% для второй группы, в то время как средняя точность метода по всем группам достигла почти 100% (см. табл. 2).

Таблица 2

Матрица неточностей по результатам классификации объектов из проверочного набора методом ФДА

	1	2	3	4	5
1	230	0	0	0	0
2	0	239	0	7	0
3	0	0	232	0	0
4	0	1	0	131	0
5	0	0	0	0	148

Примечание. По горизонтали – фактические, по вертикали – предсказанные группы.

Заключение

Таким образом, нами показано, что хемометрические методы (МГК, ФДА) могут быть использованы для определения географического положения месторождения нефти на основании совместного моделирования численных значений 9 параметров, характеризующих качество нефти. Для идентификации неизвестного образца нефти использование указанного подхода требует проведения большого объема работы по многократному измерению каждого из идентификационных параметров. Однако, имея в виду хорошую точность предсказания, полученную для тестового набора, метод может быть рекомендован для рутинного контроля географического происхождения нефти Самарской области.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России (проект № 4.1708.2014К).

Список литературы

1. *Вигдергауз М. С.* Аналитическая химия нефти. Куйбышев : Куйбыш. гос. ун-т, 1990. 27 с.
2. *Семенов В. А.* Экоаналитическая идентификация источников загрязнений нефтяными углеводородами // Разведка и охрана недр. 2005. № 5. С. 57–61.
3. *Cordella C. B. Y., Bertrand D.* SAISIR : A new general chemometric toolbox // Trends Anal. Chem. 2014. Vol. 54. P. 75–82.
4. *Wold S., Esbensen K., Geladi P.* Principal component analysis // Chemom. Intell. Lab. Syst. 1987. Vol. 2. P. 37–52.
5. *Benzecri J. P.* Analyse Discriminante et Analyse Factorielle // Les Cahiers de l'Analyse des Donnees. 1977. Vol. 2. P. 369–406.
6. *Родионова О. Е., Померанцев А. Л.* Хемометрика: достижения и перспективы // Успехи химии. 2006. Т. 75, № 4. С. 302–321.
7. *Monakhova Y. B., Kuballa T., Leitz J., Andlauer C., Lachenmeier D. W.* NMR spectroscopy as a screening tool to validate nutrition labeling of milk, lactose-free milk, and milk substitutes based on soy and grains // Dairy Sci. Technol. 2012. Vol. 92. P. 109–120.
8. *Macnaughtan Jr. D., Rogers L. B., Wernimont G.* Principal-component analysis applied to chromatographic data // Anal. Chem. 1972. Vol. 44. P. 1421–1427.
9. *Gergen I., Harmanescu M.* Application of principal component analysis in the pollution assessment with heavy metals of vegetable food chain in the old mining areas // Chem. Central J. 2012. Vol. 6. P. 156–162.
10. *Mouly P. P., Arzouyan C. R., Gaydou E. M., Estienne J. M.* Differentiation of citrus juices by factorial discriminant analysis using liquid chromatography of flavanone glycosides // J. Agric. Food Chem. 1994. Vol. 42. P. 70–79.
11. *Hammamia M., Rouissia H., Salaha N., Selmia H., Al-Otaibib M., Bleckerc C., Karoui R.* Fluorescence spectroscopy coupled with factorial discriminant analysis technique to identify sheep milk from different feeding // Food Chem. 2010. Vol. 122. P. 1344–1350.



УДК 547.458.1:[532.135+541.182.025/026]

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДЫ МОДИФИЦИРУЮЩЕЙ ДОБАВКИ НА РЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОНЦЕНТРИРОВАННОЙ СИСТЕМЫ ХИТОЗАН – ОРГАНИЧЕСКАЯ КИСЛОТА – ВОДА

В. И. Фомина, О. Н. Малинкина, Н. О. Гегель,
А. Ю. Абрамов, А. Б. Шиповская

Саратовский государственный университет
E-mail: Fomina.oni@yandex.ru



Изучено влияние природы модифицирующей добавки, выбранной из класса загустителей и стабилизаторов (высокомолекулярный хитозан, крахмал, ксантан, сорбитол, пиридоксин гидрохлорид), на реологические свойства концентрированной системы хитозан – органическая кислота – вода: свежеприготовленной и хранившейся при 4 и 20°C. Показано, что все модификаторы оказывают загущающее и стабилизирующее действие, выражающееся в повышении вязкости многокомпонентной системы и понижении степени ее падения во времени. По загущающему эффекту модификаторы располагаются в ряду: ксантан > сорбитол > пиридоксин гидрохлорид > крахмал > высокомолекулярный хитозан. По стабилизирующему эффекту модификаторы располагаются в следующем порядке: сорбитол > крахмал > высокомолекулярный хитозан > ксантан > пиридоксин гидрохлорид. Установлено, что наибольшее загущающее и стабилизирующее действие оказывает хранение системы при 4°C в отсутствие солнечного света.

Ключевые слова: многокомпонентная полимерная система, хитозан, органическая кислота, модификаторы, реограммы вязкости.

Influence of the Modifying Additive Nature on the Rheological Properties of the Concentrated Chitosan–Organic Acid–Water System

V. I. Fomina, O. N. Malinkina, N. O. Gegel,
A. Yu. Abramov, A. B. Shipovskaya

The influence of the nature of a modifying additive selected from the class of stabilizers and thickeners (high-molecular-weight chitosan, starch, xanthan gum, sorbitol, and pyridoxine hydrochloride) on the rheological properties of the concentrated chitosan–organic acid–water system (freshly prepared or stored at 4 and 20°C) was studied. It is shown that all the modifiers have a stabilizing and thickening effect, resulting in an increased viscosity of the multicomponent system and a lower rate of its fall in time. By thickening and stabilizing effects, the modifiers are in the order: xanthan > sorbitol > pyridoxine hydrochloride > starch > high-molecular-weight chitosan and sorbitol > starch > high-molecular-weight chitosan > xanthan > pyridoxine hydrochloride, respectively. It has been established that storage of the system at 4°C in the absence of sunlight has the greatest thickening and stabilizing effect.

Key words: multicomponent polymer system, chitosan, organic acid, modifiers, viscosity rheogram.

Среди большого разнообразия препаратов на основе аминополисахарида хитозана гели и

гелеобразные формы выделяются рядом преимуществ. Они обладают высокой вязкостью, пролонгированным фармакотерапевтическим действием, трансдермальной активностью, эффективной увлажняющей способностью и др. [1–7]. В совокупности эти положительные качества гелевых форм хитозана инициируют процессы саногенеза, что способствует развитию новых подходов в медикаментозной терапии [8–12].

Однако несмотря на лабильность химической структуры, хитозан не проявляет способности к гелеобразованию без сшивающих реагентов. Поэтому для формирования гелеобразной консистенции в хитозансодержащие системы вводят модификаторы: загустители, стабилизаторы и т.п. [13]. С целью сохранения биологической активности гелевой формы хитозана в качестве модификаторов все чаще используют лекарственные и другие биологически активные вещества. Однако изменение структуры системы под влиянием добавок изучено недостаточно, что осложняет направленное регулирование физико-химических свойств. Не уделяется должного внимания и влиянию вводимых веществ на стабильность вязкости водно-кислотных растворов хитозана. В этой связи актуально комплексное исследование физико-химических свойств исходных и с разным сроком хранения многокомпонентных систем на основе хитозана.

Цель работы – оценить влияние модифицирующих добавок разной природы на вязкость и кинетическую стабильность концентрированной системы хитозан–органическая кислота–вода.

Экспериментальная часть

Объектами исследования выбраны свежеприготовленные системы хитозан + органическая кислота + вода + модификатор и хранившиеся до 323 суток. Системы хранили в стеклянной колбе или полиэтиленовой тубе (в отдельных опытах) при $T = 20 \pm 2^\circ\text{C}$, нормальном атмосферном давлении в присутствии солнечного света



и при $T = 4^\circ\text{C}$ в отсутствии солнечного света. Использовали промышленный образец хитозана (ХТЗ) со средневязкостной молекулярной массой $\bar{M}_\eta = 38$ кДа, степенью деацетилирования СД = 79.8 мольн.% производства ЗАО «Био-прогресс» (г. Щелково). При выборе образца руководствовались литературными [14–16] и нашими данными [17, 18] о высокой бактерицидной активности у хитозана с высокой СД (>70 мольн.%) и низкой \bar{M}_η .

В качестве растворителя использовали водные растворы D-, L-аскорбиновой (АК) и молочной кислот (МК) квалификации ч.д.а. Концентрация АК и МК составляла $C_K = 9$ и 2 мас.% соответственно. Выбор данных растворителей хитозана обусловлен тем, что они относятся к классу биологически активных органических кислот. Большинство экспериментов выполнено с одноосновной оптически активной аскорбиновой кислотой, играющей важную роль в метаболизме живого организма, а также широко используемой в фармацевтической, косметической и пищевой промышленности в качестве лекарственного вещества (ФС 42-0218-07), антиоксиданта (Е-300) и витаминизатора.

Перед приготовлением исследуемых систем порошок ХТЗ предварительно стерилизовали в ламинарном боксе NUAIRE Biological Safety Cabinets (Франция) в течение 20 мин для исключения возможности протекания биодеструкции полимера. С этой же целью использовали дистиллированную воду, дегазированную от CO_2 и O_2 кипячением при $T = 100^\circ\text{C}$ в течение 1 часа. Концентрация полимера во всех системах составляла $C_{\text{II}} = 15$ мас.%. В специальных экспериментах порошок ХТЗ выдерживали при температуре -90°C в морозильной камере ультранизких температур Sanyo MDF (Япония) или при $T = 60^\circ\text{C}$ в термошкафу «Экрос – 4610» (Россия) в течение 4 часов.

В качестве модификаторов использовали вещества разной химической природы: порошки полимеров из класса природных полисахаридов пищевого назначения – высокомолекулярный хитозан с $\bar{M}_\eta = 200$ кДа и СД = 82 мольн.% (ХТЗ-200) производства ЗАО «Биопродвесс», крахмал, ксантан (Е-415), камедь рожкового дерева (КРД, Е-410) и органические низкомолекулярные биологически активные вещества – сорбитол и пиридоксин гидрохлорид (витамин В6). Все эти модификаторы используются, прежде всего, как загустители, а также в качестве стабилизаторов. Концентрация модификаторов в исследуемых системах составила: ХТЗ-200 – 0.5 мас.%, крахмала – 0.25–0.5 мас.%, ксантана – 0.1–0.5 мас.%,

КРД – 0.2 мас.%, сорбитола – 5 мас.%, витамина В6 – 0.1 мас.%.

Кривые течения ($\lg \eta = f(\lg \tau)$) снимали на ротационном вискозиметре Rheotest RN-4.1 (Германия) с рабочим узлом «цилиндр-цилиндр» (внутренний цилиндр H_1) в области напряжений сдвига $\lg \tau = 0.3 \div 2.5$ [Па] при $T = 25^\circ\text{C}$, время термостатирования – 30 мин. Для получения реограмм вязкости (η) хранившихся систем пробы анализируемой смеси отбирали через определенные промежутки времени. Вязкость систем, хранившихся при $T = 20 \pm 2^\circ\text{C}$, измеряли сразу после термостатирования. Пробу системы, хранившейся при $T = 4^\circ\text{C}$, предварительно выдерживали в условиях комнатной температуры в течение 3 ч, затем термостатировали в рабочем узле вискозиметра и проводили измерения. Относительное число вязкости ($\lg \eta_{t=i} / \lg \eta_{t=0}$) определяли как отношение значения $\lg \eta$ в момент времени t ($\lg \eta_{t=i}$) к значению $\lg \eta$ в начальный момент времени ($\lg \eta_{t=0}$).

Водородный показатель (рН) определяли на потенциометре рН-150 МИ (НПО «Измерительная техника ИТ») с использованием комбинированного стеклянного электрода ЭКС-10603 в качестве измерительного при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Для измерения рН исследуемые концентрированные системы разбавляли в 10 раз согласно ГОСТ Р 52952-2008. Значение рН растворов определяли как среднее трех параллельных измерений.

ВЭЖХ проводили на хроматографе «Стайер UV» (Россия) с УФ-детектором. Использовали хроматографическую колонку «Phenomenex» Luna 5uC18(2): длина 150 мм, диаметр 4.60 мм, зернение 5 мкм. В качестве подвижной фазы использовали смесь 0.3%-ной фосфорной кислоты с ацетонитрилом (HPLS-grade) в соотношении 99:1. Скорость потока подвижной фазы 0.8 мл/мин.

Качественный ГХ-МС анализ выполняли на хромато-масс-спектрометре TRACE GC-DSQ (США). Использовали хроматографическую колонку TR-5MS: длина 30 м, диаметр 0.32 мм, толщина фазы 0.25 мкм. Подвижная фаза: гелий 99.995% чистоты, скорость потока 1.0 мл/мин. Температура инжектора 250°C , источника ионов – 220°C . Сканирование проводили в интервале 45–300 а.е.м., режим Splitless.

Результаты и их обсуждение

Известно, что вязкость и стабильность многокомпонентной полимерной системы предопределяется, в первую очередь, физико-химическими характеристиками полимера, компонентным и



концентрационным составом, природой используемого растворителя, свойствами модифицирующих добавок. При исследовании многокомпонентных систем на основе хитозана необходимо учитывать также кинетическую нестабильность водно-кислотных растворов этого аминополисахарида, выражающуюся в уменьшении вязкости во времени [19–21]. В этой связи применили комплексный подход к изучению влияния на вязкость и стабильность во времени концентрированной системы ХТЗ + АК + вода + модификатор различных физико-химических факторов: крио- (-90°C) и термообработки (60°C) порошка ХТЗ, варьирование растворителя (D -АК, L -АК, МК), введение модифицирующих добавок (загустителей и стабилизаторов) разной химической природы, хранение системы при разных температурах (4 и 20°C) в отсутствии и присутствии солнечного света.

Одной из причин нестабильности при хранении водно-кислотных растворов хитозана может быть деструкция полимера. Использование в экспериментах стерилизованного порошка ХТЗ и дистиллированной воды, дегазированной от CO_2 и O_2 , позволило изначально исключить процессы биодеструкции аминополисахарида. Для выяснения возможности протекания других

видов деструкции порошок ХТЗ подвергали воздействию низких и высоких температур.

Влияние крио- и термообработки порошка ХТЗ на реологические свойства исследуемых концентрированных (по полимеру) систем показано на рис. 1. Как видно, крио- и термообработка ХТЗ в принятых условиях приводит к заметному увеличению вязкости исследуемой системы (см. рис. 1, *a*). В большей степени увеличение вязкости наблюдается для системы на основе образца ХТЗ, предварительно выдержанного при $T = 60^{\circ}\text{C}$ (кривая 3). Обращает внимание, что выдерживание порошка ХТЗ в жестких криоусловиях (-90°C), как и термообработка, повышает вязкость композиции (кривая 2) по сравнению с системой на основе полимера, не подвергнутого температурной обработке (кривая 1). Отметим также, что оба вида температурного воздействия сопровождалось значительным улучшением растворимости образца ХТЗ. Этот результат позволяет констатировать разрушение надмолекулярной структуры полимера, в частности, кристаллитов, существенно затрудняющих переход макромолекул в раствор. С другой стороны, данный факт может свидетельствовать об отсутствии деструкции основной макромолекулярной цепи после температурного воздействия.

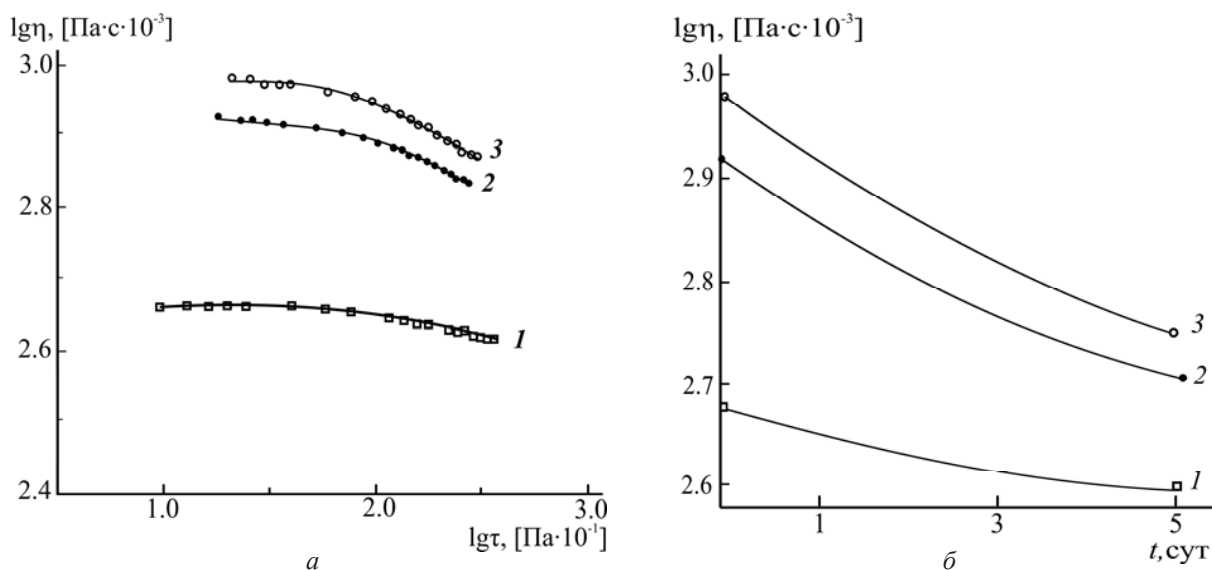


Рис. 1. Кривые течения (*a*) и кинетика вязкости при $\lg \tau = 1.30\text{--}1.35$ и 20°C [Па] (*б*) концентрированных систем ХТЗ + D -АК + вода на основе исходного порошка ХТЗ (1), подвергнутого криообработке при $T = -90^{\circ}\text{C}$ (2) и термообработке при $T = 60^{\circ}\text{C}$ (3)

При хранении систем на основе крио- и термообработанного ХТЗ в статических условиях при 20°C наблюдается уменьшение вязкости (см. рис. 1, *б*, кривые 2 и 3). Аналогичный эффект понижения вязкости во времени

характерен и для системы, приготовленной из исходного полимера (кривая 1). Однако кинетика вязкости $\lg \eta = f(t)$ систем на основе ХТЗ, подвергнутого температурному воздействию, проявляется в более резком падении η уже



в первые 5 суток хранения. Поэтому при проведении дальнейших исследований использовали только исходный стерилизованный порошок ХТЗ.

Целью дальнейших экспериментов явилось исследование влияния условий хранения систем на их вязкостные свойства и кинетическую стабильность. Реограммы вязкости $\lg\eta$ – $\lg t$ концентрированных систем ХТЗ + АК + вода, хранившихся при разных температурных условиях, приведены на рис. 2. Кривые течения системы ХТЗ + D-АК + вода с разным сроком хранения

при $T = 20^\circ\text{C}$ описываются классическими для полимеров зависимостями $\lg\eta = f(\lg t)$ с областями наибольшей ньютоновской и структурной вязкости (см. рис. 2, а). Аналогичные реограммы вязкости наблюдаются и для свежеприготовленной системы ХТЗ + L-АК + вода, $T = 20^\circ\text{C}$ (см. рис. 2, б, кривая при $t = 0$ сут). Кривые течения системы ХТЗ + D-АК + вода, хранившейся при $T = 4^\circ\text{C}$ (см. рис. 2, в), и системы ХТЗ + L-АК + вода, хранившейся при $T = 20^\circ\text{C}$ (рис. 2, б, $t = 10$ и 35 сут), являются типичными для структурированных композиций.

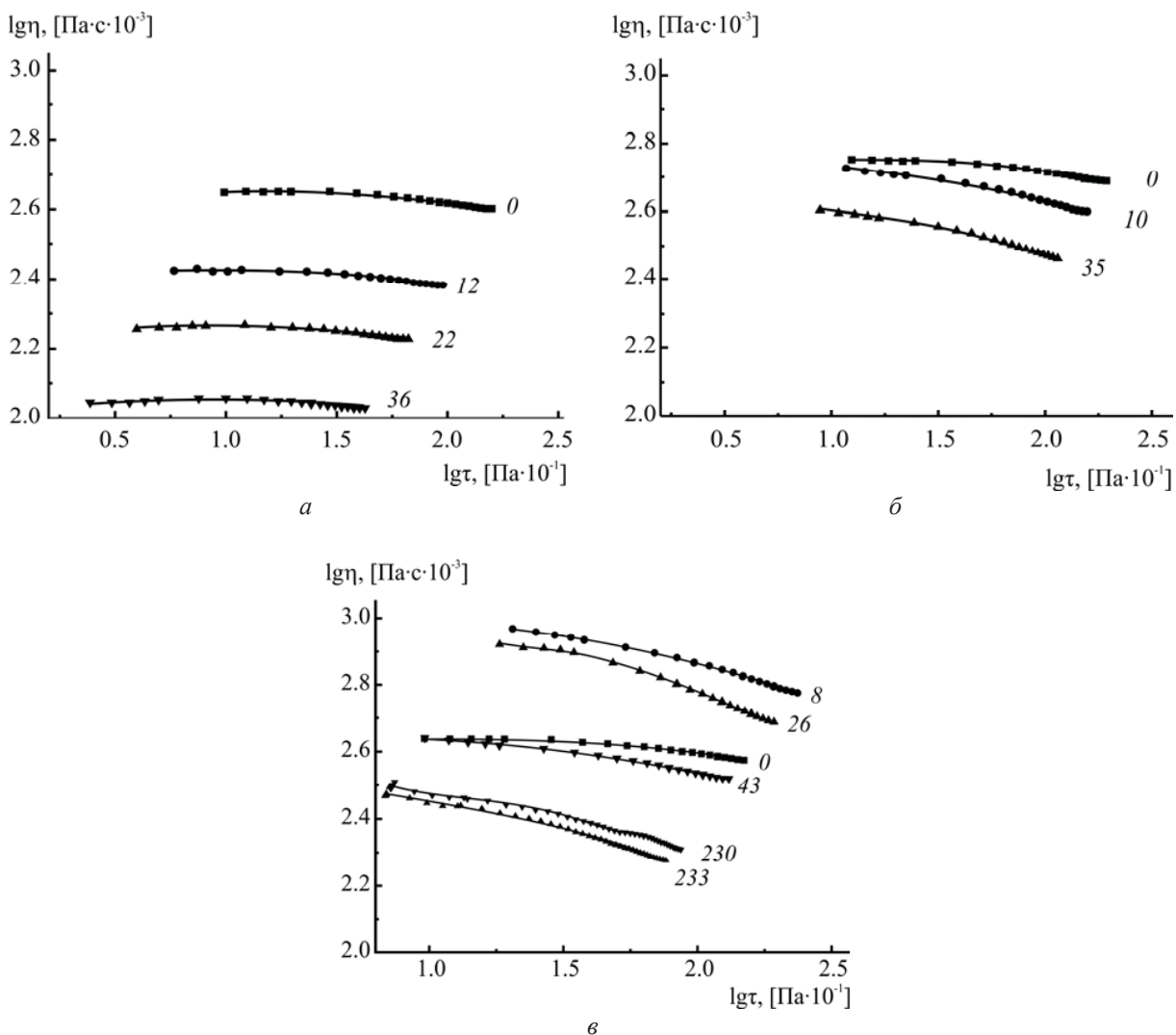


Рис. 2. Кривые течения концентрированных систем ХТЗ + D-АК + вода (а, в) и ХТЗ + L-АК + вода (б), хранившихся при 20 (а, б) и 4°C (в). Цифры у кривых – время хранения системы (t , сут)

Приведенные на рис. 2 результаты показывают также, что вязкость исследуемых систем ХТЗ + АК + вода уменьшается во времени. При этом система с использованием L-АК более структурирована и более устойчива при хране-

нии. Так, значение вязкости этой системы достигает значения η , характерного для исходной системы (см. рис. 2, а, кривая при $t = 0$ сут) лишь через ~ 30 суток хранения (см. рис. 2, б). Еще более структурированной и устойчивой во



времени оказалась система, хранившаяся при $T = 4^\circ\text{C}$ (рис. 2, в). При этом псевдопластичный характер течения данных систем в процессе хранения практически не изменяется.

Далее исследовали реологические свойства концентрированных систем ХТЗ + АК (МК) + вода с добавкой модификаторов, обладающих способностью значительно увеличивать вязкость многокомпонентных композиций и стабилизировать их вязкостные свойства во времени.

На рис. 3 приведены кривые течения, обобщенные для свежеприготовленной исходной системы ХТЗ + D-АК + вода без (кривая 1) и с добавками используемых в работе модификаторов (кривые 2–6). Видно, что все вещества оказывают загущающее действие, что выражается в существенном повышении вязкости композиции. Аналогичное действие оказывают использование L-АК и хранение при пониженной температуре (кривые 7 и 8). Реограммы вязкости свежеприготовленных систем с добавкой модификатора, как и свежеприготовленных систем без модификаторов (см. рис. 1, 2), являются типичными для растворов хитозана в традиционном для него растворителе – уксусной кислоте (кривые 1, 2, 4–6) [22, 23]. Исключением является система с ксантаном (кривая 3), для которой вязкость резко уменьшается во всем диапазоне приложенного напряжения сдвига. Подобное, но менее выраженное действие на характер течения оказывает хранение системы при $T = 4^\circ\text{C}$ (кривая 7).

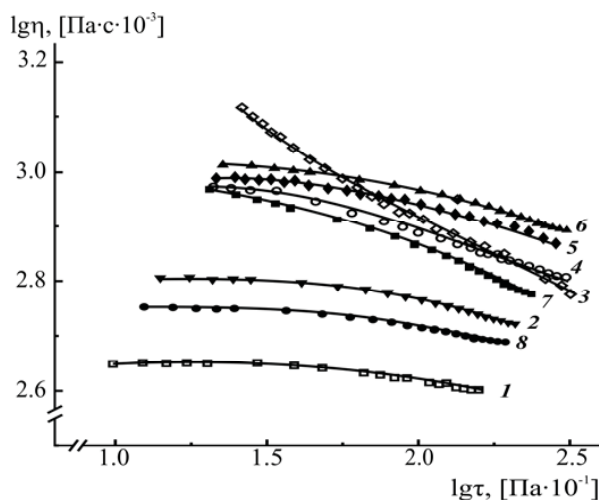


Рис. 3. Реограммы вязкости: свежеприготовленной концентрированной системы ХТЗ + D-АК + вода без (1) и с добавкой 0.5 мас.% ХТЗ-200 (2), 0.1 мас.% ксантана (3), 0.5 мас.% крахмала (4), 0.1 мас.% витамина В6 (5), 5 мас.% сорбитола (6), температура хранения 20°C ; системы (1), хранившейся в течение 8 сут при 4°C (7); а также свежеприготовленной концентрированной системы ХТЗ + L-АК + вода (8), T хранения 20°C

Во всех случаях введение модификаторов, несмотря на повышение вязкости относительно η исходной системы, не приводит к существенной стабилизации вязкостных свойств во времени (рис. 4). Однако эффект падения вязкости систем во времени существенно зависит от химической природы и свойств модифицирующей добавки.

Более наглядно эту зависимость и влияние других факторов демонстрирует рис. 5. Так, хранение исходной системы при 20°C в течение 40 сут сопровождается понижением вязкости на 20% (см. рис. 5, а, б; кривые 1). Хранение этой системы при пониженной температуре (4°C) до 40 сут способствует повышению вязкости (кривые 7). При дальнейшем хранении η снижается, но незначительно, например, через 320 сут хранения падение вязкости системы составляет ~ 10%. Небольшое уменьшение η (до 10%) наблюдается и для систем с L-АК (кривые 8) и с добавкой сорбитола (кривые 6) при хранении их до 40 сут. Несколько больший эффект падения вязкости (до 15%) в данный временной интервал наблюдается для систем с добавками ХТЗ-200 (кривые 2) и крахмала (кривые 4). Тем не менее во всех случаях падение η меньше, чем для исходной системы. Системы с добавками ксантана и витамина В6 (кривые 3 и 5), оказывающими высокое загущающее действие, в большей степени нестабильны по вязкости.

Ввиду наличия столь заметных изменений вязкостных свойств системы ХТЗ + D-АК + вода + ксантан, значительное повышение вязкости при введении модификатора и ярко выраженное уменьшение ее во времени, интересно было изучить влияние этих факторов на η системы с другим растворителем – молочной кислотой. На рис. 6, а представлены реограммы вязкости исходной системы ХТЗ + МК + вода (кривая 1), а также с добавками различных концентраций ксантана (кривые 2–4) и его смеси с КРД (кривая 5).

Из рис. 6 следует, что введение ксантана увеличивает η исследуемой системы ХТЗ + МК + вода. В большей степени загущение композиции проявляется при концентрации модификатора ≥ 0.2 мас.% (кривые 3 и 4) или при совместном использовании ксантана и КРД (кривая 5). Однако эффект загущения заметно ниже, чем в системе с D-АК. Характер кривых течения многокомпонентных систем ХТЗ + МК + вода + ксантан и ХТЗ + D-АК + вода + ксантан + КРД аналогичен реограммам $\lg \eta - \lg \tau$ системы ХТЗ + D-АК + вода + ксантан.

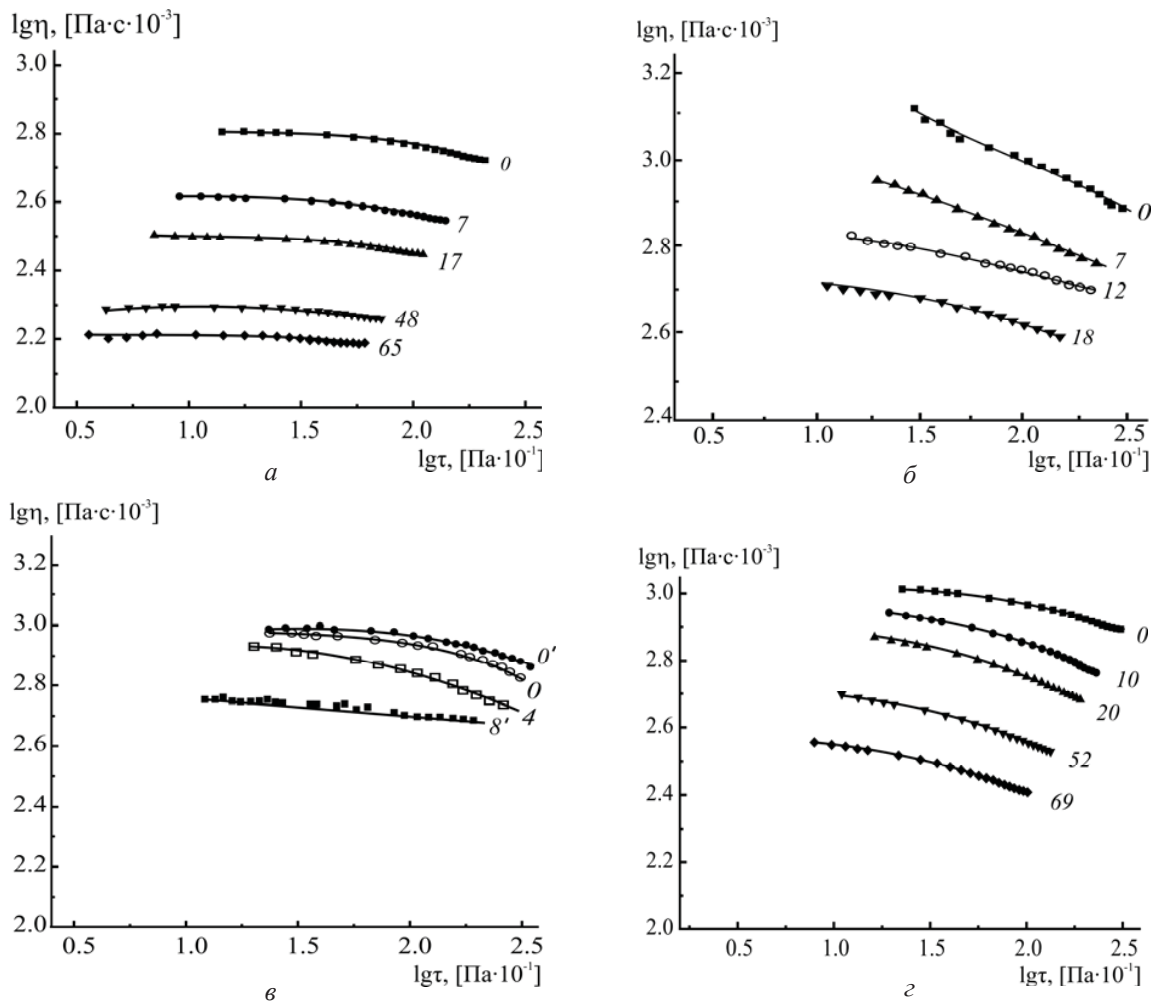


Рис. 4. Кривые течения концентрированной системы ХТЗ + D-АК + вода с добавкой: ХТЗ-200 (а), 0.1 мас.% ксантана (б), 0.5 мас.% крахмала и 0.1 мас.% витамина В6 (цифры со штрихом) (в), 5 мас.% сорбитола (г).
Цифры у кривых – время хранения системы (t, сут)

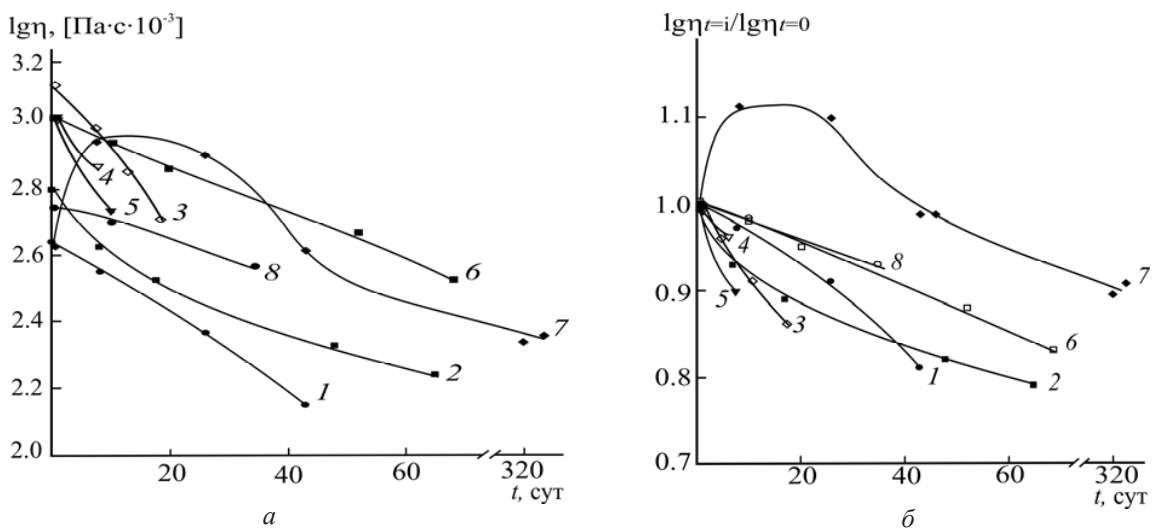


Рис. 5. Кинетика вязкости (а) и относительного числа вязкости (б) при $\lg \tau = 1.25-1.45$ [Па] систем: ХТЗ + D-АК + вода без (1) и с добавкой 0.5 мас.% ХТЗ-200 (2), 0.1 мас.% ксантана (3), 0.5 мас.% крахмала (4), 0.1 мас.% витамина В6 (5), 5 мас.% сорбитола (6), температура хранения 20°C; системы (1), хранившейся при 4°C (7); а также системы ХТЗ + L-АК + вода (8), хранившейся при 20°C

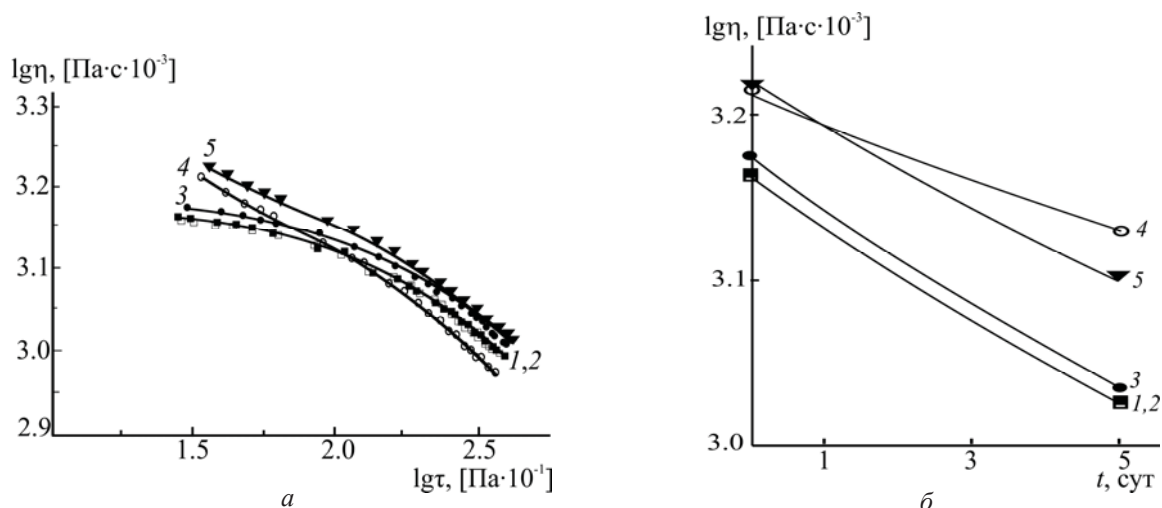


Рис. 6. Кривые течения (а) и кинетика вязкости при $\lg t = 1.6\text{--}1.7$ [Па] (б) концентрированных систем ХТЗ + МК + вода без (1) и с добавкой 0.1 (2), 0.2 (3) и 0.5 мас.% ксантана (4), 0.2 мас.% ксантана + 0.2 мас.% КРД (5). Температура хранения систем 20°C

Кинетические зависимости вязкости систем с МК свидетельствуют о стабилизирующем действии на реологические характеристики 0.5 мас.% ксантана (см. рис. 6, б, кривая 4), по меньшей мере, в течение 5 сут, так как падение вязкости составляет всего лишь ~3%.

Наряду с реологическими изучали кислотно-основные свойства систем ХТЗ + кислота + вода + модификатор и влияние на них (по изменению рН системы) химической природы загущающего компонента и времени хранения.

На примере системы ХТЗ + D-АК + вода без и с добавкой модификатора показано, что введение ХТЗ в 9%-ный раствор АК (рН = 2.6) повышает значение рН системы до значения рН = 2.9. Введение полимерного загустителя ХТЗ-200 способствует еще большему повышению рН до 3.1, что и следовало ожидать, поскольку происходит протонирование $-\text{NH}_2$ групп аминополисахаридов с образованием солевых групп $-\text{NH}_3^+$. Таким образом, происходит дополнительное связывание протонов кислоты, что и выражается в повышении рН. Введение в систему шестиатомного спирта сорбитола практически не влияет на значение рН системы. При хранении (до ~ 70 сут) системы без и с добавкой этих модификаторов значение рН снижается на 0.25 и 0.45 соответственно. Более длительное выдерживание (320 сут) системы ХТЗ + D-АК + вода при $T = 4^\circ\text{C}$ повышает кислотность до рН = 2.05.

Отметим, что при хранении полимерной композиции и водных растворов АК (используемой для растворения ХТЗ) свыше 6 месяцев при комнатных условиях наблюдали изменение их цвета от светло-желтого до темно-оранжевого.

Кроме того, для полимерной системы визуально по расширению упаковочной полиэтиленовой трубы фиксировали образование газообразного вещества. Такое поведение можно объяснить, в первую очередь, разложением АК и протеканием других химических реакций. В специальных опытах методом ВЭЖХ установили снижение содержания АК в системе на 35% после хранения в течение 3 месяцев. Подобное уменьшение АК наблюдали и в контрольном опыте – при хранении 9%-ного раствора АК до 10 месяцев. Методом качественного анализа (с использованием тлеющей лучины) определили, что по мере хранения выделяется, скорее всего, газ CO_2 . Анализ газообразного продукта из упаковочной трубы методом ГХ-МС не выявил более сложных органических газообразных веществ. На данный момент нам не удалось полностью объяснить процессы, происходящие в исследуемых системах во времени и с привлечением методов ИК- и ^1H ЯМР-спектроскопии. Однако по полученным спектрам все же можно сделать предположение о возможном образовании комплекса между макромолекулами ХТЗ и молекулами АК [24], что согласуется с литературными данными [25].

Таким образом, совокупность результатов исследования реологических и кислотно-основных свойств концентрированной системы ХТЗ + D-АК + вода без и с добавкой модификатора позволяет заключить, что крио- и термообработка полимера в принятых условиях, использование других растворителей (L-АК, МК), а также введение загустителей разной природы и хранение многокомпонентной композиции при пониженной температуре приводит к повыше-



нию вязкости по сравнению с η исходной системы. Установлено, что по загущающему эффекту системы ХТЗ + D-АК + вода + модификатор последний можно расположить в следующий ряд: ксантан > сорбитол > витамин В6 > крахмал > ХТЗ-200. Этот факт может указывать на структурирование и упрочнение надмолекулярной организации системы в результате влияния таких физико-химических характеристик, как молекулярная масса, химическая структура и концентрация модификатора, условия хранения композиции и др.

При этом, однако, все исследованные системы в той или иной мере склонны к снижению вязкости во времени. По стабилизирующему эффекту при хранении (до 20 сут) систем ХТЗ + D-АК + вода + модификатор загущающие агенты располагаются в следующем порядке: сорбитол > крахмал > ХТЗ-200 > ксантан > витамин В6. Обращает на себя внимание и тот факт, что хранение исходной системы с D-АК при пониженной температуре (4°C) способствует значительному повышению вязкости и стабилизации реологических свойств, вплоть до 40 сут. При дальнейшем хранении до 320 сут (~ 10 месяцев) при $T = 4^\circ\text{C}$ вязкость системы уменьшается всего лишь на ~ 10%. Для системы ХТЗ + МК + вода + модификатор наиболее оптимальной для загущения и стабилизации реологических показателей явилась добавка ксантана в концентрации 0.5 мас.% либо его смеси с КРД в соотношении 1:1 и концентрации компонентов 0.2 мас.%

Авторы выражают признательность Н. А. Юрасову за проведение экспериментов по ВЭЖХ и ГХ-МС.

Список литературы

1. Serrero A., Trombotto S., Cassagnau P., Bayon Y., Gravagna P., Montanari S., David L. Polysaccharide gels based on chitosan and modified starch: structural characterization and linear viscoelastic behavior // *Biomacromolec.* 2010. Vol. 11, № 6. P. 1534–1543.
2. Senevirathne M., Ahn C.-B., Kim S.-K., Je J.-Y. Cosmeceutical applications of chitosan and its derivatives // *Marine Cosmeceuticals: Trend and Prospects* / ed. S.-K. Kim. Boca Raton : CRC Press, 2012. P. 169–179.
3. Chitin and chitosan derivatives : Advances in drug discovery and developments / ed. S.-K. Kim. Boca Raton : CRC Press, 2013. 527 p.
4. Can A. S., Erdal M. S., Gungor S., Ozsoy Y. Optimization and characterization of chitosan films for transdermal delivery of ondansetron // *Molecules.* 2013. Vol. 18, № 5. P. 5455–5471.
5. Filion D., Buschmann M. D. Chitosan–glycerol-phosphate (GP) gels release freely diffusible GP and possess titratable fixed charge // *Carbohydr. Polym.* 2013. Vol. 98, № 1. P. 813–819.
6. Araki J., Yamanaka Y. Anionic and cationic nanocomposite hydrogels reinforced with cellulose and chitin nanowhiskers : effect of electrolyte concentration on mechanical properties and swelling behaviors // *Polym. Adv. Technol.* 2014. Vol. 25, № 10. P. 1108–1115.
7. Perchyonok T. V., Zhang S., Grobler S., Oberholzer T., Massey W. Insights into functional tea infused-chitosan hydrogels as potential bio-active restorative materials // *Europ. J. General Dentistry.* 2014. Vol. 3, № 1. P. 22–28.
8. Иваненко М. В., Хонина Т. Г., Чупахин О. Н. и др. Синтез фармакологически активных гидрогелей на основе комбинированных полиолоатов кремния и титана // *Изв. АН. Сер. хим.* 2012. № 11. С. 2146–2155.
9. Kandimalla K. K., Borden E., Omtri R. S., Boyapati S. P., Smith M., Lebbby K., Mulpuru M., Gadde M. Ability of chitosan gels to disrupt bacterial biofilms and their applications in the treatment of bacterial vaginosis // *J. Pharm. Sci.* 2013. Vol. 102, № 7. P. 2096–2101.
10. Senyigit Z. A., Karavana S. Y., Eraç B., Gürsel O., Limoncu M. H., Baloglu E. Evaluation of chitosan based vaginal bioadhesive gel formulations for antifungal drugs // *Acta Pharm.* 2014. Vol. 64, № 2. P. 139–156.
11. Li F., Liu Y., Ding Y., Xie Q. A new injectable *in situ* forming hydroxyapatite and thermosensitive chitosan gel promoted by Na_2CO_3 // *Soft Matter.* 2014. № 10. P. 2292–2303.
12. Чупахин О. Н., Бондарев А. Н., Штанько И. Н. и др. Синтез и свойства биологически активного кремний, цинк-глицерогидрогеля // *Изв. АН. Сер. хим.* 2014. № 5. С. 1219–1224.
13. Нечаев А. П., Кочеткова А. А., Зайцев А. Н. Пищевые добавки. М.: Колос, 2001. 295 с.
14. Азимов Ж. Т., Оксенгендлер Б. Л., Тураева Н. Н., Рашидова С. Ш. Влияние строения биополимера хитозана на его бактерицидную активность // *Высокомолек. соед.* 2013. Т. 55 А, № 2. С. 165–169.
15. Mohy Eldin M. S., Soliman E. A., Hashem A. I., Tamer T. M. Chitosan modified membranes for wound dressing applications : Preparations, characterization and bio-evaluation // *Trends Biomater. Artif. Organs.* 2009. Vol. 22, № 3. P. 154–164.
16. Liu N., Chen X.-G., Park H.-J. et al. Effect of MW and concentration of chitosan on antibacterial activity of *Escherichia coli* // *Carbohydr. Polym.* 2006. Vol. 64, № 1. P. 60–65.
17. Шитовская А. Б., Фомина В. И., Куреев М. Н., Казакова Е. С., Касьян И. А. Биологическая активность олигомеров хитозана // *Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология.* 2008. Т. 8, вып. 2. С. 46–49.
18. Shipovskaya A. B., Rudenko D. A., Fomina V. I., Shchyogolev S. Yu. Influence of physical and chemical modification on the optical rotatory dispersion and biological activity of chitosan films // *Inter. J. Polymer Sci. V.* 2013. ID 825296. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/825296>.



19. Фомина В. И., Солонина Н. А., Казмичева О. Ф., Комаров Б. А., Шиповская А. Б. Нестабильность водно-кислотных растворов хитозана // Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана : материалы 7-й междунар. конф. М. : ВНИРО, 2003. С. 367–371.
20. Миронов А. В., Вихорева Г. А., Кильдеева Н. Р., Успенский С. А. Причины неустойчивости вязкостных свойств уксуснокислых растворов хитозана // Высокомолек. соед. 2007. Т. 49 Б, № 1. С. 136–138.
21. Esam A. E., Khan R. A., Yahaya A. H. Study of the parameters affecting the viscosity of chitosan solutions // J. Chem. Soc. Pak. 2008. Vol. 30, № 4. P. 529–531.
22. Abramov A. Y., Kozyreva E. V., Shipovskaya A. B. Peculiarities of the physicochemical properties of chitosan solutions // Europ. J. Natural History. 2013. № 1. С. 30–35.
23. Desbrieres J. Viscosity of semiflexible chitosan solutions: influence of concentration, temperature, and role of intermolecular interactions // Biomacromolec. 2002. Vol. 3, № 2. P. 342–349.
24. Малинкина О. Н., Провозина А. А., Шиповская А. Б. Изучение взаимодействия гидрохлорида хитозана с аскорбиновой кислотой методами ИК и ЯМР спектроскопии // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2014. Т. 14, вып. 3. С. 20–25.
25. Tian X. L., Tian D. F., Wang Z. Y., Mo F. K. Synthesis and evaluation of chitosan-vitamin C complex // Ind. J. Pharm. Sci. 2009. Vol. 71, № 4. P. 371–376.

УДК 543.38.05:543.544

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ СОРБЕНТОВ В ТЕХНОЛОГИИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ

Т. А. Байбурдов¹, Е. И. Беризовская², В. В. Васин², В. М. Гончаров²,
А. В. Малинин², В. С. Перельгин², Л. Л. Ступенькова¹, Н. А. Юрасов³

¹ООО «Саратовский химический завод акриловых полимеров «АКРИПОЛ»

E-mail: bta@acrypol.ru

²ФГУП «Научный центр «Сигнал», Москва

E-mail: gvm52005@yandex.ru

³Саратовский государственный университет

E-mail: nik-yurasov@yandex.ru

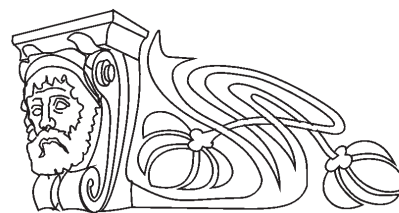
Показана высокая эффективность применения анионного полимерного сорбента в процессах сорбции и десорбции проб водных растворов органических веществ. Рекомендованы оптимальные условия его использования в качестве сорбента проб водных объектов окружающей среды в процессах химико-аналитического контроля экологических загрязнителей природного и антропогенного происхождения.

Ключевые слова: анионный полимерный сорбент, водная проба, сорбционные свойства, органические вещества, степень экстракции, масс-спектрометрия.

Using Polymeric Sorbent Technologies for Ecology Monitoring of Water Objects

T. A. Bayburdov, E. I. Berizovskaya, V. V. Vasin,
V. M. Goncharov, A. V. Malinin, V. S. Perelygin,
L. L. Stupen'kova, N. A. Yurasov

In this paper the high efficiency of the anionic absorbent polymer in the sorption and desorption of samples of aqueous solutions of organic substances. Recommended that the optimal conditions for use as a sorbent sample of water objects of the environment in the process of chemical and analytical monitoring of environmental pollutants of natural and anthropogenic origin.



Key words: anionic polymeric absorbent, water sample, sorption conditions, organic compounds, coefficient of extraction, mass spectrometry.

Введение

Химико-аналитический контроль является одной из составляющих экологического мониторинга, относящегося к организационно-правовому обеспечению мероприятий по охране окружающей среды. В задачи экологического мониторинга входят контроль состояния объектов окружающей среды (ООС) и соблюдение требований нормативных документов экологического законодательства по рациональному использованию природных ресурсов.

Так, мониторинг водных объектов представляет собой систему мероприятий по проведению химико-аналитического контроля экологических загрязнителей природного и антропогенного происхождения. Определение таких веществ в следовых количествах требует применения систематического анализа, в основу которого положены



структурно-логические схемы отбора репрезентативной пробы, доставки ее в лабораторию, пробоподготовки и собственно инструментальных методов (методик) измерений и интерпретации результатов. Внедрение в аналитическую практику новейших высокочувствительных систем, таких как высокоэффективная жидкостная и газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием, позволяет использовать сорбционные полимерные композиции для отбора и подготовки жидких проб к анализу [1–9]. Это приводит к уменьшению объема отбираемых проб без потери в чувствительности и специфичности обнаружения.

Одним из известных методов подготовки проб воды к анализу является твердофазная экстракция (ТФЭ), применение которой основано на концентрировании следовых количеств веществ на твердых сорбентах с различной химической структурой. Направление разработки полимерных сорбентов, способных удерживать широкий спектр полярных и неполярных молекул органических веществ, в последние годы получило интенсивное развитие. Перспективным направлением является использование сшитых водопоглощающих акриловых сополимеров, содержащих ионогенные функциональные группы. Такие полимерные сорбенты обладают достаточной механической прочностью, химической и термической стабильностью, а также регулируемыми величинами сорбционных свойств [10–11].

Объектом исследования были выбраны модельные водные растворы аналитов: декана, этилбензола, никотинамида с массовой концентрацией 0,001–0,1%.

В настоящей работе исследовали сорбцию проб водных растворов аналитов анионным полимерным сорбентом и десорбцию аналитов экстракцией органическими растворителями.

Материалы и методы

В экспериментах использовали образцы порошкообразного анионного водопоглощающего сополимера (ВПП), полученные в лабораторных условиях путем радикальной (со) полимеризации акриламида и акрилата натрия в присутствии N,N'-метилен-бис-акриламида. Лабораторные образцы ВПП отличались величиной равновесной степени поглощения воды [12], которая изменялась в пределах от 13 до 500 г/г. Массовая доля растворимой части в образцах ВПП составляла менее 2%.

Метод определения сорбционной емкости образцов ВПП по отношению к воде основан

на измерении массы водной пробы до и после контакта с полимерным сорбентом. При исследовании сорбционной емкости полимерного сорбента при 40 °С образец ВПП и воду предварительно термостатировали при данной температуре. При исследовании сорбционной емкости полимерного сорбента при минус 20 °С перед смешением порошкообразный образец ВПП предварительно термостатировали при минус 20 °С, а воду – при плюс 3 °С.

Степень насыщения полимерного сорбента водной пробой (W , %) рассчитывали из соотношения массы пробы водного раствора аналита, сорбированной образцом полимерного сорбента при эксперименте, к сорбционной емкости образца полимерного сорбента по отношению к воде.

Для приготовления модельных водных растворов аналитов использовали реактивы квалификации «чда». Модельные водные растворы этилбензола (либо декана) с массовой концентрацией 0,01–0,001 % готовили путем последовательного разбавления дистиллированной водой спиртового раствора этилбензола (либо декана) с массовой концентрацией 0,5%. Растворы никотинамида с массовой концентрацией 0,01–0,001% готовили путем последовательного разбавления дистиллированной водой водного раствора с массовой концентрацией 0,1%.

Для проведения исследований сорбционных свойств полимерного сорбента в виалы вносили навески образцов порошкообразного анионного ВПП и отмеряли с помощью пипетки заданные объемы дистиллированной воды или модельных водных растворов аналитов с массовой концентрацией 0,1, 0,01 или 0,001%.

Основываясь на литературных данных, для оптимизации параметров экстракции аналитов из полимерного сорбента в качестве экстрагентов были исследованы изопропиловый спирт (ИПС), хлороформ (ХФ) и ацетонитрил (АН).

При исследовании десорбции полимерного сорбента, содержащего аналиты, в виалы с ВПП отмеряли заданные объемы экстрагентов. Через 20–180 мин отбирали пробы полученных экстрактов и проводили измерения содержания в них аналитов с помощью хромато-масс-спектрометрического метода. Количественное определение аналита проводили методом «внешнего стандарта» путем построения градуировочной зависимости по каждому определяемому веществу. Рассчитывали содержание аналитов в экстракте по градуировочным зависимостям детектируемого сигнала (S) от



концентрации (C) аналитов в водном растворе в диапазоне $(1-30) \cdot 10^{-5}$ г/см³. Степень экстракции (K_3 , %) каждого из аналитов вычисляли по формуле:

$$K_3 = C_2 \cdot 100 / C_1,$$

где C_2 – массовая доля экстрагированного аналита, %; C_1 – массовая доля аналита в пробе его модельного водного раствора, %.

Качественный и количественный анализ исследуемых аналитов проводили с использованием газового хромато-масс-спектрометра (ГХ-МС) Finnigan, модель Trace GC-DSQ и высокоэффективного жидкостного хроматографа (ВЭЖХ) «Стайер UV».

Параметры метода ГХ-МС при измерении аналитов приведены в табл. 1.

Таблица 1

Параметры метода ГХ-МС при измерении аналитов

Подвижная фаза	Гелий 99,995 %-ной чистоты
Скорость потока подвижной фазы	1,0 мл/мин
Хроматографическая колонка	TR-5MS, 30 м × 0,32 мм × 0,25 мкм
Температурная программа	7 мин при 60 °С. Нагрев 5 °С/мин до 120°С и термостатирование в течение 1 мин, затем нагрев 20 °С/мин до 200°С и термостатирование в течение 7 мин
Объем пробы	1 мкл

В качестве примера на рис. 1 представлены хроматограмма и масс-спектр декана, полученные при анализе стандартного образца.

Определяли содержание аналитов в анализируемой пробе экстракта с помощью калибровочных кривых (рис. 2 – представлен для декана) и рассчитывали степень экстракции.

лизируемой пробе экстракта с помощью калибровочных кривых (рис. 2 – представлен для декана) и рассчитывали степень экстракции.

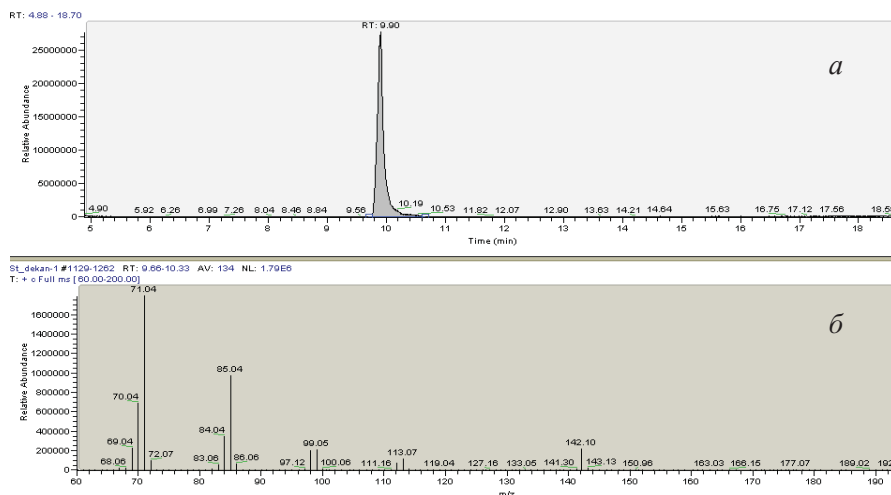


Рис. 1. Хроматограмма (а) и масс-спектр (б), полученные при анализе стандартного образца декана методом ГХ-МС. Концентрация декана $2,75 \cdot 10^{-4}$ г/см³, время удерживания 9,90 мин

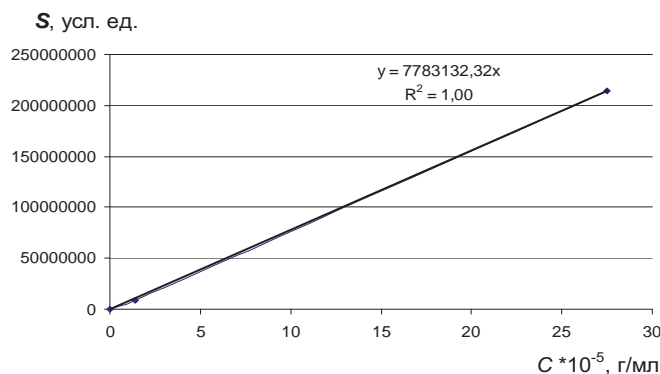


Рис. 2. Градуировочная зависимость детектируемого сигнала (S) от концентрации (C) декана



Параметры метода ВЭЖХ при измерении аналитов приведены в табл. 2.

На рис. 3 представлена хроматограмма,

полученная при анализе водного раствора стандартного образца НА с массовой концентрацией $6,4 \cdot 10^{-6}$ г/мл.

Таблица 2

Параметры метода ВЭЖХ при измерении аналитов

Подвижная фаза	Фосфорная кислота (H_3PO_4 , 0,6 %) – ацетонитрил (HPLC-grade) в соотношении 99:1 (по объему)
Скорость потока подвижной фазы	800 мкл/мин
Хроматографическая колонка	Phenomenex Luna C18(2), 100 А, длина 150 мм, диаметр 4,6 мм, зернение 5 мкм
Детектирование	Спектрофотометрическое (длина волны 261 нм, УФ-лампа)
Объем пробы	50 мкл

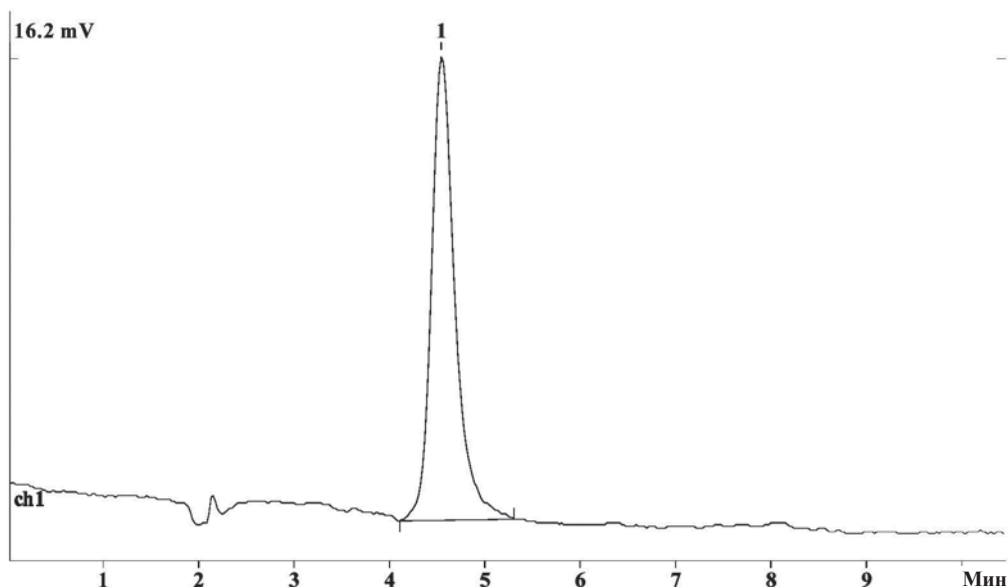


Рис. 3. Хроматограмма стандартного образца водного раствора никотинамида

С помощью калибровочной кривой (рис. 4) определяли содержание НА в анализируемой

пробе экстракта и рассчитывали степень экстракции.

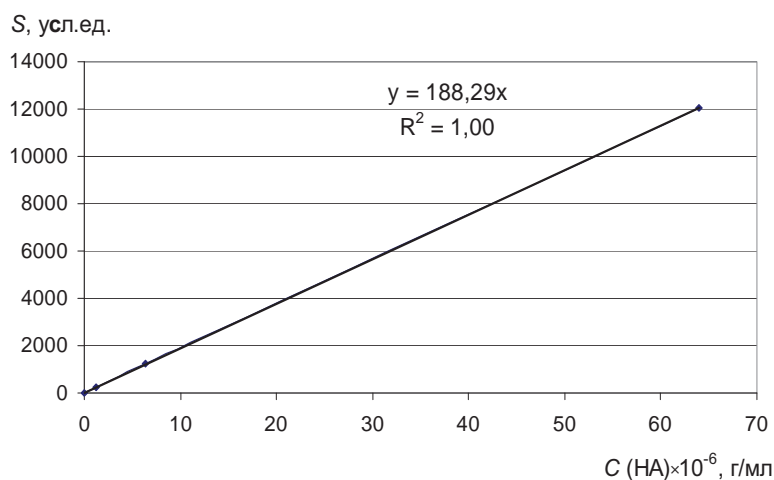


Рис. 4. Градуировочная зависимость детектируемого сигнала (S) от концентрации (C) никотинамида



Результаты и их обсуждение

Исследования сорбционных свойств образцов анионного ВПП. Согласно результатам исследований, приведенным в табл. 3, сорбционная емкость образцов анионного полимерного абсорбента по отношению к воде практически

не зависит от температуры эксперимента и возрастает с увеличением равновесной степени поглощения и массы образца ВПП, используемой в эксперименте. При увеличении массы ВПП в 4 раза сорбционная емкость полимерного абсорбента по отношению к воде возрастает в 2 раза.

Таблица 3

Изменение сорбционной емкости образцов анионного ВВП в зависимости от условий отбора водной пробы

Индекс образца полимерного абсорбента	Равновесная степень поглощения воды ВПП, г/г	Масса полимерного абсорбента, г	Сорбционная емкость образца ВВП по отношению к воде, г	
			температура эксперимента	
			плюс 3 °С – минус 20 °С	плюс 40 °С
1	500	0,1	6,5	7,4
		0,05	5,7	6,0
		0,02	2,9	3,0
2	130	0,1	–	2,2
		0,05	–	1,7
		0,025	–	1,2
3	70	0,02	1,0	1,2
4	50	0,025	0,8	1,2
5	35	0,02	0,5	1,0
6	22	0,02	0,3	0,3
7	13	0,02	0,1	0,2

В табл. 4 представлены экспериментальные данные, полученные при исследовании скорости поглощения водной пробы образцами ВПП, обладающими различными величинами равновесной

степени водопоглощения в зависимости от массы полимерного абсорбента.

Таблица 4

Зависимость скорости поглощения воды от массы ВПП

Индекс образца ВПП	Равновесная степень поглощения воды ВПП, г/г	Скорость водопоглощения, г/мин			
		масса образца ВПП, г			
		0,1	0,5	1,0	1,2
1	500	3,5	12	21	–
2	130	3,5	–	–	–
3	70	1,8	4,0	8,5	8,7
5	35	1,6	–	–	–
6	22	1,0	–	–	–
7	13	1,0	–	–	–

Анализ данных табл. 4 показывает, что при увеличении массы образцов ВПП в 10 раз, количество поглощенной воды в течение 10 мин увеличивается в 7–8 раз.

С уменьшением размера полимерных частиц скорость поглощения водной пробы возрастает незначительно. Результаты проведенных исследований сорбционных свойств образцов анионного ВПП свидетельствуют о возможности их использования в качестве полимерных сорбентов для отбора и временного хранения водных проб. Для отбора водной пробы в объеме 1 см³ в течение 1 мин достаточно использовать порошкообразные об-

разцы анионного ВПП, обладающие равновесной степенью поглощения воды менее 70 г/г и имеющие размер полимерных частиц менее 1 мм.

Определение оптимальных условий экстракции аналитов. Предварительно были проведены исследования изменения сорбционных свойств образца анионного ВПП по отношению к различным органическим растворителям. На рис. 5 представлены зависимости изменения степени водопоглощения образца анионного ВПП по отношению к органическим растворителям в двухкомпонентной системе органический растворитель–вода.

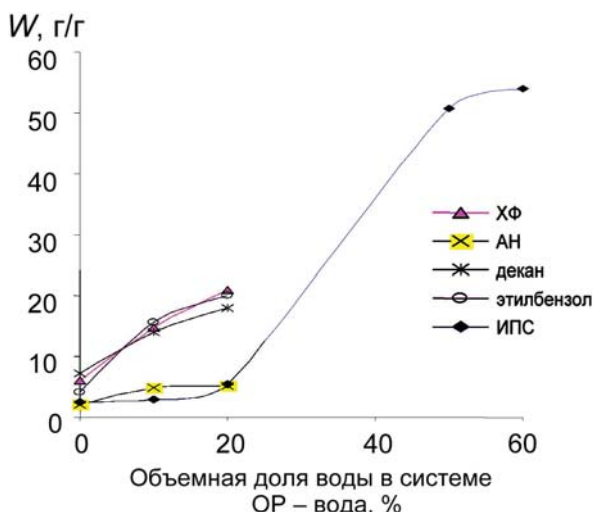


Рис. 5. Изменение степени поглощения (W , г/г) анионного полимерного сорбента в зависимости от объемной доли воды в системе органический растворитель – вода (ОР – вода). ХФ – хлороформ, АН – ацетонитрил, ИПС – изопропиловый спирт

Кривые рис. 5 показывают, что образец анионного ВПП сорбирует ХФ, АН, декан, этилбензол и ИПС в пределах от 2 до 6 г на 1 г полимерного сорбента. Степень поглощения образца анионного ВПП возрастает пропорционально увеличению объемной доли воды в двухкомпонентных системах ХФ–вода и декан–вода. ХФ и декан практически не оказывают влияния на сорбционные свойства ВПП по отношению к

воде. В двухкомпонентных системах ИПС–вода и АН–вода степень поглощения анионного ВПП изменяется незначительно в интервале значений объемной доли воды в ИПС–вода (или АН–вода) от 0,1 до 0,3 %. Затем с увеличением объемной доли воды степень поглощения ВПП начинает возрастать и достигает максимального значения для системы, содержащей равные объемные доли ИПС (АН) и воды. Следовательно, ИПС и АН экстрагируют из полимерного сорбента воду, и полная десорбция воды из полимерного сорбента возможна при условии объемного соотношения:

$$V_{\text{вода}} / V_{\text{ипс}} \leq 0,35,$$

где $V_{\text{вода}}$ – объемная доля воды, %; $V_{\text{ипс}}$ – объемная доля изопропилового спирта, %.

В присутствии ХФ сорбционные свойства образца анионного ВПП по отношению к воде не изменяются. При этом наблюдается разделение смеси на два слоя: нижний слой – хлороформа, верхний слой – набухших в воде полимерных частиц ВПП.

В присутствии ИПС при условии $V_{\text{вода}} / V_{\text{ипс}} \leq 0,35$ наблюдается образование осадка «обезвоженного» ВПП и надосадочной жидкости, содержащей ИПС и воду.

На рис. 6 представлены кинетические кривые изменения степени экстракции декана ИПС и смесью ИПС–ХФ из полимерного сорбента, содержащего пробу модельного водного раствора декана. Концентрация водного раствора декана – 0,01%, степень насыщения полимерного сорбента водной пробой – 20%

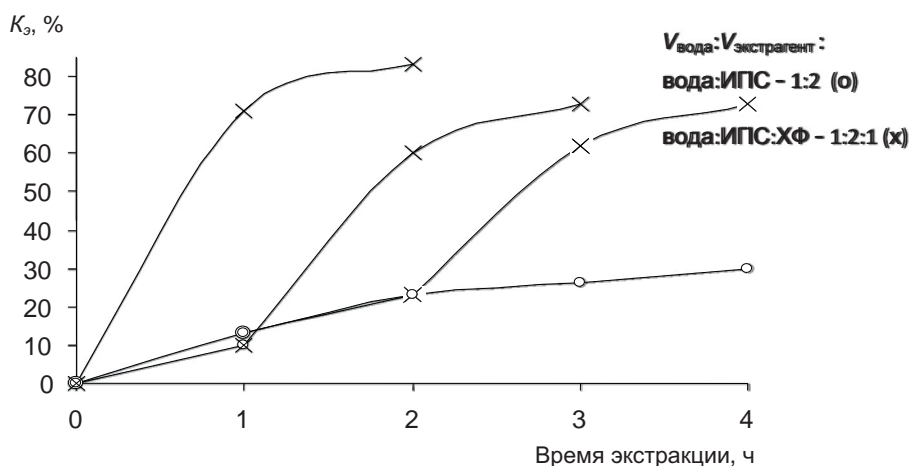


Рис. 6. Кинетические кривые изменения степени экстракции (K_3 , %) декана ИПС и смесью ИПС–ХФ из полимерного сорбента, содержащего пробу модельного водного раствора декана. Концентрация водного раствора декана – 0,01%, степень насыщения полимерного сорбента водной пробой – 20%

Кинетические кривые рис. 6 показывают, что ХФ обладает высокими сорбционными свойствами по отношению к декану. Дополнительное введение ХФ увеличивает скорость

и степень экстракции декана. Так, в течение 2 ч степень экстракции декана ИПС достигает 26%. При введении через 1 или 2 ч экстракции в систему вода–ИПС дополнительно ХФ степень



экстракции декана возрастает и достигает за 3–4 ч экстракции 62%. В двухкомпонентной системе ИПС–ХФ в течение 2 ч степень экстракции декана достигает 80%.

Экстракция декана ИПС в значительной степени зависит от степени насыщения полимерного абсорбента пробой его модельного водного раствора. Кривые рис. 7 показывают, что степень экстракции декана ИПС возрастает с увеличением объема пробы модельного водного раствора ($V_{вп}$) декана в полимерном абсорбенте. Максимальное значение степени экстракции получено при извлечении декана ИПС из образца анионного ВПП с высокой степенью насыщения пробой его модельного водного раствора ($W = 100\%$).

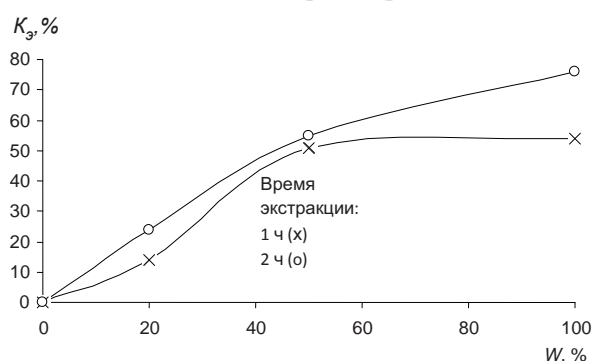


Рис. 7. Влияние степени насыщения полимерного абсорбента (W , %) пробой водного раствора на экстракцию декана ИПС. Концентрация водного раствора декана 0,01%, $V_{вп}/V_{ипс} = 1:2$; K_3 – степень экстракции декана

На рис. 8 представлены графические зависимости K_3 декана ИПС от $V_{вп}/V_{ипс}$. Степень насыщения полимерного абсорбента пробой модельного водного раствора декана в данной серии экспериментов составляла 100%.

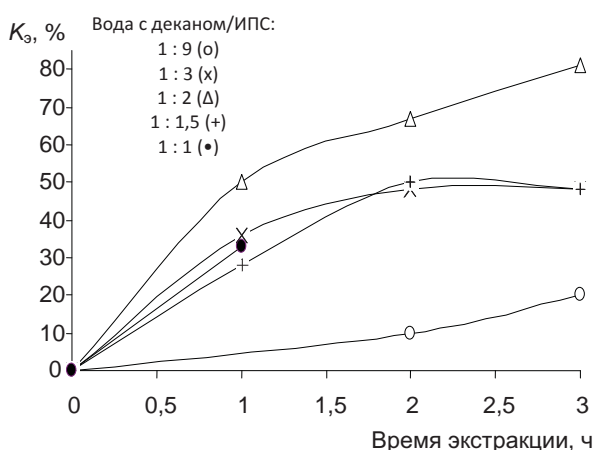


Рис. 8. Кинетические кривые изменения степени экстракции (K_3 , %) декана ИПС из полимерного абсорбента с пробой модельного водного раствора при различном объемном соотношении воды с деканом к ИПС. Концентрация водного раствора декана 0,01 %, степень насыщения полимерного абсорбента в экспериментах – 100%

Экспериментальные исследования показывают, что наибольшие величины степени экстракции достигаются при объемном соотношении пробы водного раствора декана к ИПС, равном 1:2.

Следовательно, оптимальными условиями экстракции декана являются: 100 %-ная степень насыщения полимерного абсорбента пробой его модельного водного раствора в эксперименте; объемное соотношение воды с деканом к ИПС соответствующее 1:2; время экстракции (ИПС или ИПС–ХФ) – 2 часа.

Аналогичные результаты были получены при исследовании экстракции этилбензола из образцов анионного ВПП с пробами его модельных водных растворов. При хранении полимерных абсорбентов, содержащих пробы водных растворов этилбензола, в течение 27 суток происходило значительное уменьшение K_3 этилбензола. Следовательно, необходимо регламентировать срок хранения полимерных абсорбентов с водными пробами арилсодержащих органических загрязнителей.

Для повышения степени экстракции этилбензола из ВПП с пробами его модельных водных растворов проведена экстракция аналита ИПС с последующей экстракцией ХФ. Как следует из данных табл. 5, в результате дополнительной экстракции этилбензола ХФ K_3 увеличивается на 5–19%. Таким образом, суммарная экстракция этилбензола ИПС и ХФ при заданных условиях достигает 27–63%.

Таблица 5

Изменение степени экстракции этилбензола при извлечении смесью ИПС и ХФ из полимерных абсорбентов в зависимости от условий экстракции

Концентрация водного раствора этилбензола, %	$V_{вп}/V_{ипс}$	K_3 , %		Метод измерения
		при последовательной экстракции		
		ИПС	хлороформ	
0,001	1,0	10	19	ГХ-МС
0,001	0,5	48	15	ВЭЖХ ГХ-МС
0,01	1,0	19	8	ГХ-МС
0,01	1,0	41	16	ВЭЖХ ГХ-МС
0,1	1,0	33	5	ГХ-МС

Примечание. Степень насыщения полимерного абсорбента пробой модельного водного раствора аналита – 33%.

По результатам предварительных экспериментов установлено, что никотинамид не растворим в АН и ХФ. Из данных, представленных в табл. 6, следует, что ИПС является оптимальным



экстрагентом никотинамида из полимерного абсорбента с пробами его модельных водных растворов.

Таблица 6

Изменение степени экстракции никотинамида ИПС из полимерного абсорбента в зависимости от условий экстракции

Масса ВПП, г	Степень насыщения водной пробой полимерного абсорбента, %	$V_{вп}/V_{ипс}$	Кэ, %		
			Концентрация водного раствора никотинамида, %		
			0,001	0,01	0,1
0,3	33,0	1,0	99,0	–	–
0,3	33,0	1,0	–	81,0	–
0,3	33,0	1,0	–	–	98,0
0,3	7,0	0,2	–	–	82,0
0,1	6,0	0,15	–	–	62,0

Степень экстракции никотинамида ИПС понижается с уменьшением степени насыщения полимерного абсорбента в эксперименте. С целью повышения значений степени экстракции никотинамида целесообразно дополнительное введение воды в ВПП с пробой модельного водного раствора аналита для повышения степени насыщения полимерного абсорбента, и последующего проведения экстракции никотинамида.

Заключение

Таким образом, полученные результаты экспериментальных исследований свидетельствуют об эффективности использования предлагаемого сорбционного способа отбора жидких проб с последующей десорбцией экологических загрязнителей из проб воды. Такой подход может быть положен в основу разработки методик измерений для оценки химического фактора при проведении экологического мониторинга водных объектов.

Полученные данные позволяют сделать важные в практическом отношении выводы. Анионный полимерный абсорбент является эффективным сорбентом водных проб аналитов, обладающим высокой скоростью сорбции при различных температурах. Оптимальными условиями экстракции аналитов являются высокая степень насыщения водной пробой полимерного абсорбента и объемное соотношение водной пробы к экстрагенту, равное 1:2.

Установлено, что анионный полимерный абсорбент обладает требуемыми сорбционными свойствами по отношению к водным пробам при заданных условиях отбора пробы водных растворов аналитов.

Определены условия, при которых степень экстракции аналитов из полимерных абсорбентов, содержащих их водные растворы, составляет более 60 %.

Авторы выражают признательность доктору химических наук, профессору кафедры полимеров Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского А. Б. Шиповской за оказание помощи в организации и проведении исследований, а также Центру коллективного пользования СГУ за предоставленное оборудование для проведения хроматографического анализа.

Список литературы

1. Киселев А. В. Межмолекулярные взаимодействия в адсорбции и хроматографии : учеб. пособие для хим., биол. и хим.-технол. спец. вузов. М. : Высш. шк., 1986. 360 с.
2. Другов Ю. С., Родин А. А. Мониторинг органических загрязнителей природной среды 500 методик (Практическое руководство). М. : Бином. Лаб. знаний, 2013.
3. Другов Ю. С., Родин А. А. Пробоподготовка в экологическом анализе : практ. рук.-во. М. : Бином. Лаб. знаний, 2009. 855 с.
4. Макаров Е. Д. Проточная твердофазная микроэкстракция как новый способ сорбционной пробоподготовки в газовой хроматографии : автореф. дис. ... канд. хим. наук. СПб., 2004. 22 с.
5. Миронов А. А. Совершенствование и автоматизация подготовки проб к химическому анализу при чрезвычайных ситуациях : автореф. дис. ... канд. техн. наук. М., 2012. 16 с.
6. Даванков В. А., Сычев К. С., Ильин М. М. Применение сверхсшитых полистирольных сорбентов в высокоэффективной жидкостной хроматографии // Журн. Заводская лаборатория. 2003. № 4. С. 3–6.
7. Михеева А. Ю. Унификация пробоподготовки на основе колоночной хроматографии при определении стойких органических загрязнителей : автореф. дис. ... канд. хим. наук. М., 2009. 23 с.
8. Денисова М. В. Нейтральные полимерные сорбенты для извлечения малополярных органических веществ : автореф. дис. ... канд. хим. наук. М., 1990. 16 с.
9. Оскотская Э. Р. Полимерные хелатообразующие сорбенты на полистирольной матрице в анализе природных и технических объектов : автореф. дис. ... д-ра хим. наук. М., 2006. 33 с.
10. Абрамова Л. И., Байбурдов Т. А., Григорян Э. П., Зильберман Е. Н., Мягченков В. А. Полиакриламид / под ред. В. Ф. Куренкова. М. : Химия, 1992. 192 с.
11. Сулейменов И. Э., Будтова Т. В., Бектуров Е. А. Кинетика набухания сильно набухающих гидрогелей в условиях сосуществования двух фаз // Высокомолек. соед. Сер. А. 2002. Т. 44, № 9. С. 1571–1577.
12. ТУ 2216-016-55373366-2007 «Полимер акриламида АК 639 водопоглощающий». Саратов, 2008.



УДК 541.123.3:543.572.3

ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОГО ТЕТРАЭДРА $\text{LiF-KF-KCl-K}_2\text{WO}_4$ ЧЕТЫРЕХКОМПОНЕНТНОЙ ВЗАИМНОЙ СИСТЕМЫ Li,K||F,Cl,WO_4



О. В. Пичкаев, Е. М. Дворянова, И. К. Гаркушин

Самарский государственный технический университет
E-mail: legpichkaev@rambler.ru

Методом дифференциального термического анализа (ДТА) исследован объединенный стабильный тетраэдр $\text{LiF-KF-KCl-K}_2\text{WO}_4$ четырехкомпонентной взаимной системы Li,K||F,Cl,WO_4 и определены составы и температуры четырехкомпонентных эвтектики и перитектики.

Ключевые слова: фазовые равновесия, эвтектика, перитектика, дифференциальный термический анализ.

Study of the Stable Tetrahedron $\text{LiF-KF-KCl-K}_2\text{WO}_4$ of the Quinary Reciprocal System Li,K||F,Cl,WO_4

O. V. Pichkaev, E. M. Dvoryanova, I. K. Garkushin

The stable tetrahedron $\text{LiF-KF-KCl-K}_2\text{WO}_4$ of the quinary reciprocal system Li,K||F,Cl,WO_4 was studied by differential thermal analysis, and the characteristics of eutectic and peritectic were determined.

Key words: phase equilibria, eutectic, peritectic, differential thermal analysis.

Объект и метод исследования

Развертка граневых элементов объединенного стабильного тетраэдра $\text{LiF-KF-KCl-K}_2\text{WO}_4$ четырехкомпонентной взаимной системы Li,K||F,Cl,WO_4 представлена на рис. 1. Данные по двухкомпонентным системам взяты из литературы: LiF-KF [1], KF-KCl , $\text{KF-K}_2\text{WO}_4$, $\text{KCl-K}_2\text{WO}_4$ [2].

Квазибинарные системы, являющиеся стабильными диагоналями трехкомпонентных взаимных систем, изучены в работах: $\text{LiF-K}_2\text{WO}_4$ в [3], LiF-KCl в [4]. Трехкомпонентная система $\text{KF-KCl-K}_2\text{WO}_4$ исследована ранее [5]. Стабильные треугольники тройных взаимных систем также изучены различными авторами: LiF-KF-KCl [4], $\text{LiF-KF-K}_2\text{WO}_4$ [3]. Стабильный треугольник четырехкомпонентной взаимной системы изучен нами ранее $\text{LiF-KCl-K}_2\text{WO}_4$ [6].

Наличие в двухкомпонентной системе $\text{KF-K}_2\text{WO}_4$ соединения конгруэнтного плавления $\text{KF-K}_2\text{WO}_4$ (D) разбивает стабильный тетраэдр $\text{LiF-KF-KCl-K}_2\text{WO}_4$ на два: LiF-KF-KCl-D и $\text{LiF-K}_2\text{WO}_4\text{-KCl-D}$. Поскольку внутри трехкомпонентной системы $\text{LiF-KF-K}_2\text{WO}_4$ соединение D меняет свой характер плавления на инконгруэнтный (см. рис. 1), целесообразно экспериментально исследовать тетраэдр $\text{LiF-KF-KCl-K}_2\text{WO}_4$ в объединенном виде.

Экспериментальная часть

Исследования проводили методом дифференциального термического анализа (ДТА) на установке ДТА в стандартном исполнении [7]. Исходные реактивы квалификации «чда» (LiF , KF), «хч» (KCl , K_2WO_4) были предварительно обезвожены прокаливанием и переплавлены. Температуры плавления веществ соответствовали справочным данным [8, 9]. Исследования проводили в стандартных платиновых микротиглях. Индифферентное вещество – свежeproкаленный Al_2O_3 (хч). Масса навесок составляла 0.3 г. Составы указаны в молярных концентрациях эквивалентов, %.

Для экспериментального исследования в стабильном тетраэдре выбрано политермическое сечение $a[\text{LiF} - 60\%; \text{KF} - 40\%]-b[\text{LiF} - 60\%; \text{KCl} - 40\%]-c[\text{LiF} - 60\%; \text{K}_2\text{WO}_4 - 40\%]$ в объеме кристаллизации фторида лития (рис. 2). В сечении abc экспериментально исследован политермический разрез $A[\text{LiF} - 60\%; \text{K}_2\text{WO}_4 - 20\%; \text{KCl} - 20\%]-B[\text{LiF} - 60\%; \text{KF} - 20\%; \text{KCl} - 20\%]$, который представлен на рис. 3.

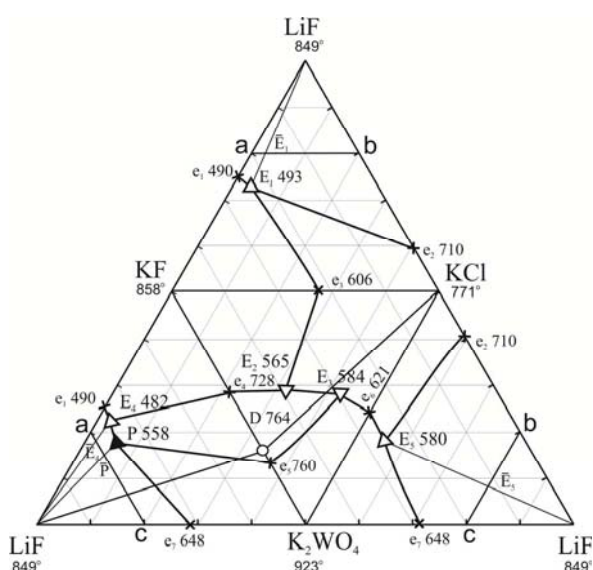


Рис. 1. Развертка граневых элементов тетраэдра $\text{LiF-KF-KCl-K}_2\text{WO}_4$ системы Li,K||F,Cl,WO_4

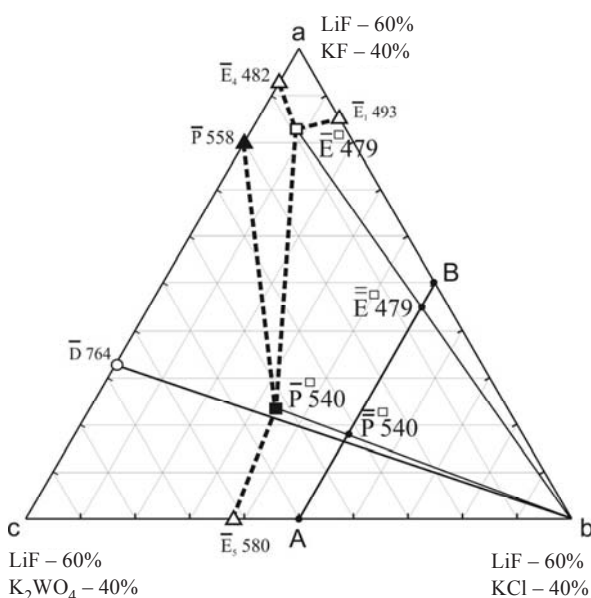


Рис. 2. Схема выбора разреза АВ в политермическом сечении abc тетраэдра LiF-KF-KCl-K₂WO₄

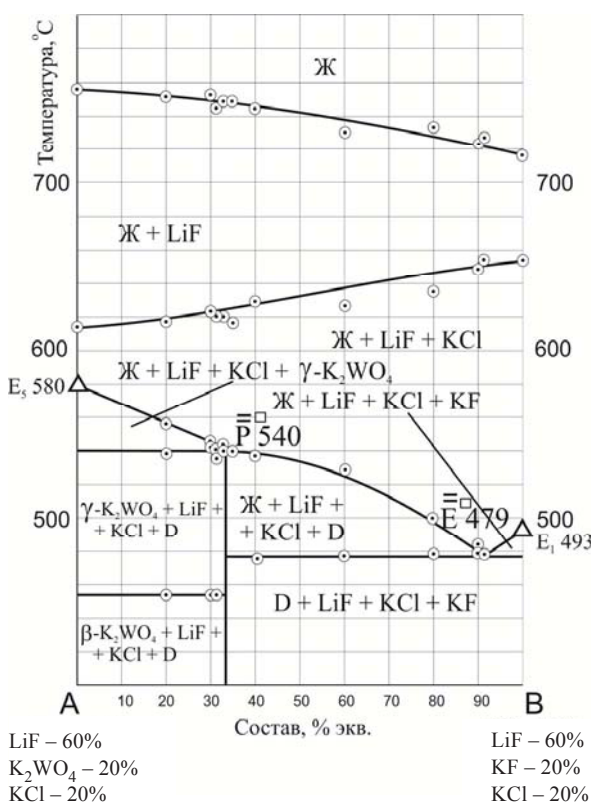


Рис. 3. T-x диаграмма разреза АВ сечения abc в тетраэдре LiF-KF-KCl-K₂WO₄

Из T-x диаграммы разреза АВ определено соотношение двух компонентов (KF и K₂WO₄) в четверных эвтектике и перитектике. Изучением разреза $b \rightarrow \bar{E}^{\square} \rightarrow \bar{E}^{\square}$, выходящего из вершины b и проходящего через направление E^{\square} на эвтек-

тику E^{\square} , определена проекция эвтектики \bar{E}^{\square} на сечение abc с постоянным соотношением трех компонентов – KF, KCl и K₂WO₄ (рис. 4).

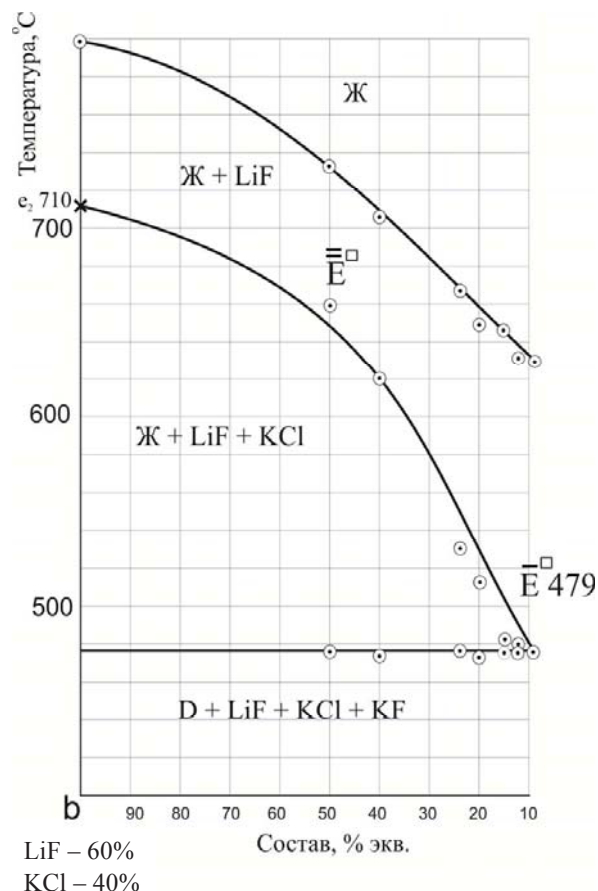


Рис. 4. T-x диаграмма разреза $a \rightarrow \bar{E}^{\square} \rightarrow E^{\square}$ сечения abc в тетраэдре тетраэдре LiF-KF-KCl-K₂WO₄

Дальнейшим исследованием разреза LiF $\rightarrow \bar{E}^{\square} \rightarrow E^{\square}$, выходящего из вершины фторида калия и проходящего через проекцию \bar{E}^{\square} , определены характеристики четырехкомпонентной эвтектики (рис. 5). Аналогично, изучением поли-термических разрезом $b \rightarrow \bar{P}^{\square} \rightarrow P^{\square}$ и LiF $\rightarrow \bar{P}^{\square} \rightarrow P^{\square}$, определены состав и температура плавления четырехкомпонентной перитектики.

Результаты и их обсуждение

В результате экспериментального исследования тетраэдра LiF-KF-KCl-K₂WO₄ определены характеристики четверной эвтектики: температура плавления составляет E^{\square} 479 °C, состав LiF – 43%, KF – 47%, KCl – 5%, K₂WO₄ – 5%. Характеристики четверной перитектики: температура плавления составляет P^{\square} 540 °C, состав LiF – 16%, KF – 19%, KCl – 28%, K₂WO₄ – 37%.

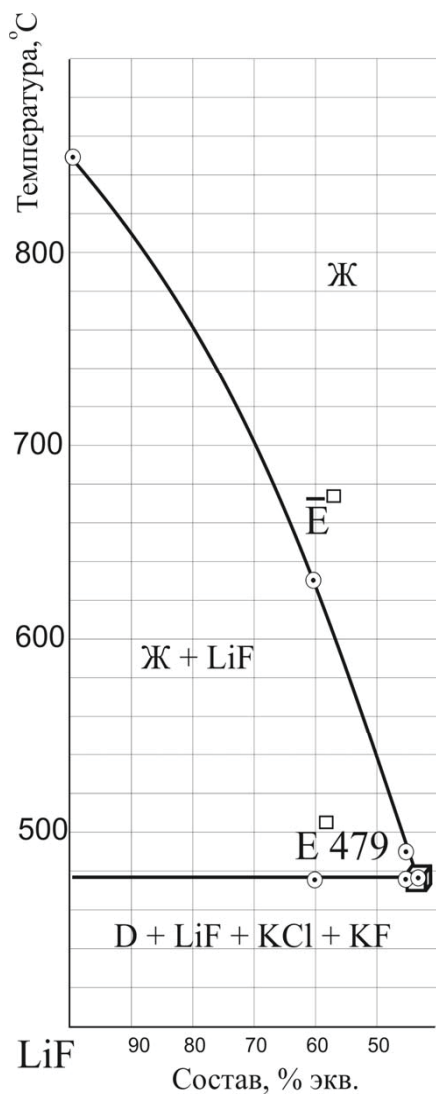


Рис. 5. T-x диаграмма разреза $\text{LiF} \rightarrow \bar{E} \square \rightarrow E \square$ сечения abc в тетраэдре $\text{LiF-KF-KCl-K}_2\text{WO}_4$

На всех термограммах наблюдались термоэффекты в твердой фазе при температурах 375 и 455°C, отвечающие полиморфным превращениям вольфрамата калия $\alpha \rightleftharpoons \beta \rightleftharpoons \gamma$, что соответствует справочным данным [9]. На диаграм-

мы эти термоэффекты не нанесены. Тетраэдр $\text{LiF-KF-KCl-K}_2\text{WO}_4$ состоит из пяти объемов кристаллизации: фторида лития, фторида калия, хлорида калия, вольфрамата калия и соединения $\text{KF} \cdot \text{K}_2\text{WO}_4$ (D).

Работа выполнена в рамках государственного задания СамГТУ на 2014 г. (код проекта № 1285).

Список литературы

1. Посыпайко В. И., Алексеева Е. А. Диаграммы плавкости солевых систем : в 3 ч. Ч. II. Двойные системы с общим анионом. М. : Metallurgia, 1977. 304 с.
2. Посыпайко В. И., Алексеева Е. А. Диаграммы плавкости солевых систем : в 3 ч. Ч. III. Двойные системы с общим катионом. М. : Metallurgia, 1979. 204 с.
3. Кислова А. И., Бергман А. Г. Взаимная система из хлоридов и вольфрамов лития и калия // Журн. неорг. химии. 1960. Т. 5, № 11. С. 2499–2502.
4. Посыпайко В. И., Алексеева Е. А. Диаграммы плавкости солевых систем. Тройные взаимные системы. М. : Химия, 1977. 392 с.
5. Система $\text{K}||\text{F,Cl,WO}_4$ / Л. М. Васильченко, А. С. Трунин, В. И. Посыпайко ; Куйб. политех. ин-т. Куйбышев, 1976. 16 с. Деп. в. ВИНТИ 27.08.1976, № 3387.
6. Бехтерева Е. М., Пичкаев О. В., Кондратюк И. М. Экспериментальное исследование стабильного треугольника $\text{LiF-KCl-K}_2\text{WO}_4$ // Сб. тр. X Междунар. Курнаковского совещ. по физ.-хим. анализу : в 2 т. Т. 1. Самара : Самар. гос. техн. ун-т, 2013. С. 252.
7. Егунов В. П. Введение в термический анализ. Самара : СамВен, 1996. 270 с.
8. Термические константы веществ : справочник / под ред. В. П. Глушко. М. : ВИНТИ, 1981. Вып. X, ч. 1. 300 с.
9. Термические константы веществ : справочник / под ред. В. П. Глушко. М. : ВИНТИ, 1981. Вып. X, ч. 2. 300 с.



БИОЛОГИЯ

УДК 616.981.452 – 036.22:616.981.452-036.21

ОЦЕНКА ЭПИЗОТОЛОГИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ БЛОХ (*INSECTA, SIPHONAPTERA*) В ФЕНОМЕНЕ СЕЗОННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ЧУМЫ В СТЕПНЫХ ПРИРОДНЫХ ОЧАГАХ ЧУМЫ СУСЛИКОВОГО ТИПА СЕВЕРНОГО, СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ПРИКАСПИЯ И ПРЕДКАВКАЗЬЯ

Н. В. Попов¹, В. В. Аникин², А. И. Удовиков¹

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов
E-mail: Popovnv47@mail.ru.

²Саратовский государственный университет
E-mail: anikinVASiliiV@mail.ru

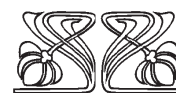
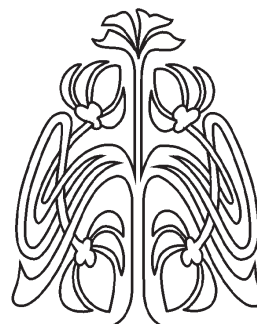
Установлено, что сроки начала летних интенсивных эпизоотий в равнинных природных очагах чумы сусликового типа в Северном, Северо-Западном Прикаспии и Предкавказье совпадают с периодом миграций взрослых малых сусликов на понижения рельефа, строительства защитных нор, формирования микропопуляций блох в временных жилых норах. Обоснованно наличие механизма, не связанного с абсолютными показателями численности блох в шерсти и норах малых сусликов, обуславливающего сезонный характер заражений зверьков на протяжении 30–40 дней (III декада мая – II декада июня) на одних и тех же участках очаговых территорий. Обоснованно, что феномен сезонности, равно как и микроочаговости, проявлений чумы связан, в первую очередь, с заносом чумного микроба в организм блох на различных стадиях их метаморфоза представителями почвенной биоты (паразитическими нематодами, простейшими) на участках, в границах которых эдафические факторы (влажность, наличие органических веществ и др.) наиболее благоприятны для сохранения и воспроизводства чумного микроба.

Ключевые слова: механизм энзоотии чумы, природные очаги чумы сусликового типа, блохи (*Insecta, Siphonaptera*), малый суслик (*Spermophilus pygmaeus* Pallas, 1778), формирование микропопуляций блох, микроочаговость, биопленка чумного микроба, паразитические нематоды.

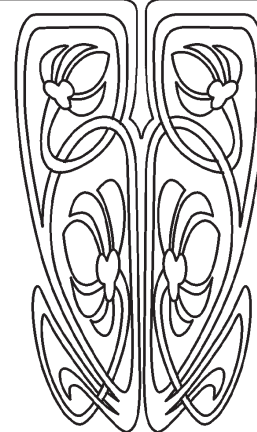
Assessment of Epizootiological Value of Fleas (*Insecta, Siphonaptera*) in the Phenomenon of Seasonal Plague Manifestations in the Steppe Natural Plague Foci of Sousek Type in the Northern, North-Western Pre-Caspian and Pre-Caucasus Regions

N. V. Popov, V. V. Anikin, A. I. Udovikov

It has been determined that timescales of the beginning of summer intensive epizootics in the plain natural plague foci of sousek type in the Northern, North-Western Pre-Caspian and Pre-Caucasus Regions coincide with the period of adult small souseks migration to the landscape lowering, building of protective burrows, and formation of flea micro-populations in them. Substantiated is existence of the mechanism that determines seasonal character of animals infecting during 30–40 days (III decade of May – II decade of June) at the same sites of focal territory. This mechanism is not connected with absolute indices of flea abundance in the hair and burrows



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





of animals. The phenomenon of seasonality and micro-focality of plague manifestations is demonstrated to be associated primarily with plague microbe transfer in the organism of fleas at different stages of their metamorphosis, by the representatives of soil biota (parasitic nematodes and protozoa), at the sites with edaphic factors (humidity, availability of organic substances, etc.) most favorable for preservation and maintenance of plague agent.

Key words: plague enzooty mechanism, natural plague foci of souslik type, fleas (*Insecta, Siphonaptera*), small souslik (*Spermophilus pygmaeus* Pallas, 1778), formation of flea micro-population, micro-focality, plague microbe biofilm, parasitic nematodes.

Введение

Согласно литературным данным [1,2] для равнинных природных очагов чумы сусликового типа, расположенных в зоне сухих степей и полупустынь Северного, Северо-Западного Прикаспия и Предкавказья, характерно наличие двух периодов регистрации зараженных животных. Первый – ранне-весенний, отмечен во время прохождения гона в популяции малого суслика – *Spermophilus pygmaeus* Pallas, 1778; второй – летний, совпадает с расселением его молодняка. Эпизоотии чумы, регистрируемые среди сусликов вскоре после пробуждения, редко обнаруживаются и отличаются низкой интенсивностью [3]. Редкость обнаружения ранне-весенних эпизоотий хорошо согласуется с малой вероятностью переживания зимнего периода зараженными носителями и переносчиками [4, 5]. Летние эпизоотии, напротив, регистрируют на большом числе участков, а интенсивность их бывает очень высока. Механизм возникновения летних эпизоотий вплоть до настоящего времени остается неизученным. Согласно сложившимся в первой половине прошлого столетия представлениям, развитие летних эпизоотий связано с выплодом летних генераций блох вида *Citellophilus tesquorum* Wagner, 1898 и расселением молодняка малого суслика. Однако при очередной активизации природных очагов чумы сусликового типа в Северном и Северо-Западном Прикаспии в 1978–1991 гг. было четко установлено, что сроки начала эпизоотий совпадают с периодом начала миграций взрослых малых сусликов на понижения рельефа, строительства защитных нор, формирования микропопуляций блох в новых гнездах за счет заноса их в шерсть сусликов, пика численности личинок блох и выплодом имаго в временных жилых норах. Для расшифровки этого феномена выполнена оценка эколого-эпизоотологической значимости блох в феномене сезонности проявлений чумы и рассмотрен возможный механизм, обеспечивающий микроочаговый характер ее проявления.

Материал и методы

Работа проводилась на территории Урало-Кушумского междуречья (Республика Казахстан, Уральская область) и западной части Прикаспийской низменности (Республика Калмыкия) в 1978–1991 гг. Наблюдением охвачен весь период активной жизнедеятельности малого суслика (с марта по июль). В анализ включены данные по видовому составу и численности блох по раскопкам 363 нор различного типа, в том числе 275 временных наклонных и 58 гнездовых с вертикальным выходом. Для характеристики многолетней динамики обилия блох малого суслика использовали материалы банка унифицированных данных при ФКУЗ «РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора. В анализ включены данные очеса 224409 экз. малого суслика, 433347 экз. блох шерсти и 217451 экз. блох входов нор, зимовочных и летних гнезд этого грызуна. Обработаны данные по территориям, где в 1978–1989 гг. хотя бы один раз регистрировали зараженных чумой животных. Для установления особенностей динамики численности блох и интенсивности заражения животных использовали относительный показатель – «индекс сезонности», представляющий отношение (в процентах) индекса анализируемого показателя за данную декаду к подекаднему среднему за весь срок наблюдений [6].

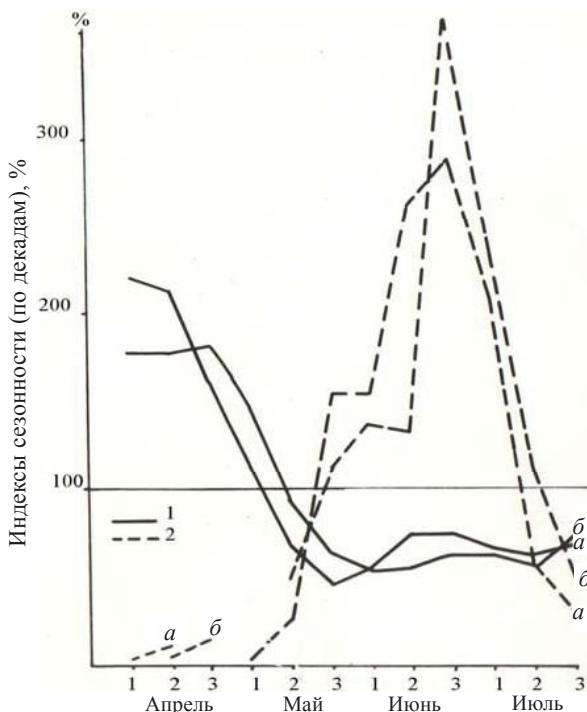
Результаты и их обсуждение

Материалы лабораторных полевых исследований проб полевого материала с территории Волго-Уральского степного и Зауральского степного природных очагов чумы в 1978–1989 гг. показали, что в период гона (апрель) эпизоотии чумы обнаружены на пяти участках. Количество проб с зараженными животными в I–II декадах апреля составляло 0,8–2,0%. Причем все зараженные животные обнаружены на участках, где предыдущим летом имело место развитие эпизоотий чумы. Последнее подтверждает точку зрения о том, что единичные находки зараженных чумой сусликов в период пробуждения и гона зверьков представляют собой «следы» эпизоотий предыдущего года. При этом редкость их обнаружения соответствует данным о вероятности сохранения зараженных блох на прошлогодних эпизоотических участках до весны текущего года. В связи с низкими показателями алиментарной активности блох малого суслика ранней весной, равно как и уровня паразитарного контакта в период пробуждения и гона, ранне-весенние заболевания сусликов не вызывают развития интенсивных эпизоотий и не приводят



к созданию «запаса» зараженных блох. Показательно, что в последующем, в период с 1–20 мая, зарегистрировано только 10 эпизоотических участков, где обнаружены единичные находки зараженных животных, а в период с 20 мая по 20 июня эпизоотии чумы выявлены в 182 местах.

В результате анализа сезонной динамики численности блох в шерсти малых сусликов установлено, что максимальные их значения отмечены в апреле – 4,1–5,2, минимальные – во II–III декадах мая – 0,9–1,2 и в июне – 1,0–1,4. Для суждения об изменениях численности всей популяции блох учитывали индекс приуроченности (долю блох, находящихся в шерсти зверьков). По данным полного облова эпизоотических участков, проведенного в 1981–1987 г., в апреле шерсти находится не более 20% всей популяции блох (индекс приуроченности к хозяину равен – 0,2), а в июне – не менее 70%. Поэтому диапазон сезонных изменений количества блох, приходящихся на одного зверька, значительно больше: в апреле от 20–25 экз.; в июне–июле – до 1,5–2,0 экз. Выполненное сопоставление индексов сезонности обилия блох шерсти зверьков и частоты выявления эпизоотических участков показало, что наибольшая эпизоотическая активность очага совпадает с сезоном наименьшего обилия блох (рисунок).



Динамика декадных индексов сезонности численности блох в шерсти малых сусликов (1-а, б) и числа положительных проб (2-а, б) в апреле–июле 1978–1987 гг. в Волго-Уральском (а) и Зауральском (б) природных очагах чумы

Нами выполнен также и анализ другого аспекта изучаемой связи — оценка приуроченности находок зараженных животных к местам повышенного обилия блох. Результат обработки показал, что эпизоотии чумы регистрировали во всех установленных на эпизоотических участках грациях обилия блох от 0,1–0,5 до 4,1–6,1. Последнее свидетельствует, косвенно, об отсутствии зависимости частоты выявления эпизоотических участков от абсолютных показателей численности блох, т.е. подтверждает отсутствие каких-либо оснований для выделения «предпочтительного» для развития эпизоотий уровня их численности. При этом в период со II декады мая до конца июня в пробах полевого материала отмечен практически одинаковый уровень зараженности малых сусликов (5,3–8,1%). Статистическая проверка отличий от равномерного распределения по критерию Пирсона показала, что сумма квадратов отклонений не превышает половины критического значения, причем как в отдельных группах, так и при суммировании данных по очагам. Последнее однозначно указывает на наличие определенного фактора, не связанного с абсолютными показателями численности блох в шерсти и зимовочных норах малых сусликов, обуславливающего стабильный характер заражений зверьков на протяжении 30–40 дней (III декада мая – II декада июня) на одних и тех же участках территории природных очагов чумы Северного и Северо-Западного Прикаспия.

Крупномасштабная съемка эпизоотических участков [7], а также анализ материалов обследования очагов показали, что находки чумных зверьков и эктопаразитов почти во всех случаях приурочены к понижениям рельефа с мезофильной растительностью, на которых концентрируются малые суслики в период наживровки перед спячкой. Особенно ярко эта особенность пространственной структуры эпизоотий чумы проявляется в тех случаях, когда понижения рельефа (на них обычно строятся колодцы и стоянки животноводов) удалены одно от другого на 2–5 км. В летний период на таких выравненных скотобоем участках, поросших в основном спорышем (*Polygonum aviculare* L.), растительность по сравнению с окружающей территорией выгорает значительно позже. В июне–июле в ландшафте отчетливо выделяются многочисленные «зеленые пятна» растительности, служащие местами концентрации малого суслика в период кормовых миграций. Общим для всех таких «зеленых пятен» является отсутствие на них зимовочных нор и следов активной норовой деятельности в период выхода сусликов из спячки, гона и нача-



ла щенения. Первые свежие выбросы земли на таких участках отмечены в разные годы наблюдения в период 5–13 мая. До конца мая частота посещения пятен быстро нарастает и в конце месяца кормовые миграции сусликов становятся массовыми. Даты регистрации первых культур чумного микроба совпадают, как правило, с началом миграций малых сусликов на «зеленые пятна». Пик миграционной активности малых сусликов наступает в период выхода молодняка и его расселения. При этом в многолетнем аспекте большинство сусликов использует прошлогодние индивидуальные участки. Это свидетельствует в пользу наличия обратных миграций малых сусликов, их привязанности к постоянной норе и индивидуальному участку, консервативности в выборе места залегания. Все это указывает на возможность заражения мигрирующих особей из года в год на одних и тех же местах. В период до начала расселения молодняка основную массу мигрирующих на понижения рельефа малых сусликов составляют кормящие самки (75–85%), которые перед окончанием лактации активно ищут благоприятные для наживки места. Самцы и яловые самки к этому времени уже заканчивают наживку и поэтому менее подвижны.

Кормовые миграции взрослых сусликов на понижения рельефа наиболее выражены в конце

мая – начале июня. Взрослые зверьки расчищают прошлогодние и строят новые наклонные «защитные» норы [8]. В таких «временно жилых норах» наиболее часто регистрируют гнездовой материал, личинок и имаго блох. Заселение нор блохами происходит исключительно за счет заноса их в шерсти хозяев. Относительно высокая температура, связанная с неглубоким залеганием гнезда, и повышенная влажность грунта способствуют ускорению метаморфоза и повышают суточную яйцепродукцию. Кроме того, за счет неоднократной смены хозяев происходит поступление новых экземпляров паразитов. Все это в целом приводит к довольно быстрому формированию микропопуляции блох в новых гнездах за счет заноса их в шерсти сусликов. Показатели численности блох и сроки массового появления их личинок в гнездах временных нор представлено в таблице. Полученные данные однозначно доказывают, что период развития эпизоотий чумы на понижениях рельефа совпадает во времени с пиком численности личинок блох и выплодом имаго в временных жилых норах. По мере роста температуры и снижения влажности почвы в июле эпизоотии чумы среди малых сусликов в полупустынях Северного, Северо-Западного Прикаспия и Предкавказья прекращаются.

Обилие блох в гнездах временных жилых нор на понижениях рельефа на территории Волго-Уральского степного природного очага в 1981–1989 гг.

Месяц	Количество добытых гнезд	Индексы обилия блох			Количество личинок блох
		<i>N. setosa</i>	<i>C. tesquorum</i>	Общий для всех видов блох	
Май	10	7,4	4,1	12,9	200
Июнь	10	8,7	19,7	30,5	1710
Июль	10	4,2	9,2	39,8	870

При рассмотрении непосредственной причины заражений сусликов приходится полностью отклонить предположение о сохранении в зимний и весенний периоды зараженных блох в мелких норах, укрытиях на мезофильных понижениях. Дело в том, что вскоре после залегания сусликов эти норы засыпаются, а после осенних дождей и весеннего таяния снега оказываются заполненными жидкой грязью в смеси с органикой. Выживание блох в таком субстрате исключается. Даже сохранение чумных блох в глубоких постоянных норах маловероятно. Эпизоотические участки, как уже говорилось, локальны (в большинстве случаев – 20–40 га). Поэтому число зараженных блох на участке очень невелико (несколько десятков), причем это насекомые старших физиологических возрастов,

отмирающие вскоре после залегания сусликов.

Подчеркнем, что несмотря на то что на малом суслике и в его норах в Северном, Северо-Западном Прикаспии и в Предкавказье зарегистрировано более 20 видов блох, основу паразитофауны составляют два вида *Neopsylla setosa setosa* Wagner, 1898 и *C. tesquorum* [9]. Причем пик размножения *N. setosa* приходится на время жизни сусликов в выводковых и зимовочных гнездах, совпадая с периодом гона, щенения и, отчасти, выкармливания молодняка. С пробуждением малых сусликов от зимней спячки совпадает выплод основной массы молодых имаго *N. setosa*. Максимальное обилие *Cit. tesquorum* также имеет место весной, сразу после выхода малых сусликов из спячки. Причем в выводковых гнездах отмечается масса личинок всех возра-



тов. Однако этот самый крупный сезонный подъем численности блох в зимовочных гнездах малого суслика не сопровождается ростом зараженных чумой малых сусликов. Этот факт свидетельствует о том, что в развитии эпизоотии определяющую роль играет не только численность эффективных переносчиков чумы. В дальнейшем, вплоть до выплода летних генераций блох вида *C. tesquorum*, численность имаго блох в норах, гнездах и шерсти зверьков уменьшается.

Период устройства новых зимовочных гнезд и залегания в спячку малых сусликов совпадает с годичным минимумом численности имаго паразитирующих на них блох. Основная часть популяции паразитирующих на малых сусликах блох в период залегания малых сусликов в спячку находится на преимагинальных стадиях развития в оставленных зверьками гнездах. Завершение метаморфоза, таким образом, происходит в брошенных гнездах. Сопоставляя данные по возрастному составу популяций основных видов блох в июне (время развития эпизоотии), можно сказать, что шанс дожить до следующей весны имеется всего у 2% *N. setosa* и у 25% *Cit. tesquorum*; остальные (особи IV–VI возрастов) отмирают вскоре после залегания малого суслика в спячку. Заметим, что при принятых методиках определяется не календарный, а физиологический возраст блох, то есть степень изношенности организма. В связи с этим сохранение чумного микроба в блохах малого суслика в течение 9–10 месяцев, т.е. до летних эпизоотий следующего года, маловероятно, так как задолго до их начала немногие жизнеспособные особи, пережившие осень и зиму, либо обретают хозяев в результате активных весенних миграций, либо погибают [10].

Соответственно выполненные ранее оценки вероятной частоты переживания зимнего периода малыми сусликами, зараженными чумой в естественных условиях, равно как и при проведении лабораторных опытов, однозначно свидетельствуют о том, что абсолютное большинство зараженных перезимовавших зверьков погибает в первые дни после пробуждения (в природе это конец февраля–начало марта). Только единичные зараженные особи имеют шанс дожить после пробуждения до конца марта – начала апреля; т.е. до периода, когда начинается интенсивное эпизоотологическое обследование. Все сказанное не позволяет связывать летние эпизоотии с заражением сусликов, имевшим место в предшествующем году или ранней весной. Причем это заключение в равной степени относится как к эпизоотиям на новых участках, так и регистри-

руемым на одном месте несколько лет подряд. Последнее позволяет допускать существование в природе своеобразного механизма, обеспечивающего в многолетнем аспекте эффективное заражение сусликов на одних и тех же участках строго в определенный временной интервал (II декада мая–июнь). Отмеченная выше приуроченность мест регистрации зараженных животных к понижениям рельефа позволяет считать, что отправной точкой отсчета начала действия этого механизма является занос блох *C. tesquorum*, равно как и других фоновых видов, в формирующиеся здесь в период кормовых миграций малых сусликов временные жилые норы. Активная кладка яиц блохами продолжается здесь 20–25 дней. Учитывая, что при температуре 18–24°C развитие блох *C. tesquorum* от яйца до имаго происходит в течение 20–25 дней, можно констатировать, что развитие летних эпизоотий совпадает с периодом выплода имаго блох на понижениях рельефа. В связи с тем что личинки блох, равно как и «не пившие» имаго (с меконием), практически не исследуются на наличие чумного микроба, оценки их эпизоотологической значимости вплоть до настоящего времени не проводилось. Единственный случай регистрации личинок блох вида *Oropsylla silantiewi crassa* Jordan et Rothschild, 1911, зараженных чумой, отмечен на участках стойкого ее проявления в высокогорьях Хангая [11].

Подчеркнем, что на протяжении XX столетия в качестве основного механизма поддержания эпизоотической активности природных очагов чумы в сезонном и многолетнем аспектах рассматривалась трансмиссивная передача возбудителя этой инфекции по цепочке грызун–блоха–грызун [12–14]. Теоретической основой этой гипотезы служат представления об облигатном паразитизме возбудителя чумы и наличия в очагах постоянно текущих эпизоотий. Хотя при этом допускалось временное (в перерывах между эпизоотиями) сохранение возбудителя чумы в объектах внешней среды [15–17]. Факты, полученные в XX столетии при изучении пространственно-временных особенностей проявления чумы, вошли в противоречие с классическими представлениями [18,19]. Вместе с тем, опираясь на огромный фактический материал, полученный при изучении природной очаговости чумы, в 70–90-х гг. прошлого столетия выдвинуто общее положение о наличии в природе механизма «первичных» заражений [20]. Причем среди условий, необходимых для действия такого механизма, рассматривалась возможность существования измененной формы чумного микроба во внеш-



ней среде, независимо от организма носителей. Последнее значительно усилило интерес исследователей к различным модификациям гипотезы «теллурической» чумы, в том числе как к феномену длительного сохранения чумного микроба в почве нор [21–23], либо в продуктах метаболизма носителя или переносчика [24, 25]. Также стали формироваться представления о симбиозе возбудителя чумы с сапрофитной микрофлорой, содержащейся в субстрате нор грызунов [26, 27]. Первые же работы, выполненные по изучению возможности длительного обитания возбудителя чумы в почвенных микроорганизмах, показали перспективность этого направления для объяснения механизма энзоотии чумы [28–30]. Все это в целом послужило косвенным основанием для обоснования гипотезы о том, что чумной микроб может длительно существовать в почве в некультивируемом виде. Однако вплоть до настоящего времени кровососание рассматривается в качестве единственного способа инфицирования блох возбудителем чумы *Yersinia pestis* [31].

В качестве альтернативы обоснована гипотеза о наличии в природе механизма, обеспечивающего автономную передачу чумного микроба из почвенного биоценоза в организм блох на разных стадиях их метаморфоза. При этом новым вкладом в теорию природной очаговости чумы явилось открытие способности чумного микроба к образованию биопленок, представляющих собой сообщества клеток, окруженных внеклеточным матриксом [32, 33]. Биопленка, подобно спорам бактерий, может обеспечивать длительное сохранение чумного микроба во внешней среде [34]. Появление качественно новой информации по экологии чумного микроба создало предпосылки к очередной ревизии сложившихся представлений. В частности, современные данные о биопленках чумного микроба позволили расширить современные представления о феномене образования блока преджелудка блох, играющего «ключевую» роль в классической концепции механизма энзоотии чумы [35, 36]. В качестве первого шага к формированию новых представлений о механизме энзоотии чумы доказано, что в преджелудке блох образуются многочисленные микроколонии чумного микроба, погруженные в органическую полимерную матрицу, которые в последующем служат основой для формирования соответствующих конгломератов в преджелудке («чумной блок») [37, 38] и их сохранения («глыбки») при попадании в среднюю кишку этих насекомых. Также доказано, что ультраструктура конгломератов, регистрируемых в преджелудке и в

средней кишке блох, абсолютно идентична – их основным компонентом являются группы бактерий чумы, окруженные общей экстрацеллюлярной матричной оболочкой. Установление этого факта имеет особое эпизоотологическое значение, так как раскрывает механизм попадания чумного микроба в почву нор грызунов путем выведения из кишечника блох мелких «глыбок» при дефекации и позволяет считать, что именно феномен образования биопленки чумным микробом в организме блох служит основой длительного его сохранения в сухих фекалиях и трупах этих насекомых и в почве нор теплокровных животных.

В связи с тем что формирование биопленок чумного микроба в форме блока преджелудка блох происходит в диапазоне температур от +8 до +26°C, то при повышении температуре (выше +27°C) этот процесс замедляется [39]. Наличие относительно узкого температурного «коридора» для образования биопленок чумного микроба позволяет понять причину четко выраженной сезонности развития эпизоотий чумы в различных ландшафтно-географических зонах и поясах гор [40].

Вторым отправным моментом, косвенно подтверждающим ведущую роль биопленок в механизме энзоотии чумы, служат представления о наличии в природе механизма, обеспечивающего автономную передачу бактерий *Yersinia pestis* из почвенного биоценоза в организм блох [41, 42]. Возможность такой передачи основывается на широко известной способности нематод (*Secernentea, Rhabdidae*) активно проникать в тело насекомых, в том числе блох, наиболее специализированными паразитами, которыми являются аллантонематиды [43]. Личинки нематод, заселяя организм насекомых, вносят в него различные микроорганизмы, в том числе патогенные бактерии [44]. При этом за счет способности чумного микроба образовывать биопленку на внешних и внутренних поверхностях нематод [45] обеспечивается возможность его заноса в организм блох по цепочке: биопленка чумного микроба – личинка нематод – личинка блох – куколка блох – имаго блох. В почве свободноживущие личинки нематод могут поглощать возбудителя чумы при утилизации его биопленок и поедании различных простейших, также способных длительно сохранять чумного микроба [46]. Реализация такой трансларвальной передачи чумного микроба с дальнейшим завершением их онтогенеза и появлением в норах теплокровных животных инфицированных имаго блох позволяет объяснить причину появления



в природных очагах единично зараженных их особей в межэпизоотический период. Этот же механизм объясняет наличие стойких участков проявления чумы, так называемых «микроочагов», в границах которых эдафические факторы (влажность, наличие органических веществ и др.) наиболее благоприятны для сохранения и воспроизводства чумного микроба. Существенно, что экологический оптимум существования в почве личинок нематод и блох, равно как и формирования биопленок чумного микроба, полностью совпадают. Последнее позволяет предполагать, что наблюдаемый в природных очагах «взрывной» сезонный и многолетний характер возникновения эпизоотий чумы происходит за счет одновременного пика численности в почве личинок блох и личинок свободноживущих нематод. При этом нельзя исключать возможность попадания возбудителя чумы в кишечник личинок блох в процессе их питания различными представителями почвенной биоты, в первую очередь простейшими.

Существенно, что для нематод блох характерна определенная очаговость распространения в пределах ареала их основных хозяев, что определяется также почвенными факторами, ограничивающими возможность существования свободноживущих их стадий развития в процессе метаморфоза. В зоне сухих степей и полупустыни лимитирующим фактором их существования является влажность почвы. Именно в связи с этим эпизоотии чумы чаще регистрируются в увлажненных, богатых органикой участках очага (понижения рельефа, приколлодезные «пятна» и др.), оптимально подходящих для обитания свободноживущих нематод, а также служащих местами концентрации сусликов в период весенне-летних засух. Все это в целом хорошо объясняет как выраженную в границах энзоотичной территории микроочаговость чумы [47], так и четко выраженную зависимость эпизоотической активности природных очагов чумы от климатических и эдафических факторов [48]. В межэпизоотические периоды возбудитель чумы, защищенный биопленкой, способен длительно сохраняться в почве, в том числе в простейших и их цистах. Наступление благоприятных условий для воспроизводства (с участием различных представителей почвенной биоты) чумного микроба в форме биопленок может служить пусковым моментом для начала эпизоотий. Именно с этим, с нашей точки зрения, связана не только четко выраженная сезонность эпизоотий, но и выраженная цикличность развития крупных эпизоотических волн [49].

Список литературы

1. Тинкер И. С. Эпизоотология чумы на сусликах. Ростов н/Д : Ростведиздат, 1940. 97 с.
2. Миронов Н. П. Экологические факторы природной очаговости чумы в Северо-Западном Прикаспии : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Ростов н/Д, 1962. 27 с.
3. Шевченко Г. В., Солдаткин И. С., Мастюков М. Л., Агеев В. С., Попов Н. В., Ефимов С. В., Андреева Т. А. Уровень паразитарного контакта в поселениях малого суслика в полупустынях Западного Казахстана // *Паразитология*. 1984. № 6. С. 459–463.
4. Доброхотова Н. Д. Течение чумной инфекции в организме малых сусликов в период зимней спячки : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саратов, 1964. 16 с.
5. Брюханова Л. В. К изучению биологии и экологии блох малого суслика в Предкавказье : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 1973. 18 с.
6. Таршиш М. Г., Константинов В. М. Математические методы в эпизоотологии. М. : Колос, 1975. 174 с.
7. Попов Н. В. Дискретность – основная пространственно-временная особенность проявлений чумы в очагах сусликового типа. Саратов : Изд-во Сарат. ун-та, 2002. 192 с.
8. Гаранин О. А., Попов Н. В., Ефимов С. В., Удовиков А. И. Динамика микробиоценозов нор малого суслика // *Паразитология*. 1992. № 1. С. 13–19.
9. Гаранин О. А., Попов Н. В., Ефимов С. В., Удовиков А. И., Григорьева Г. В. Динамика видового состава нидиколов в различных типах гнезд малого суслика // *Паразитология*. 1995. № 1. С. 37–42.
10. Мьяловская С. А., Пушкарев А. В. Зараженность гнезд блохами в зависимости от использования их малыми сусликами // *Проблемы особо опасных инфекций*. 1973. Вып. 2. С. 70–77.
11. Демидова Е. К., Емельянова Н. Д. Случай выделения микроба чумы от личинок блох *Oropsylla silantiewi* W., инфицированных в естественных условиях // *Докл. Иркут. противочум. ин-та*. 1971. Вып. 9. С. 231–232.
12. Фенюк Б. К. Экологические факторы очаговости чумы грызунов. 1. Эндемия чумы как экологическая проблема // *Вестн. микробиологии, эпидемиологии и паразитологии*. 1944. Вып. 1. С. 40–48.
13. Фенюк Б. К. Экологические факторы очаговости чумы грызунов. 2. Значение второстепенных носителей чумы // *Тр. науч. конф., посвящ. 25-летию юбилею института «Микроб»*. Саратов, 1948. С. 37–50.
14. Павловский Е. Н. Природная очаговость трансмиссивных болезней в связи с ландшафтной эпидемиологией зооантропонозов. М. : Наука, 1964. 190 с.
15. Baltazard M., Karimi J., Eftekhari M. La conservation interepizootique de la peste en foyer inveteré. Hypothèse de travail // *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. 1963. Vol. 56. P. 1230–1241.
16. Karimi J. Conservation naturelle de la peste dans le sol // *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. 1963. Vol. 6. P. 1183–1186.



17. Mollaret H. H. Du bacille de la peste durant 28 mois an terrier artificiel demonstration experimentall de la peste dans ses foyers inveteres // C. R. Academy of Sciences 1968. № 267. P. 972–973.
18. Соколов В. Е., Ротшильд Е. В., Дорожко О. В. Развитие взглядов на природную очаговость болезней и современные проблемы этой концепции // Изв. АН СССР. 1984. Сер. Биол. № 4. С. 485–495.
19. Дятлов И. А. Эволюционные аспекты в природной очаговости чумы. Ставрополь : Ставроп. кн. изд-во, 1989. 198 с.
20. Солдаткин И. С., Иванов В. А. Перспективы изучения природных очагов чумы // Эпидемиология и эпизоотология чумы : сб. ст. Саратов : Изд-во Коммунист, 1980. С. 3–8.
21. Тимофеева Л. А., Головачева В. А. Итоги экспериментального изучения роли почвы в сохранении и передаче чумного микроба // Состояние и перспективы профилактики чумы. Саратов : Изд-во Коммунист, 1978. С. 21–22.
22. Донская Т. Н., Попов Н. В., Бережнов А. З., Топорков В. П., Князева Т. В., Хинц И. В., Донченко Г. Е., Суриков Н. Н. Обнаружение возбудителя чумы в почве нор малого суслика // Эпизоотология и профилактика природноочаговых инфекций : сб. ст. Саратов : Изд-во Коммунист, 1982. С. 6-9.
23. Ayyadurai S., Houhamdi L., Lepidi H., Nappes C., Raoult D., Drancourt M. Long-term persistence of virulent *Yersinia pestis* in soil // Microbiology. 2008. № 154. P. 2865–2871.
24. Кондрашкина К. И., Величко Л. Н. Анабиоз чумного микроба – одна из форм его долговременного существования во внешней среде // Проблемы особо опасных инфекций. 1980. Вып. 2. С. 23–24.
25. Величко Л. Н. Длительное выживание чумного микроба в трупах и экскрементах блох : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саратов, 1981. 20 с.
26. Лавровский А. А., Попов Н. В. Межэпизоотический период как одна из фаз саморазвития экосистемы природного очага чумы // Проблемы особо опасных инфекций. 1978. Вып. 2. С. 5–9.
27. Ларина В. С., Сагимбеков У. А., Айкимбаев А. М., Степенов В. М., Стручкова Э. Н., Узбеков Б. К., Баканурская Т. Л., Соколов П. Н. О возможности длительного сохранения чумного микроба в природе в сложном симбиозе с почвенными микроорганизмами // Материалы обл. науч. конф. Гурьевской ПЧС по профилактике особо опасных инфекций. Гурьев : Изд-во Кайнар, 1989. С. 146–154.
28. Никульшин С. В., Онацкая Т. Г., Луканина Л. М. Изучение ассоциации почвенных амёб *Hartmannella rhyodes* с бактериями – возбудителями чумы и псевдотуберкулеза в эксперименте // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1992. № 9–10. С. 2–4.
29. Пушкарёва В. И. *Salmonella tythimurium* и *Yersinia pestis* (EV) в ассоциации с простейшими: сохранение покоящихся бактерий в цистах // Материалы VIII съезда Всерос. о-ва эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. М., 2002. Т. 1. С. 232–233.
30. Литвин В. Ю. Сапронозные аспекты энзоотии чумы // Успехи современной биологии. 2003. № 6. С. 543–552.
31. Ваценок В. С. Блохи (Siphonaptera) – переносчики возбудителей болезней человека и животных. Л. : Наука, 1988. 163 с.
32. Darby G., Hsu J. W., Ghory N., Falkow S. Plaque bacteria biofilm blocks food intake // Nature. 2002. № 417. P. 243.
33. Darby C., Chakraborti A., Politz S. M., Daniels C. C., Li Tan, Drace K. *Caenorhabditis elegans* Mutants Resistant To Attachment of *Yersinia* Biofilms // J. of Genetics. 2007. № 176. P. 221–230.
34. Hall-Stoodley L., Costerton J. W., Stoodley P. Bacterial biofilms : from the natural environment to infectious diseases // National Rev. for Microbiol. 2004. Vol. 2. P. 95–108.
35. Бибикова В. А., Классовский Л. Н. Передача чумы блохами. М. : Медицина, 1972. 188 с.
36. Кутырев В. В., Коннов Н. П., Волков Ю. П. Возбудитель чумы : ультраструктура и локализация в переносчике. М. : Медицина, 2007. 224 с.
37. Коннов Н. П., Попов Н. В., Величко Л. Н., Князева Т. В. Феномен образования биопленок *Yersinia pestis* в организме блох // Паразитология. 2009. № 4. С. 330–337.
38. Jarret C. O., Deak E., Ishewood K. E., Oyston P. C., Fischer E. R., Whitney A. R., Kobayashi S. D., DeLeo F. R., Hinnebush B. I. Transmission of *Yersinia pestis* from an infections biofilm in the flea vector // J. of infections Dease. 2004. № 190. С. 783–792.
39. Eisen R. G., Gage K. L. Adaptive strategies of *Yersinia pestis* to persist during inter-epizootic and epizootic periods // Veterinary Research. 2009. Vol. 2. P. 107–121.
40. Попов Н. В., Слудский А. А., Удовиков А. И., Коннов Н. П., Караваева Т. Б., Храмов В. Н. Оценка роли биоплёнок *Yersinia pestis* в механизме энзоотии чумы // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2008. № 4. С. 118–120.
41. Попов Н. В., Слудский А. А., Удовиков А. И., Анкин В. В., Яковлев С. А., Караваева Т. Б. К роли нематод [*Secernentea*, *Rhabdidae*] – паразитов блох в энзоотии чумы // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье. Саратов : Изд-во Сарат. ун-та, 2006. Вып. 5. С. 88–93.
42. Kutyrev V. V., Eroshenko G. A., Popov N. V., Vidyayeva N. A., Konnov N. P. Molecular mechanisms of interactions of plague causative agents with invertebrates // Molecular Genetics, Microbiology and Virology. 2009. Vol. 4. P. 169–176.
43. Рубцов И. А. Паразиты и враги блох. Л. : Наука. Ленингр. отд-ние, 1981. 99 с.
44. Adams B. J., Fodor A., Koppenhöfer H. S., Stackebrandt E., Stock S. P., Klein M. G. Biodiversity and systematics of nematode–bacterium entomopathogens // Biological Control. 2006. Vol. 37. P. 32–49.
45. Styer K. L., Hopkins G. W., Bartra S. S., Plano G. V., Frothingham R., Aballay A. *Yersinia pestis* kills *Caenorhabditis elegans* by a biofilm-independent process that involves novel virulence factors // EMBO Reports. 2005. № 6. P. 992–997.



46. Бухарин О. В., Гинцбург А. Л., Романова Ю. М., Эль-Регистан Г. И. Механизм выживания бактерий. М.: Медицина, 2005. 367 с.
47. Акиев А. К. О микроочаговости чумы диких грызунов // Природная очаговость, микробиология и профилактика зоонозов : сб. ст. Саратов : Изд-во Коммунист, 1989. С. 53–60.
48. Удовиков А. И. Динамика эпизоотической активности природных очагов европейского юго-востока

России : прогноз на начало XXI столетия : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Саратов, 2010. 46 с.

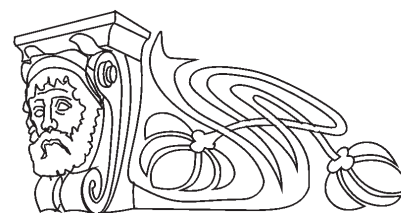
49. Попов Н. В., Аникин В. В., Удовиков А. Н. Оценка численности блох (Insecta, Siphonaptera) в период развития эпизоотий чумы в степных природных очагах сусликового типа Северного и Северо-Западного Прикаспия и Предкавказья // Тр. Рус. энтомол. о-ва. СПб., 2014. Т. 85 (2). С. 47–52.

УДК 582.675:581.143.6

КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ПИОНА ТОНКОЛИСТНОГО (*PAEONIA TENUIFOLIA* L.)

Т. А. Крицкая, А. С. Кашин

Учебно-научный центр «Ботанический сад»
Саратовского государственного университета
E-mail: kriczkaya.tatyana@mail.ru, kashinas2@yandex.ru



В работе представлены литературные данные и результаты оригинальных исследований по проблеме клонального микроразмножения пиона тонколистного (*Paeonia tenuifolia* L.) – одного из наиболее декоративных и нуждающихся в охране видов региона. Рассмотрены основные этапы клонального микроразмножения пиона. В результате анализа обширного материала, касающегося рода *Paeonia* в целом, составлена эффективная схема клонального микроразмножения *P. tenuifolia*, включающая: эмбриокультуру на начальном этапе; микроразмножение на питательной среде WPM с удвоенной концентрацией CaCl_2 , БАП (1.0 мг/л) и кинетин (0.5 мг/л); укоренение, достигаемое за счёт последовательной смены питательной среды с ИМК (1.0 мг/л) на среду без регуляторов роста при пониженной температуре; адаптацию к нестерильным условиям на субстрате, состоящем из вермикулита. Метод может быть использован для массового получения посадочного материала в целях восстановления численности популяций данного вида и зелёного строительства.

Ключевые слова: *Paeonia tenuifolia*, Paeoniaceae, клональное микроразмножение.

Clonal Micropropagation of *Paeonia tenuifolia* L.

Т. А. Kriticakia, А. S. Kashin

Paeonia tenuifolia is one of the most attractive and needy of protection species among endangered plants of Saratov region. Modern methods of biotechnology, in some case plant clonal micropropagation, are increase efficiency of secured plant species propagation ex situ. There is a review the progress made in peony micropropagation and it is present short applicatory observations. Comprehensive references about *Paeonia* species in the whole were analyzed. An effective record of *P. tenuifolia* clonal micropropagation was composed. It is including follow steps: embryoculture on the first step; propagation on WPM media with double quantity of CaCl_2 and supplemented BAP

(1.0 мг/л) and kinetin (0.5 мг/л); rooting by consecutive replacement of plantlets from media with IBA (1.0 мг/л) to hormone-free media at reduced temperature; acclimatization to non-sterile conditions on substrate, composed of vermiculite. A method may be used for mass obtaining of planting stock and laying out of parks.

Key words: *Paeonia tenuifolia*, Paeoniaceae, clonal micropropagation.

Введение

Пион тонколистный (*Paeonia tenuifolia* L.) – травянистый многолетник до 50 см высотой с клубневидными утолщениями на корневищах. Листья дважды-триждытройчатые или тройчато-перистые, первичные сегменты их рассечены на многочисленные линейные доли (более 40 шт.) до 5 мм шириной. Венчик тёмно-красный или тёмно-пурпуровый, до 8 см диаметром. Плод – многолистовка из 1–5, чаще 3 листовок. Цветёт в апреле – начале мая. Размножение семенное и вегетативное [1].

P. tenuifolia указан со статусом и категорией «2б» – вид, сокращающийся в численности – в Красной книге Российской Федерации [2], и со статусом «2(V)» – уязвимый вид – в Красной книге Саратовской области [3]. Он также входит в список особо охраняемых растений Европы [4]. Редкость вида определяется разрушением степей в результате рекреационной нагрузки, массовым сбором населением на букеты и выкапыванием корневищ [2, 3].

Согласно литературным данным и гербарным образцам фондов SARAT и SARBG в Саратовской области *P. tenuifolia* отмечался в Ат-



карском, Балашовском, Вольском, Калининском, Красноармейском, Хвалынском, Саратовском, Татищевском и др. районах [3, 5]. Обитает на остепнённых лугах, ковыльно-разнотравных степях, опушках светлых дубовых лесов, в зарослях кустарников, на склонах балок. Светолюбив. Не выносит переувлажнённых почв и застоя воды. Является факультативным кальцефилом [1, 3].

Особенностью *P. tenuifolia* является длительное прорастание семян (более двух лет) и медленное развитие проростков [1, 6, 7]. Поэтому растения, культивируемые в ботанических садах, размножают преимущественно частями корневища. Наиболее быстрым и современным методом массового получения посадочного материала декоративных культур является клональное микроразмножение растительного материала [8]. За последние годы эффективные биотехнологии были разработаны для целого ряда видов и сортов травянистых [9–19] и древовидных пионов [20–28]. Однако сведения по особенностям культивирования *P. tenuifolia in vitro* фрагментарны и не охватывают рассматриваемую проблему в полной мере.

Цель данной работы – обобщить имеющиеся литературные данные, касающиеся клонального микроразмножения *P. tenuifolia*, подтвердить и уточнить их экспериментальными данными.

Выбор экспланта

В качестве первичных эксплантов для введения в культуру *in vitro* могут быть использованы любые части растения: корневые почки, пазушные почки в основании побегов, основания черешков, междоузлия, фрагменты листьев с главной жилкой, цветочные почки, цветоложе, основания лепестков и чашелистиков, плодolistики, пестики и тычинки, зрелые и незрелые зародыши. Выбор экспланта определяется, главным образом, целями и задачами исследования.

J. A. T. Buchheim и J. M. M. Meyer [29] использовали в качестве первичных эксплантов *P. lactiflora* цветочные почки, цветоложе, черешки и сегменты стебля. Из формировавшегося каллуса в последующем регенерировали почки и эмбриониды. В работе Q. R. Zhang et al. [16] был индуцирован каллус из листьев, побегов и черешков травянистых пионов, но адвентивных побегов из субкультивированного каллуса получено не было. В исследованиях Y. Li et al. [22] побеги регенерировали из каллуса, образованного пазушными почками и черешками *P. suffruticosa*. H. Wangl и J. van Staden [27] использовали листья, почки, корни и семена *P. suffruticosa* сортов ‘Cai Lan’, ‘Xue Li Zi Yu’, ‘Zi Xia

Lin’ и ‘Fengdanbai’ с целью выбора наилучшего экспланта и эффективной схемы стерилизации. Введение в культуру *in vitro* сегментов побегов с почками *P. suffruticosa* сортов ‘Владимир Новиков’, ‘Коралл’, ‘Куинджи’ и ‘Николай Вавилов’ было осуществлено А. А. Криницыной с соавт. [20]. В работе T. Orlikowska et al. [15] была достигнута прямая регенерация *P. mlokosewitschii* и *P. tenuifolia* из вегетативных почек, жилок листа, оснований черешков и лепестков. Однако количество жизнеспособных эксплантов при этом не превысило 10%, а длительность культивирования от введения в культуру до получения полноценных растений-регенерантов составила 1.5 года. X. N. Yu et al. [30, 31] была получена прямая регенерация микропобегов *P. lactiflora* из подземных почек. В работе А. А. Зариповой [9] в качестве эксплантов использовали боковые почки, изолированные с побега *P. anomala* в период его внутрипочечного роста. Автором была показана зависимость морфофизиологической активности боковых почек *P. anomala* в культуре *in vitro* от места их расположения на побеге и срока изоляции экспланта.

Согласно правилам сбора редких и находящихся под угрозой исчезновения видов растений для ботанических садов, предпочтительным материалом для изъятия из природных популяций, с целью сохранения вида *ex situ*, являются семена [32]. Они обеспечивают максимальный охват существующей генотипической изменчивости в популяциях.

Семена рода *Paeonia* имеют простой глубокий морфофизиологический покой, и для его снятия используется двухэтапная стратификация – теплая (для доразвития зародыша) и холодная (для снятия физиологического механизма торможения прорастания) [33, 34]. Культура *in vitro* семян и зародышей представителей рода *Paeonia* была объектом исследования ряда отечественных исследователей [6, 7, 35]. В частности, для *P. tenuifolia* было установлено, что необходимым условием нарушения физиологического покоя является холодная стратификация [35]. Недостаточный период холодной стратификации приводил к появлению физиологической карликовости проростков всех рассмотренных объектов *Paeonia*. Для тёплой стратификации (5 недель) автор рекомендует использовать безгормональную питательную среду, в течение холодной стратификации (не менее 8 недель) – питательную среду с добавлением гибберелловой кислоты (ГК) в концентрации 0.1–1.0 мг/л.

Учитывая вышеизложенное, для введения в культуру *in vitro* *P. tenuifolia*, произрастающего



на территории Саратовской области, мы использовали зрелые семена. Сбор производили из двух природных популяций на территории Национального парка «Хвалынский» с 30 произвольно выбранных растений. До начала экспериментов семена хранили в бумажных конвертах при комнатной температуре. Перед посадкой на питательную среду семена подвергали ступенчатой стерилизации согласно общепринятым методикам [8]. После этого семена помещали на безгормональную среду по прописи Мурасиге и Скуга (МС) [36] в условиях ламинарного бокса и оставляли на время тёплой стратификации. Затем из семян вычленили сформированные зародыши и переносили на питательную среду МС с добавлением 0.5 мг/л ГК.

Зародыши экспонировали в холодильной камере при температуре $+5\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 8 недель.

После холодной стратификации пробирки переносили в ростовую комнату с 16-часовым световым периодом и температурой $+25^\circ\text{C}$.

В результате вычлененные зародыши развивались в полноценные проростки без каких-либо аномалий, а после перенесения в стандартные условия приобретали зелёный цвет и продолжали своё развитие (рис. 1).



Рис. 1. Проростки *P. tenuifolia* после 8 недель холодной стратификации

Минеральный состав питательной среды

В работах как отечественных, так и зарубежных авторов [9, 20, 24, 25, 27, 28, 37, 38 и др.] указываются два минеральных состава, рекомендованных для культивирования *in vitro* представителей рода *Paeonia* в целом, – МС и WPM [39]. В частности, для *P. tenuifolia* и *P. mlokosewitschii* рекомендовано использовать

МС с удвоенной концентрацией CaCl_2 и MgSO_4 [15]. Однако большинством авторов была показана необходимость увеличения концентрации только CaCl_2 . Так, Н. Wangl и J. van Staden [27] наглядно продемонстрировали влияние ионов кальция на жизнеспособность эксплантов сортовых карликовых древовидных пионов. Показано, что листья, почки и зародыши, введённые в культуру *in vitro*, гибли на питательной среде МС и $\frac{1}{2}\text{МС}$. Они выживали на среде WPM, но позднее у объектов при культивировании на этой среде развивались характерные признаки дефицита кальция. Эти признаки устранялись при удвоении концентрации CaCl_2 в питательной среде. Через 15 суток после пересадки на модифицированную таким образом среду хлороз исчезал и появлялись почки.

Исключение составили работы по эмбриокультуре различных видов пионов. Например, для культивирования зародышей *P. tenuifolia* рекомендована питательная среда с минеральным составом МС со стандартным набором солей [35]. Сходные результаты получены и для *P. anomala* [7]. В последней из упомянутых работ лучшие результаты получены на среде МС с половинной концентрацией всех компонентов.

Полученные нами результаты по культуре *P. tenuifolia* согласуются с данными других исследователей. Было отмечено, что для культивирования зародышей достаточно стандартной среды МС. Однако для дальнейшего развития и формирования микропобегов необходима удвоенная концентрация CaCl_2 в среде того же основного состава. В частности, при субкультивировании эксплантов *P. tenuifolia* на стандартной среде МС или WPM растения прекращали свой рост и развитие, морфогенез полностью останавливался, а все побеги постепенно становились коричневыми. После пересадки на питательную среду с двойной концентрацией CaCl_2 растения снова приобретали зелёную окраску и формировали почки.

Микроразмножение

Все работы, касающиеся массового получения микропобегов у представителей рода *Paeonia*, можно разделить условно на две большие группы: с использованием непрямого и прямого органогенеза. В первом случае морфогенезу предшествуют дедифференциация и каллусогенез, во втором происходит активация пазушных меристем. Известно, что меристематические ткани растений являются наиболее предпочтительными объектами для клонального микроразмножения, так как они устойчивы к генетическим изменениям и остаются стабильными в течение множественных субкультивирований [8].



Большое внимание исследователей было уделено работам по непрямому органогенезу у представителей рода *Paeonia*, но результаты были неудовлетворительными [10, 16, 40]. Согласно полученным в последнее время результатам, только произведенный гипокотилем каллус может успешно давать адвентивные побеги, но при низком темпе регенерации (7.95%) [28].

У травянистых пионов *P. albiflora* [13], *P. anomala* [12], *P. mlokosewitschii* и *P. tenuifolia* [15] был индуцирован соматический эмбриогенез.

Прямой органогенез в культуре *in vitro* как травянистых [11, 14, 31], так и древовидных пионов [20, 24, 26] использовался чаще. Было опубликовано много работ, сообщающих об активации пазушных побегов на средах, содержащих различные фитогормоны и их сочетания. Т. Hosoki et al. [11] использовали 6-бензиламинопури (БАП) (0.5 мг/л) и ГК (1.0 мг/л) для размножения травянистых пионов сорта 'Takinooyosooi' и 'Sarah Bernhardt'. Их сочетание способствовало формированию и росту пазушных почек. X. N. Yu et al. [30] отобрали оптимальную инициальную среду для введения эксплантов травянистых пионов 'Zhong Sheng Fen', в качестве которой была использована половинная среда МС с удвоенной концентрацией CaCl_2 , дополненная 1.0 мг/л БАП и 0.3 мг/л ГК. H. J. Wu et al. [19] показали, что сочетание 1 мг/л БАП + 0.5 мг/л ГК + 0.1 мг/л 3-индолил уксусной кислоты (ИУК) оказывает позитивный эффект на инициальную культуру. В работе E. Gabryszewska [14] было установлено, что комбинация БАП (2.0 мг/л) и тидиазурона (ТДЗ) (0.2 мг/л) не увеличивают темп микроразмножения травянистого пиона сорта 'Jadwiga', хотя комбинация различных цитокининов стимулирует развитие пазушных почек. L. Bouza et al. [24, 25] изучали эффект различных цитокининов (БАП, зеатин, 2-изопентиладенин) и других регуляторов роста на микроразмножение *Paeonia suffruticosa* Andr. cv. 'Mme de Vatry'. Из всех апробированных цитокининов только БАП в концентрации 1.1 мг/л способствовал развитию пазушных почек. X. S. Kong и M. X. Zhang [26] выявили, что добавление ауксина (0.1 мг/л α -нафтил уксусной кислоты (НУК) или ИУК) в среду, содержащую 1.0 мг/л БАП, увеличивало количество микропобегов, но стимулировало образование каллуса, который не способствовал росту побегов *P. suffruticosa* сорта 'Luo Yang Hong' и 'Yao Huang'. В исследовании X. N. Yu et al. [31] пазушные побеги *P. lactiflora* сорта 'Da Fu Gui' успешно регенерировали на половинной среде МС с 1.0 мг/л БАП и 0.5 мг/л кинетина. Добавление 0.1 мг/л 3-индолил масля-

ной кислоты (ИМК) или ИУК в среду уменьшало число пазушных побегов. Для дальнейшего поддержания культуры авторы рекомендуют снижать концентрации БАП и кинетина до 0.5 мг/л и 0.3 мг/л соответственно, а в жаркие летние месяцы – не добавлять регуляторы роста совсем во избежание оводнения культуры.

Для активации пазушных меристем в культуре *in vitro* *P. tenuifolia* нами были апробированы различные сочетания фитогормонов, рекомендованные вышеперечисленными исследователями. Все питательные среды доводили до pH = 5.8–6.1 и автоклавировали при 121°C в течение 20 минут. Наиболее воспроизводимым и достаточным оказалось сочетание 1.0 мг/л БАП и 0.5 мг/л кинетина, использованное X. N. Yu et al. [31] для получения микропобегов *P. lactiflora*. Коэффициент размножения составил 10.5 ± 1.0 микропобегов на эксплант в первом и втором пассаже и 5.2 ± 1.2 – в последующих субкультивированиях. Однако, как было указано ранее, морфогенетический потенциал эксплантов *P. tenuifolia* реализовывался только при наличии двойной концентрации CaCl_2 в питательной среде (рис. 2). Длительность одного пассажа составила от 21 до 35 суток.



Рис. 2. Микропобеги *P. tenuifolia* на питательной среде WPM с БАП 1.0 мг/л + кинетин 0.5 мг/л (2-й пассаж, 30-е сутки культивирования)

Укоренение и адаптация *ex vitro*

Как следует из литературы, укоренение как травянистых, так и древовидных видов пионов осуществляли по общей схеме. Сначала полученные на этапе микроразмножения побеги помещали на питательную среду с уменьшенной в два раза концентрацией минеральных солей и с



добавлением ауксинов (чаще всего ИМК), чтобы индуцировать корнеобразование. Затем материал переносили на безгормональную среду, содержащую 0.2–0.3% активированного угля, для роста и развития корней [20, 23, 31].

В работе X. N. Yu et al. [31] было показано, что ИМК 1.0 мг/л в сочетании с путресцином 2.0 мг/л успешно индуцировали ризогенез. При этом побеги *P. lactiflora* выдерживали 20 суток на среде с ауксинами, после чего переносили на среду без регуляторов роста. Для укоренения *P. suffruticosa* было рекомендовано помещать черенки в темноту на 14 суток на этапе индукции корнеобразования и снижать температуру культивирования до 18°C в течение всего этапа ризогенеза [20]. При этом развитие корней начиналось через 5–12 недель.

Полученные нами результаты относительно *P. tenuifolia* полностью согласовываются с литературными данными. Культивирование эксплантов на среде, дополненной ИМК 1.0 мг/л, в течение 14–20 суток с последующей пересадкой на безгормональную питательную среду способствовало укоренению побегов (рис. 3, а). У части эксплантов (10–20%) ризогенез отмечался уже на первом этапе экспонирования. Нами также было подтверждено, что на этапе укоренения важную роль играет температурный режим. Так, регенеранты, образовавшие корни при пониженной температуре, характеризовались лучшей приживаемостью (до 80%) на последующем этапе адаптации *ex vitro* по сравнению с растениями, культивируемыми в стандартных условиях (менее 20%).



Рис. 3. Укоренённые микропобеги *P. tenuifolia ex vitro* (а) и адаптированные к нестерильным условиям регенеранты (б) (через месяц после высадки)

Как следует из литературы, адаптацию укорененных побегов представителей рода *Raemonia* также осуществляют по общепринятым методикам [8]. Растения извлекают из питательной среды, промывают дистиллированной водой и высаживают в почвенный субстрат под полиэтиленовую плёнку либо помещают в климатическую камеру с регулируемым уровнем влажности воздуха. В качестве субстрата используют смесь торфа с кварцевым песком и керамзитом, в качестве комплексного удобрения – раствор макро- и микросолей для среды WPM

[20]. Показано, что очень важно не допускать чрезмерного переувлажнения субстрата и застоя воды в поддоне.

Результаты, касающиеся адаптации *P. tenuifolia*, лишь частично не совпадают с литературными данными по *P. suffruticosa*. При использовании торфяного субстрата наблюдали массовую гибель регенерантов. Высокая приживаемость растений (до 80%) была отмечена на субстрате из чистого вермикулита, пропитанного раствором макро- и микросолей для среды WPM (рис. 3, б).



Заключение

В настоящее время *P. tenuifolia* успешно культивируется на участке открытого грунта в коллекции двудольных растений и в коллекции *in vitro* редких и исчезающих видов растений Саратовской области в учебно-научном центре «Ботанический сад» Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. Активно разрабатываются методики длительного депонирования и сохранения вида в генетическом банке *in vitro*. Применение методов клонального микроразмножения растений позволяет значительно сократить трудовые и временные затраты на получение регенерантов *P. tenuifolia*, что может быть использовано для массового получения посадочного материала в целях восстановления численности популяций данного вида и зелёного строительства.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках базовой части государственного задания в сфере научной деятельности (задание № 2014/203, код проекта 1287).

Список литературы

1. Крупкина Л. И. Род Пион – *Paeonia* L. // Флора Восточной Европы. Т. 9 / отв. ред. Н. Н. Цвелев. СПб. : Мир и семья-95, 1996. С. 171–173.
2. Попов К. П., Успенская М. С., Тихомиров В. Н. *Paeonia tenuifolia* L. // Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / гл. редкол. Ю. П. Трутнев и др. М. : Т-во науч. изд. КМК, 2008. С. 427–428.
3. Буланая М. В. *Paeonia tenuifolia* L. // Красная книга Саратовской области : Грибы. Лишайники. Растения. Животные / Комитет охраны окружающей среды и природных ресурсов Саратов. обл. Саратов : Изд-во Торг.-пром. палаты Саратов. обл., 2006. С. 131.
4. Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats. Bern, 1979. App. 1.
5. Серова Л. А., Березуцкий М. А. Растения национального парка «Хвалынский» (Конспект флоры). Саратов : Науч. кн., 2008. 194 с.
6. Брюхин В. Б. Развитие зародыша пиона *in vivo* и *in vitro* : автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 1993. 21 с.
7. Зарипова А. А., Шаяхметов И. Ф., Байбурина Р. К. Культура зародышей *Paeonia anomala* L. (Paeoniaceae) // Вестн. Башкир. ун-та. 2007. Т. 12, № 4. С. 36–37.
8. Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе : учеб. пособие. М. : ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.
9. Зарипова А. А. Начальные этапы клонального микроразмножения пиона уклоняющегося боковыми почками // Вестн. Оренбург. гос. ун-та, 2009. № 6. С. 140–142.
10. Radtke G. W. Tissue culture of herbaceous peonies // Amer. Peony Society Bul. 1983. Vol. 246. P. 19–23.
11. Hosoki T., Ando M., Kubara T., Hamada M., Itami M. *In vitro* propagation of herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) by a longitudinal shoot-split method // Plant Cell Reports. Springer, 1989. Vol. 8. P. 243–246.
12. Brukhin V. B., Batygina T. B. Embryo culture and somatic embryogenesis in culture of *Paeonia anomala* // Phytomorphology. 1994. Vol. 44. P. 151–157.
13. Kim Y. S., Lee B. K. Effects of plant growth regulators and culture temperature on embryo culture of *Paeonia albiflora* // J. of the Korean Society for Horticultural Science. 1995. Vol. 36. P. 255–262.
14. Gabryszewska E. The influence of cytokinins, thidiazuron, paclobutrazol and red light on shoot proliferation of herbaceous peony cv. 'Jadwiga' *in vitro* // J. of Fruit and Ornamental Plant Research. Poland : Institute of Pomology and Floriculture. 1998. Vol. 6. P. 157–169.
15. Orilikowska T., Marasek A., Kucharska D. Regeneration of *Paeonia mlokosewitschii* Lom. and *P. tenuifolia* L. *in vitro* from different explants // Acta Societatis Botanicorum Poloniae. 1998. Vol. 67. P. 223–227.
16. Zhang Q. R., Sun J. Z., Ren N. H., Dong X. Y., Liu Z. M., Zhai M. Tissue culture of *Paeonia lactiflora* Pall. // J. of Henan Agricultural Sciences. 2006. Vol. 24. P. 88–90.
17. Zhang Q. R., Yang Q. S., Li Y. H. Effect of different plant growth regulators on the tissue culture of *Paeonia lactiflora* Pall. // J. of Henan Agricultural University. 2007. Vol. 41. P. 25–28.
18. Tian D., Tilt K. M., Dane F., Woods F. M., Sibley J. L. Comparison of shoot induction ability of different explants in herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) // Scientia Horticulturae. Elsevier, 2010. Vol. 23. P. 385–389.
19. Wu H. J., Yu X. N., Teixeira da Silva J. A., Lu G. P. Direct shoot induction of *Paeonia lactiflora* 'Zhong Sheng Fen' and rejuvenation of hyperhydric shoots // New Zealand J. of Crop and Horticultural Science. 2011. Vol. 1. P. 1–8.
20. Криницына А. А., Мурашев В. В., Успенская М. С. Микрклональное размножение *Paeonia suffruticosa* Andr. с целью интродукции в урбанитоценозы // Вестн. ИРГСАХА. 2011. Т. 44, № 2. С. 82–89.
21. Gildow F. E., Mitchell J. P. Initiation, growth and nuclear characteristics of tissue cultures of *Paeonia suffruticosa* // Physiol. Plant. 1977. Vol. 58. P. 790–795.
22. Li Y., Wu D., Pan S., Xu S., Wei Z., Xu Z., Li X. *In vitro* propagation of *Paeonia suffruticosa* // Kexue Tongbao. Chinese Science Bulletin. 1984. Vol. 29. P. 1675–1678.
23. Harris R. A., Mantell S. H. Effects of stage II subculture durations on the multiplication rate and rooting capacity of micro-propagated shoots of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) // J. of Horticultural Science & Biotechnology. Scotland : the James Hutton Institute, 1991. Vol. 66. P. 95–102.
24. Bouza L., Jacques M., Miginiac E. *In vitro* propagation of *Paeonia suffruticosa* Andr. cv. 'Mme de Vatry': developmental effects of exogenous hormones during the multiplication phase // Scientia Horticulturae. Elsevier, 1994. Vol. 57. P. 241–251.



25. Bouza L, Jacques M., Miginiac E. Requirements for *in vitro* rooting of *Paeonia suffruticosa* Andr. cv. 'Mme de Vetry' // *Scientia Horticulturae*. Elsevier. 1994. Vol. 58. P. 223–233.
26. Kong X. S., Zhang M. X. Fast propagation of tree peony // *Northwest Hort*. 1998. Vol. 3(4). P. 87–89.
27. Wangl H., Staden van J. Establishment of *in vitro* cultures of tree peonies // *South African J. of Botany*. 2001. Vol. 67. P. 358–361.
28. Wang H. Y., He S. L., Tanaka M., Pham T. V., Teixeira da Silva J. A. Effects of 2,4-D on callus formation in tree peony (*Paeonia suffruticosa*) under different light conditions and light quality // *Floriculture Ornamental Biotech*. 2010. Vol. 4 (Special Iss. 1). P. 99–102.
29. Buchheim J. A. T., Meyer Jr. M. M. Micropropagation of peony (*Paeonia* spp.) // *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Springer, 1992. Vol. 20, № 4. P. 269–285.
30. Yu X. N., Wu H. J., Cheng F. Y., Teixeira da Silva J. A., Shen M. M. Studies on multiple shoot induction and proliferation of *Paeonia lactiflora* Pall. 'Zhong Sheng Fen' // *Propagation of Ornamental Plants*. 2011. Vol. 11(3). P. 144–148.
31. Yu X. N., Wu H. J., Teixeira da Silva J. A., Shen M. M. Multiple shoot induction and rooting of *Paeonia lactiflora* 'Da Fu Gui' // *African J. of Biotechnology*. 2012. Vol. 11(41). P. 9776–9781.
32. Горбунов Ю. Н., Дзыбов Д. С., Кузьмин З. Е., Смирнов И. А. Методические рекомендации по реинтродукции редких и исчезающих видов растений (для ботанических садов). Тула : Гриф и К, 2008. 56 с.
33. Николаева М. Г. Справочник по проращиванию покоящихся семян. Л. : Наука, 1985. 347 с.
34. Николаева М. Г., Лянгузова И. В., Поздова Л. М. Биология семян. СПб. : Бот. ин-т им. В. Л. Комарова РАН, 1999. 232 с.
35. Ветчинкина Е. М. Биологические особенности культивирования *in vitro* семян и зародышей редких видов растений : автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2010. 22 с.
36. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15, № 13. P. 473–497.
37. Ikuta A., Kamiya K., Satake T., Saiki Y. Triterpenoids from callus tissue cultures of *Paeonia* species // *Phytochemistry*. Elsevier, 1995. Vol. 38. P. 1203–1207.
38. Wang J. F., Li Q., Meng H. Induction and regeneration of callus tissues in five peony cultivars // *J. of Beijing Forestry University*. 2010. Vol. 32. P. 213–216.
39. Lloud G., Mc Cown B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture // *Proc. Intern. Plant Propagators' Society*. 1980. Vol. 30. P. 420–427.
40. Meyer M. M. Culture of *Paeonia* callus by tissue culture techniques. // *Amer. Peony Society Bul.* 1976. Vol. 218. P. 27–29.

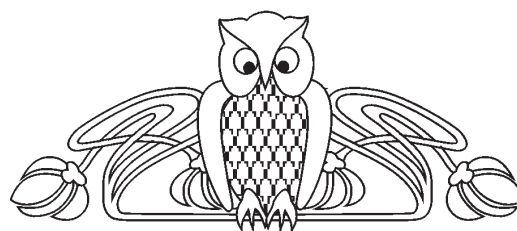
УДК 579.835: 577.114.083: 577.114.4: 577.114.7: 577.118

БИОСОРБЦИЯ Cu(II) ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОМ *ENTEROBACTER CLOACAE* K7

А. А. Нешко, В. С. Гринёв, Е. В. Крючкова,
Ю. П. Федоненко, Е. В. Любунь, О. В. Турковская

Институт биохимии и физиологии растений
и микроорганизмов РАН, Саратов
E-mail: aansanura@rambler.ru

Выделен и охарактеризован экстраклеточный полисахарид (ЭПС), продуцируемый грамотрицательными непатогенными ризосферными бактериями *Enterobacter cloacae* K7. Исследован процесс биосорбции катионов Cu(II) из водного раствора полученным экзополисахаридом. Максимальная сорбционная способность биосорбента составила 0.17 мМ мг⁻¹ ЭПС или 12 г меди на 1 г ЭПС при pH 5, T = 25 °C и времени инкубации 30 мин. Экспериментальные значения адсорбции катионов Cu(II) (Q_{эксп}) биосорбентом были сопоставимы с максимально возможным значением адсорбции (Q_{макс} = 0.18 мМ), рассчитанным с использованием уравнения Лэнгмюра. Степень аффинности между исследуемым полисахаридом и катионами Cu(II) была высокой и составила 2.04 мМ л⁻¹. Полученные данные имеют практическую ценность при создании технологии ремедиации водных объектов от тяжёлых металлов.



Ключевые слова: экзополисахариды, медь, биосорбция, *Enterobacter cloacae*, биоремедиация.

Biosorption of Cu (II) by an Exopolysaccharide Isolated from *Enterobacter Cloacae* K7

А. А. Neshko, V. S. Grinev, Ye. V. Kryuchkova,
Yu. P. Fedonenko, Ye. V. Lyubun, O. V. Turkovskaya

An extracellular polysaccharide (EPS) produced by the gram-negative nonpathogenic rhizosphere bacteria *Enterobacter cloacae* K7 was isolated and characterized. The process of biosorption of Cu(II) cations from aqueous solution by the isolated exopolysaccharides was investigated. The maximum sorption capacity was 0.17 mM/mg of EPS or 12 g of Cu(II) per g of EPS at pH 5, T = 25 °C, and incubation for 30 min. The experimental values of the



adsorption of Cu(II) cations (Q_{exp}) by the biosorbent were comparable to the maximum possible value of adsorption ($Q_{max} = 0.18 \text{ mM}$) calculated by using the Langmuir equation. The degree of affinity between EPS being examined and Cu(II) cations was high (2.04 mmol l^{-1}). The obtained data are of practical importance for the development of a technology for the remediation of water bodies from heavy metals.

Key words: exopolysaccharides, copper, biosorption, *Enterobacter cloacae*, bioremediation.

Многие современные промышленные процессы сопровождаются выбросом в водные экосистемы сточных вод, содержащих токсичные тяжёлые металлы. В связи с этим уделяется пристальное внимание разработке эффективных технологий очистки загрязнённых объектов. Бактериальные клетки способны извлекать из окружающей среды значительные количества ионов металлов посредством активных метаболических процессов (биоаккумуляции) [1] или пассивной адсорбции металлов заряженными макромолекулами, экскретируемыми клеткой [2, 3]. Растущий интерес к микробным экзополимерам обусловлен эффективностью их использования в процессах биоремедиации загрязнённых водных объектов в качестве сорбентов тяжёлых металлов (ТМ) [4]. Процесс биосорбции привлекает внимание исследователей, являясь низкокзатратным, экологически безопасным и высокоэффективным по сравнению с существующими физико-химическими методами очистки [5].

Экстраклеточные полимеры, продуцируемые бактериями в окружающую среду, представляют собой смесь органических макромолекул, состоящую из полисахаридов, белков и нуклеиновых кислот [6]. Следует отметить, что ключевую роль в хелатировании токсичных ТМ отводят экзополисахаридам (ЭПС) бактерий, часто несущим остатки отрицательно заряженных органических кислот (в том числе уроновых). Наличие анионных групп в составе бактериальных ЭПС обеспечивает неспецифическое связывание положительно заряженных катионов металлов [7–9]. Для ЭПС, изолированных с поверхности бактерий родов *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Zooglea*, *Arthrobacter*, *Methylobacterium* и *Enterobacter*, была выявлена высокая способность к связыванию различных катионов металлов [10].

Сорбционная ёмкость ЭПС и средство к ионам ТМ определяется как их химическим строением, так и способом организации макромолекулы в растворе (доступностью тех или иных сайтов связывания) при определённых условиях. Эффективность процессов взаимодействия ЭПС с металлами зависит также от природы катиона

металла, температуры, pH окружающей среды, соотношения концентраций биосорбента и поллютанта [4, 10].

Настоящая работа посвящена исследованию процесса биосорбции катионов Cu(II) из водного раствора экзополисахаридом, продуцируемым ризосферным штаммом *E. cloacae* K7. В литературе есть данные по изучению металл-аккумулирующих свойств бактерий рода *Enterobacter* [11], по определению сорбционного потенциала их ЭПС к ионам таких металлов, как Cr(VI), Pb(II), Cu(II) и Cd(II) [12–15].

В качестве модельного объекта нами была выбрана медь как один из наиболее широко распространённых поллютантов акваценозов, расположенных рядом с промышленными объектами горнодобывающей, металлообрабатывающей, машиностроительной, автомобильной и химической промышленности [16].

Материалы и методы

В работе использовали природный ризосферный штамм *E. cloacae* K7 [17], выделенный авторами и включенный в коллекцию ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН (<http://collection.ibppm.ru>).

Для получения препаративных количеств бактериальных ЭПС штамм выращивали до окончания логарифмической фазы роста на жидкой и плотной питательных средах LB [18]. Бактерии осаждали центрифугированием при $3000 \times g$ в течение 40 мин, после чего клетки ресуспендировали в 0.15 М NaCl. Процедура удаления капсульного материала с поверхности клеток подробно изложена в работе [19]. Смытый в течение первых двух дней капсульный материал концентрировали, диализовали (предел исключения мембраны 12–14 кДа) против дистиллированной воды (48 ч), снова концентрировали и лиофилизировали. С поверхности агаризованной среды клетки смывали минимальным объёмом 0.15 М NaCl, суспендировали в течение 12 ч, осаждали центрифугированием, а надосадочную жидкость после диализа лиофилизировали. Выход ЭПС рассчитывали на вес сухой биомассы бактерий. Колориметрическое определение содержания в ЭПС углеводов и белка проводили известными методами, описанными нами ранее [20]. Измерения выполняли на Specord 40 («Analytik Jena AG», Германия).

Денатурирующий электрофорез препаратов ЛПС выполняли в 15% ПААГ [21]. Визуализацию компонентов осуществляли окрашиванием гелей красителем на основе нитрата серебра [22].

Анализ моносахаридного состава ЭПС проводили с помощью ГЖХ в виде ацетатов полиолов



на хроматографе GC-2010 («Shimadzu», Япония). Идентификацию уруновых кислот проводили с помощью ТСХ, сравнивая R_f со стандартами глюкоуновой и галактуруновой кислот, нанесенными на пластину в качестве свидетелей. Элюент – пиридин, этилацетат, вода, ледяная укусовая кислота в соотношении 5 : 5 : 3 : 1. Для визуализации результатов хроматографии опрыскивали пластины раствором анизидинфталата в *n*-бутаноле и нагревали.

Анализ состава жирных кислот липидного компонента осуществляли методом ГЖХ метиловых эфиров жирных кислот [23].

Для экспериментов по биосорбции использовали раствор ЭПС (1 мг/мл) и сток-раствор соли $CuCl_2 \times 2H_2O$ в концентрации 100 мМ. Исследование проводили в стеклянных мерных пробирках с притёртыми пробками при 25 °С. Для оценки влияния начальных концентраций ионов металла на биосорбцию использовали 0.1; 1.0 и 10.0 мМ рабочие растворы, что в пересчёте на металл составило 6.4; 64.0 и 640.0 мг/л соответственно. К раствору ЭПС добавляли раствор хлорида меди определённой концентрации, тщательно перемешивали, время экспозиции образцов составляло 30 мин. Для оценки сорбции меди на стенках стеклянной посуды использовали экспериментальные контроли рабочих растворов без добавления биосорбента. Водородный показатель рабочих растворов $Cu(II)$ и ЭПС контролировали с помощью рН-метра «Аквилон» рН 410 (Россия). При завершении процесса биосорбции ЭПС осаждали 6-кратным объёмом этилового спирта на холоду с последующим центрифугированием на Sigma 2-16P (Германия) при $4500 \times g$, 20 мин.

Экспериментальную величину адсорбции металла, сорбированного ЭПС ($Q_{\text{эксп}}$), его начальную концентрацию до процесса биосорбции (C_0) и равновесную концентрацию металла в надосадочной жидкости (C_p) определяли с помощью атомно-абсорбционного спектрометра (ААС) Thermo Scientific iCE 3500 («Thermo Scientific», США). Все реактивы, использованные в работе, имели квалификацию «осч». Для градуировки спектрометра использовались ГСО раствора меди. Измерение каждого образца проводили в трехкратной повторности. Полученную $Q_{\text{эксп}}$ сравнивали с предельно возможной адсорбцией ($Q_{\text{макс}}$), рассчитанной с использованием уравнения Лэнгмюра [20].

Статистическую обработку полученных результатов выполняли с использованием программного обеспечения STATISTICA 6.0 и Microsoft Excel 2003.

Результаты и их обсуждение

Выделение и характеристика ЭПС. Известно, что на поверхности клеточной стенки грамотрицательных энтеробактерий локализованы экстраклеточные полимеры, среди которых обычно преобладает фракция полисахаридов. Исходя из предположения, что именно они играют ключевую роль в связывании металла, первый этап работы был посвящен выделению и характеристике ЭПС штамма *E. cloacae* K7.

Поскольку условия культивирования существенно сказываются как на количестве продуцируемого бактериями ЭПС, так и на его физико-химических свойствах, бактерии *E. cloacae* K7 выращивали на среде LB различной плотности. При культивировании бактерий на плотной среде выход ЭПС был в три раза выше, чем у культуры, выращенной в жидкой среде. Полученные препараты ЭПС характеризовались различным соотношением углеводной, белковой и липидной составляющих. Так, в ЭПС, выделённом с поверхности бактерий, выращенных в жидкой среде, содержание углеводов и белка составляло ~20 и ~8% соответственно. При этом в ЭПС, продуцируемом энтеробактериями на плотной среде, было выявлено меньшее присутствие белков (~5%) и более высокая доля углеводов (~52%).

Электрофорез полученных ЭПС в денатурирующих условиях показал, что каждый из препаратов представляет собой смесь молекул, различающихся по длине полисахаридной цепи (рис. 1).

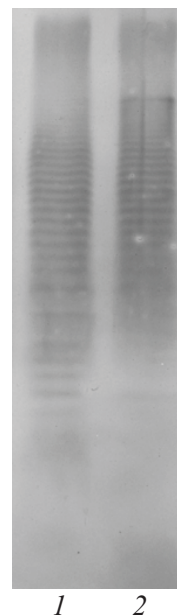


Рис. 1. Электрофореграмма экзополисахаридов, выделенных с поверхности бактерий *E. cloacae* K7, культивируемых на жидкой (1) и агаризованной (2) средах LB



При этом ЭПС, выделенный с поверхности бактерий, культивируемых на агаризованной среде, характеризовался более высокой степенью полимеризации отдельных молекул. На этом основании в дальнейшей работе был использован препарат ЭПС, выделенный с поверхности *E. cloacae* K7, культивируемых на агаризованной среде LB.

В составе липидного компонента выделенного полимера методом ГЖХ были идентифицированы следующие жирные кислоты (%): C11:0 (27.56), C12:0 (6.99), C14:0 (7.99), 3-ОН-C14:0 (34.20), C16:0 (18.71), *транс*-C18:1-9 (4.56). Установлено, что при культивировании в жидкой среде бактерии продуцировали ЭПС со сходным профилем жирных кислот, но в 8 раз более низким содержанием ундекановой кислоты.

С использованием ГЖХ анализа ацетатов полиолов в ЭПС были идентифицированы нейтральные моносахариды (%): галактоза (75.54), глюкоза (6.54), манноза (7.74), рамноза (6.76), арабиноза (2.68) и ксилоза (0.73). Следует отметить, что на хроматограмме присутствовали пики неидентифицированных компонентов, предположительно являющихся О-метилованными и диаминопроизводными моносахаридных остатков.

Дополнительно моносахаридный состав анализировали методом ТСХ гидролизата ЭПС. Помимо выявленных в ЭПС нейтральных сахаров было показано наличие глюкуроновой кислоты. Полученные данные согласуются с изученным ранее моносахаридным составом ЭПС штамма *E. cloacae* P2B, где галактоза и глюкоза также превалировали (составляя суммарно ~81%), а остальные моносахаридные остатки присутствовали в значительно меньших количествах (суммарно ~19%) [24]. Близкое соотношение моносахаридных остатков было показано другими исследователями для ЭПС штамма *Enterobacter* (NCIB 11870) и двух изолятов *E. cloacae* (фукоза / галактоза / глюкоза / глюкуроновая кислота) 1 : - : 2 : 1; 2 : 3 : 2 : 1 и 2 : 1 : 1 : 1 [25–27] соответственно.

Таким образом, в выделенном препарате ЭПС удалось продемонстрировать наличие функциональных групп, являющихся основными сайтами связывания металлов. Так, например, гидроксильные группы нейтральных моносахаридов способны взаимодействовать с катионами ТМ в щелочных условиях. В то же время важная роль в связывании ТМ принадлежит карбоксильным группам уроновых кислот. Анализ химического строения ЭПС штамма K7 позволил выдвинуть гипотезу о его высоком биосорбционном потенциале.

Биосорбция Cu(II) бактериальным ЭПС.

Биосорбционная система состоит из твердой фазы (*сорбента*), жидкой фазы, содержащей вещество, которое необходимо сорбировать (*сорбтив*), а также вещества, сорбированного поверхностью биосорбента (*сорбат*). На эффективность процесса биосорбции влияют следующие факторы: pH раствора, температура, ионная сила, концентрация и размер частиц биосорбента, начальная концентрация сорбтива, скорость перемешивания, время инкубации [10, 28, 29]. В нашем случае в качестве сорбента выступал ЭПС штамма K7 в концентрации 1 мг/мл, а в качестве сорбтива катионы Cu(II) в концентрациях 0.1; 1.0 и 10.0 мМ. Различное количество меди в жидкой фазе использовалось для выявления максимального потенциала насыщения исследуемого биосорбента. Необходимо было определить, при какой концентрации меди количество катионов в растворе меньше, чем сайтов связывания, а также концентрацию металла, при которой все функциональные группы ЭПС вступили во взаимодействие с медью.

Данные, полученные для исследуемых в настоящей работе биосорбционных систем, приведены в таблице. С помощью ААС анализа биосорбента и жидкой фазы показано, что количество металлических ионов, сорбированных на единицу ЭПС ($Q_{\text{эксп}}$), повышалось с увеличением начальной концентрации металла от 0.1 до 1.0 мМ в 10 раз и составило 0.01 и 0.14 мМ соответственно. Дальнейшее увеличение концентрации меди не привело к значительному повышению биосорбции. Из раствора, содержащего 10.0 мМ металла, осаждалось на ЭПС лишь 0.17 мМ. Вероятно, в данном случае наблюдается насыщение сайтов связывания ЭПС, так как увеличение концентрации соли меди не приводит к линейному росту количества сорбированного металла.

Количественные показатели биосорбции ионов Cu(II) экзополисахаридом *E. cloacae* K7

Показатели, мМ				pH*
C_o	C_p	$Q_{\text{эксп}}$	$Q_{\text{Лэнг}}$	
10.0	9.63	0.17 ± 0.03	0.17	4.08 / 4.95
1.0	0.79	0.14 ± 0.02	0.11	4.53 / 5.90
0.1	0.06	0.014 ± 0.003	0.019	5.02 / 5.90

Примечание. C_o – исходная концентрация меди в растворе, C_p – равновесная концентрация меди в растворе, $Q_{\text{эксп}}$ – величина биосорбции металла, определенная экспериментально, $Q_{\text{Лэнг}}$ – величина биосорбции металла, рассчитанная с использованием уравнения Лэнгмюра, «*» – значение pH исходного раствора хлорида меди(II) / значение pH раствора хлорида меди(II) с ЭПС.



Известно, что процесс биосорбции протекает до момента, пока не устанавливается равновесие между количеством сорбированных катионов металла ($Q_{\text{эксп}}$) и их частью, оставшейся в растворе (так называемой финальной или равновесной концентрацией C_p). В настоящем исследовании адсорбция катионов Cu(II) проходила наиболее интенсивно в начальный момент времени и достигала своего равновесного состояния в течение 30 мин.

Поскольку pH среды влияет на растворимость ионов металла и степень ионизации функциональных групп полимеров, была проведена регистрация значения pH в исследуемых системах. Значения начальных pH растворов биосорбента и Cu(II), а также изменения pH в ходе процесса биосорбции представлены в таблице. При анализе сорбционных характеристик ЭПС следует учитывать, что водородный показатель растворов солей меди вследствие гидролиза смещается в сторону меньших значений pH. При наличии избытка катионов гидроксония в растворе протолитическое равновесие смещается в сторону молекулярной формы ЭПС, при этом уменьшается количество диссоциированных карбоксильных групп остатков глюкуроновой кислоты – основных сайтов связывания катионов металлов. Исследуемые нами процессы биосорбции протекали в диапазоне pH от 4.95 до 5.90. Литературные данные также свидетельствуют, что сорбция катионов Cu(II) в данном диапазоне происходит наиболее интенсивно [30].

Расчёт изотермы адсорбции с использованием уравнения Лэнгмюра. Чтобы наиболее полно представлять механизм процесса

биосорбции, а также анализировать экспериментально полученные данные, применяют эмпирическое моделирование. Традиционно для этих целей используют классическую теорию мономолекулярной адсорбции Лэнгмюра, одно из основных положений которой гласит, что каждый активный центр биосорбента может адсорбировать только одну молекулу адсорбата, в результате чего на поверхности первого образуется *мономолекулярный слой* второго [28, 31]. Уравнение Лэнгмюра имеет следующий вид:

$$Q_{\text{Лэнг}} = Q_{\text{max}} \frac{b \cdot C_p}{(1 + b \cdot C_p)},$$

где $Q_{\text{Лэнг}}$ – величина биосорбции металла, рассчитанная с использованием уравнения Лэнгмюра; постоянные: Q_{max} – отражающая максимально возможную адсорбцию на исследуемом биосорбенте и b – характеризующая аффинность (средство) между сорбатом и сорбентом; C_p – равновесная концентрация. Таким образом, хороший биосорбент будет описываться высоким значением Q_{max} , а также крутым наклоном изотермы (т.е. высоким значением b).

Для нахождения величины предельной адсорбции Q_{max} необходимо построить изотерму адсорбции в координатах линейной формы уравнения Лэнгмюра $C_p/Q_{\text{эксп}} = f(C_p)$. Изотерма адсорбции получается в виде прямой, тангенс угла наклона которой равен $1/Q_{\text{max}}$, а отрезок, отсекаемый прямой от оси ординат, равен $1/(Q_{\text{max}} \times b)$. Изотерма адсорбции, построенная с использованием наших экспериментальных данных, представлена на рис. 2.

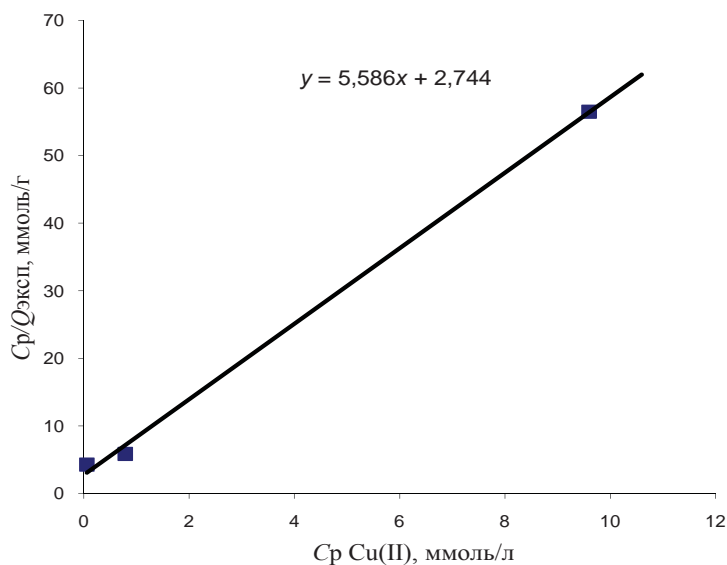


Рис. 2. Изотерма адсорбции меди экзополисахаридом *E. cloacae* K7 в координатах линейной формы уравнения Лэнгмюра $C_p/Q_{\text{эксп}} = f(C_p)$



Как видно из графика, тангенс угла наклона изотермы в нашем случае равен 5.586. Таким образом, Q_{\max} для используемого нами биосорбента будет 0.18 мМ/мг^{-1} ЭПС, т.е. 1 мг ЭПС штамма К7 максимально способен связать 0.18 мМ меди. Поскольку максимальное определенное нами значение $Q_{\text{эксп}}$ равно 0.17 мМ/мг^{-1} ЭПС, можно сделать вывод, что биосорбция в используемых нами условиях (при $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$; pH 4.95, времени экспозиции 30 мин, количестве биосорбента 1 мг) протекает с максимальной производительностью биосорбента. Значение константы b составило 2.04 мМ л^{-1} , что свидетельствует о высокой

степени аффинности, между исследуемым полисахаридом и катионами Cu(II) . Значения величин адсорбции, рассчитанные по уравнению Лэнгмюра, $Q_{\text{Лэнг}}$ представлены в таблице. Сравнительный анализ между экспериментальной и теоретической изотермами адсорбции приведен на рис. 3. Поскольку экспериментальные значения адсорбции металла сопоставимы с теоретическими, можно сделать вывод о том, что уравнение Лэнгмюра достаточно полно отражает процесс биосорбции катионов меди на ЭПС штамма К7. Сорбция меди происходит на поверхности биосорбента с образованием монослоя.

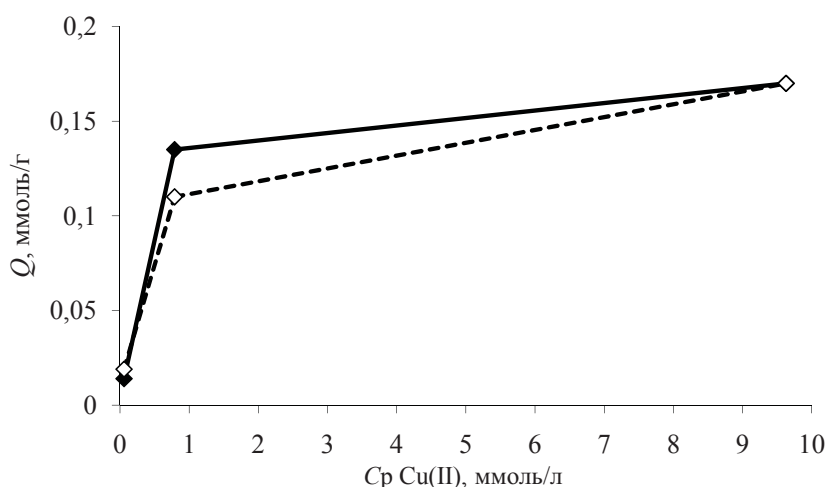


Рис. 3. Сравнение значения адсорбции, рассчитанной по уравнению Лэнгмюра, с экспериментальными значениями: $Q_{\text{эксп}}$ – сплошная линия; $Q_{\text{Лэнг}}$ – прерывистая линия. C_p – равновесная концентрация меди

Таким образом, выделен и охарактеризован ЭПС, продуцируемый бактериями *Enterobacter cloacae* К7, в составе которого выявлено наличие глюкуроновой кислоты, карбоксильные группы которой являются основными сайтами связывания катионов ТМ. Исследуемый ЭПС обладал высокими адсорбционными характеристиками, максимальная биосорбционная способность к катионам меди составила 180 мМ г^{-1} ЭПС, или 12 г г^{-1} ЭПС. Оптимальными условиями для биосорбции были: $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$; pH 4.95; $t = 30$ мин; соотношение биосорбента к сорбату 1 мг ЭПС примерно к 1 мМ Cu(II) . Полученные в настоящем исследовании данные демонстрируют перспективность использования ЭПС штамма *E. cloacae* К7 в качестве биосорбента к катионам Cu(II) .

Список литературы

1. Gadd G. M. Heavy metal accumulation by bacteria and other microorganisms // *Experientia*. 1990. Vol. 46, iss. 8. P. 834–840.

2. De Philippis R., Colica G., Micheletti E. Exopolysaccharide-producing cyanobacteria in heavy metal removal from water : molecular basis and practical applicability of the biosorption process // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2011. Vol. 92. P. 697–708.
3. Sponza D. T. Extracellular polymer substances and physicochemical properties of flocs in steady and unsteady-state activated sludge systems // *Process Biochem.* 2002. Vol. 37. P. 938–998.
4. Pal A., Paul A. K. Microbial extracellular polymeric substances : central elements in heavy metal bioremediation // *Indian J. Microbiol.* 2008. Vol. 48. P. 49–64.
5. Geddi J. L., Sutherland I. W. Uptake of metals by bacterial polysaccharides // *J. Appl. Bacteriol.* 1993. Vol. 74. P. 467–472.
6. Wingender J., Neu T. R., Flemming H. C. Microbial extracellular polymeric substances : characterisation, structure and function // Berlin : Springer, 1999. 123 pp.
7. Bridge T. A. M., White C., Gadd G. M. Extracellular metal-binding activity of the sulphate-reducing bacterium *Desulfococcus multivorans* // *Microbiology*. 1999. Vol. 145. P. 2987–2995.
8. Guibaud G., Tixier N., Bouju A., Baudu M. Relation



- between extracellular polymers composition and its ability to complex Cd, Cu and Pb // *Chemosphere*. 2003. Vol. 50. P. 1701–1710.
9. Liu Y., Lam M. C., Fang H. H. P. Adsorption of heavy metals by EPS of activated sludge // *Water Sci. Technol.* 2001. Vol. 43. P. 59–66.
 10. Vijayaraghavan K., Yeoung-Sang Y. Bacterial biosorbents and biosorption // *Biotechnol. Adv.* 2008. Vol. 26. P. 266–291.
 11. Hernandez A., Mellado R.P., Martinez J. L. Metal accumulation and vanadium-induced multidrug resistance by environmental isolates of *Escherichia hermannii* and *Enterobacter cloacae* // *Appl. Environ. Microbiol.* 1998. Vol. 64. P. 4317–4320.
 12. Suriya J., Bharathiraja S., Rajasekaran R. Biosorption of Heavy Metals by Biomass of *Enterobacter Cloacae* Isolated from Metal-Polluted Soils // *Inter. J. Chem. Tech. Res.* 2013. Vol. 5, iss. 3. P. 1329–1338.
 13. Iyer A., Mody K., Jha B. Accumulation of hexavalent chromium by an exopolysaccharide producing marine *Enterobacter cloacae* // *Mar. Pollut. Bull.* 2004. Vol. 49. P. 974–977.
 14. Lu W.-B., Shi J.-J., Wang C.-H., Chang J. S. Biosorption of lead, copper and cadmium by indigenous isolate *Enterobacter* sp. J1 possessing high heavy-metal resistance // *J. Hazard. Mater.* 2006. Vol. B134. P. 80–86.
 15. Naik M. M., Pandey A., Dubey S. K. Biological characterization of lead-enhanced exopolysaccharide produced by a lead resistant *Enterobacter cloacae* strain P2B // *Biodegradation*. 2012. Vol. 23. P. 775–783.
 16. Материалы к разработке Государственной программы «Водная стратегия России» // Аналитический вестн. Сер.: Экономическая политика. М., 2008. Вып. 6. URL: <http://iam.duma.gov.ru/node/8/4454/14654> (дата обращения: 10.06.2014).
 17. Kryuchkova Y. V., Burygin G. L., Gogoleva N. E., Gogolev Y. V., Chernyshova M. P., Makarov O. E., Fedorov E. E., Turkovskaya O. V. Isolation and characterization of a glyphosate-degrading rhizosphere strain, *Enterobacter cloacae* K7 // *Microbiol. Res.* 2013. Vol. 169, iss.1. P. 99–105.
 18. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. *Molecular cloning : a laboratory manual*, 2nd. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
 19. Федоненко Ю. П., Здоровенко Э. Л., Коннова С. А., Игнатов В. В., Шляхтин Г. В. Сравнительная характеристика липополисахаридов и О-специфических полисахаридов *Azospirillum brasilense* Sp245 и его омегон-Км мутантов KM018 и KM252 // *Микробиология*. 2004. Т. 73, № 2. С. 180–187.
 20. Konnova S. A., Makarov O. E., Skvortsov I. M., Ignatov V. V. Isolation, fractionation and some properties of polysaccharides produced in a bound form by *Azospirillum brasilense* and their possible involvement in *Azospirillum*-wheat root interactions // *FEMS Microbiol. Lett.* 1994. Vol. 118. P. 93–99.
 21. O'Neill M. A., Morris V. J., Selvendran R. R., Sutherland I. W., Taylor I. T. Structure of the extracellular gelling polysaccharide produced by *Enterobacter* (NCIB 11870) species // *Carbohydr. Res.* 1986. Vol. 148, iss. 1. P. 63–69.
 22. Isobe Y. I., Matsumoto Y., Yokoigawa K., Kawai H. Properties of an Extracellular Polysaccharide Produced by a Strain of *Enterobacter* Isolated from Pond Water // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2001. Vol. 65, iss. 6. P. 1399–1401.
 23. Mayer H., Tharanathan R. N., Weckesser J. Analysis of lipopolysaccharides of Gram-negative bacteria // *Methods Microbiol.* 1985. Vol. 18. P. 157–207.
 24. Naik M. M., Pandey A., Dubey S. K. Biological characterization of lead-enhanced exopolysaccharide produced by a lead resistant *Enterobacter cloacae* strain P2B // *Biodegradation*. 2012. Vol. 23, iss. 5. P. 775–783.
 25. O'Neill M. A., Morris V. J., Selvendran R. R., et al. Structure of the extracellular gelling polysaccharide produced by *Enterobacter* (NCIB 11870) species // *Carbohydr. Res.* 1986. Vol. 148, iss. 1. P. 63–69.
 26. Isobe Y., Matsumoto Y., Yokoigawa K. et al. Properties of an extracellular polysaccharide produced by a strain of *Enterobacter* isolated from pond water // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2001. Vol. 65, iss. 6. P. 1399–1401.
 27. Meade M. J., Tanenbaum S. W., Nakas J. P. Optimization of novel extracellular polysaccharide production by an *Enterobacter* sp. on wood hydrolysates // *Appl. Environ. Microbiol.* 1994. Vol. 60, № 4. P. 1367–1369.
 28. Kratochvil D., Volesky B. Advances in biosorption of heavy metals // *Trends Biotechnol.* 1998. Vol. 16, iss. 7. P. 291–300.
 29. Vegliò F. Modelling of equilibrium heavy metal biosorption data at different pH: a possible methodological approach // *Eur. J. Mineral Process. Environ. Protect.* 2003. Vol. 3, № 1. P. 49–57.
 30. Tunali S., Çabuk A., Tamer A. Removal of lead and copper ions from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil // *Chem. Eng. J.* 2006. Vol. 115. P. 203–211.
 31. Фридрихсберг Д. А. Курс коллоидной химии. СПб. : Химия, 1995. С. 150–178.



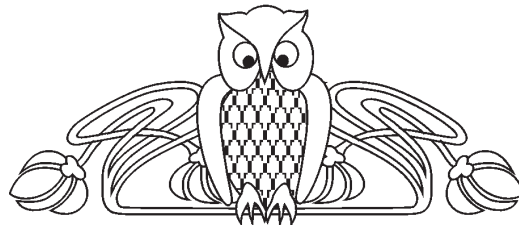
УДК 599.745.3:591.8

К ВОПРОСУ О ГИСТОПАТОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЯХ ПОЧКИ КАСПИЙСКОГО ТЮЛЕНЯ (*PHOCA CASPICA* GMELIN, 1788) В СИСТЕМЕ «МАТЬ–ПЛОД»

В. В. Володина¹, М. П. Грушко², Н. Н. Федорова²

¹Каспийский научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства, Астрахань
E-mail: Vo-Vik5@yandex.ru

²Астраханский государственный технический университет
E-mail: mgrushko@mail.ru



В работе приведены данные гистологического исследования почек беременных самок каспийского тюленя и их плодов. В почечной ткани половозрелых самок тюленей были отмечены признаки хронического гломерулонефрита и амилоидоза. Данные заболевания сопровождались следующими патогистологическими проявлениями: некрозом эпителиальных пластов, базальных мембран, стенок извитых канальцев, гиперцеллюлярностью в почечных тельцах, значительными разрастаниями соединительной ткани в стенках почечных сосудов и по ходу артериол, микроциркуляторными нарушениями (гемо- и плазморрагии), отложениями масс амилоида в стенках сосудов и в почечных тельцах. У эмбрионов в почках были выявлены следующие нарушения: гиперемия капилляров клубочков, сужение мочевого пространства; дистрофия цитоплазмы эпителиальных клеток канальцев; некроз эпителиальных клеток и каналец; отслоение эпителиального пласта от базальных мембран. Выявленные нарушения в системе «мать–плод» свидетельствуют о снижении функциональности выделительной системы.

Ключевые слова: выделительная система, каспийский тюлень, эмбриональный период, патологии.

To the Question of Histopathological Disorders of the Kidney of the Caspian Seal (*Phoca caspica* Gmelin, 1788) in the System «Mother–Fetus»

V. V. Volodina, M. P. Grushko, N. N. Fedorova

In this work we present these histological examination of the kidneys of pregnant females Caspian seals and their fetuses. In the renal tissue of Mature females seals were marked signs of chronic glomerulonephritis and amyloidosis. These diseases was accompanied by the following histopathological manifestations: necrosis of epithelial layers, basal membranes, walls convoluted tubule, hypercellularity in the renal corpuscles, significant growths of connective tissue in the walls of the renal vessels and along the arterioles, microcirculatory disorders (hemo - and platurgie), sediment masses of amyloid in the walls of blood vessels and in the renal corpuscles. In embryos in the kidneys revealed the following violations: hyperemia of the capillaries of the glomeruli, the narrowing of the urinary space; degeneration of the cytoplasm of epithelial cells of the tubules; necrosis of epithelial cells and tubule; the detachment of the epithelial layer from the basal membrane. Identified deficiencies in the system «mother–fetus» indicate a decline in the functionality of the excretory system.

Key words: excretory system, Caspian seal, embryonic period, pathology.

Одной из фундаментальных функций живого организма, определяющих его жизнеспособность, является поддержание водно-солевого гомеостаза. В реализации этой функции у млекопитающих основная роль принадлежит почке. В период беременности почки испытывают дополнительную функциональную нагрузку. Они фильтруют плазму крови, в которую постоянно выделяются продукты метаболизма собственного организма и развивающегося эмбриона, очищают организм от конечных продуктов обмена и способствуют сохранению физиологического баланса, поэтому неблагоприятные изменения, происходящие в организме матери под влиянием болезни и вредных факторов извне, отражаются на состоянии плода [1, 2]. Любые нарушения функции почек приводят, как правило, к тяжелому состоянию организма. В свою очередь, негативные изменения, возникающие у плода, как правило, приводят к снижению качества потомства и, как следствие, к сокращению популяции [3]. В связи с этим целью нашей работы явилось изучение гистопатологического состояния почек беременных самок и эмбрионов каспийского тюленя (*Phoca caspica* Gmelin, 1788).

Материал и методы

Сбор биологического материала осуществляли во время проведения научно-исследовательских экспедиций на предзимние залежки зверя в конце октября – начале ноября 2011–2012 гг. Образцы тканей почки пятнадцати беременных самок и их 7,5–8,0-месячных эмбрионов фиксировали в растворе Буэна. Материал обрабатывался по общепринятым в гистологии методикам [4]. Пробы заливали в парафин, срезы изготавливали на микротоме. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином, по методу Маллори.

Диагностику и оценку степени патологических изменений в органах и тканях гидробионтов осуществляли в соответствии с методикой



Л. А. Лесникова и И. Д. Чинаревой [5]. Степень ранжировки:

I балл – реакция организма, не связанная с его повреждением;

II балла – легкие повреждения, слабая гиперемия сосудов, отеки;

III балла – повреждения средней тяжести, гиперемия сосудов, периваскулярные и перипеллюлярные отеки, очаговые кровоизлияния.

IV балла – тяжелые повреждения, множественные очаговые кровоизлияния, значительные отеки, дистрофия, некроз до 30 % тканей;

V баллов – симптомы летального отравления, наличие значительных повреждений внутренних органов при действии относительно невысоких концентраций токсических веществ, приближающихся к хроническим летальным концентрациям, и почти полное отсутствие симптомов повреждения при высоких летальных концентрациях, но за короткое время.

У половозрелых самок каспийского тюленя зарегистрировано несколько видов патологии.

Склероз почек. У 20,0% обследованных животных все почечные сосуды разных калибров

имели значительные утолщения стенок из-за разрастаний соединительной ткани; в стенках этих сосудов видны пучки грубых коллагеновых волокон. Под базальной мембраной эндотелия находились массы амилоида, в связи с этим диаметр сосудистых полостей был резко сужен, в полостях сосудов почек находилась только плазма. У 26,7 % проанализированных нерп обнаружены значительные геморрагии и, особенно, плазморрагии, расположенные по ходу почечных сосудов. Мелкие сосуды почек межканальцевой ткани были неравномерно расширены, забиты элементами крови (эритроцитами). По ходу этих артериол проходили тонкие коллагеновые волокна. В цитоплазме эпителиальных кубических клеток проксимальных и дистальных извитых канальцев было обнаружено мутное набухание, причем полости канальцев были относительно узкими, в некоторых из них находились окклюзии полостей; часть полостей оставалась свободной, в некоторых полостях находились пенистые, по-видимому, белковые массы, некротизированные клетки эпителия или единичные эритроциты (рис. 1).

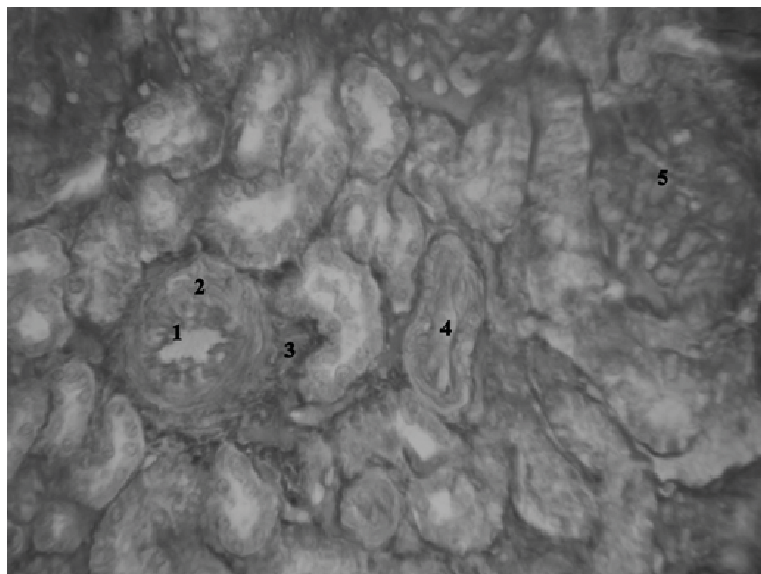


Рис. 1. Почка каспийского тюленя. ОК10 ОБ90 окраска по Малори: 1 – элементы крови; 2 – утолщение стенок почечного сосуда; 3 – разрастание соединительной ткани; 4 – окклюзия полости почечного канальца; 5 – перипеллюлярность в почечном тельце

У 6,7% особей регистрировали значительное количество извитых канальцев с некрозом эпителиальных пластов и разрушениями базальных мембран. Причем рядом находившиеся разрушенные базальные мембраны способствовали «объединению» полостей соседних извитых канальцев. Чем ниже к центру почки находились

извитые канальца, тем меньше было тех из них, в которых наблюдались некрозы. Почечные тельца были значительно увеличены у 60% проанализированных нерп. У этих животных выявлено отсутствие мочевых пространств. Размеры почечного тельца варьировали от $68,2 \pm 13,02$ мкм до $121,0 \pm 10,24$ мкм, в среднем составляя



102,65 ± 4,37 мкг. Во всех петлях капилляров было заметно отложение масс амилоида.

В целом в этой группе животных выявлены следующие патологические изменения: некрозы эпителиальных пластов и разрушения базальных мембран, извитых канальцев, значительные разрастания соединительной ткани в стенках почечных сосудов и по ходу артериол, микроциркуляторные нарушения (гемо- и плазморрагии), отложения масс амилоида в стенках сосудов и в

почечных тельцах, что, несомненно, приводило к хронической почечной недостаточности.

Хронический гломерулонефрит. Основным изменением почек 33,3% каспийского тюленя явились симптомы хронического (вторичного) гломерулонефрита: это многоклеточность (гиперцеллюлярность) клубочков, обусловленная воспалительным поражением почек и сопровождающаяся увеличением количества клеток в почечных тельцах (рис. 2).

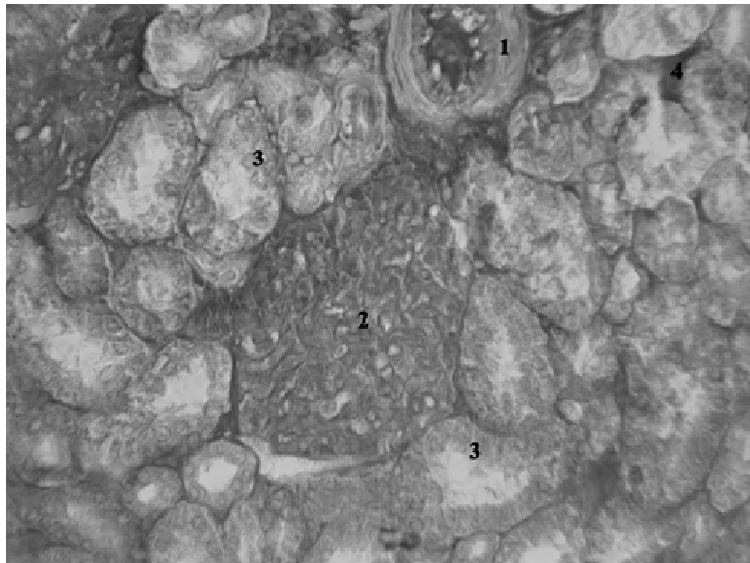


Рис. 2. Мозговое вещество почки каспийского тюленя. ОК10 ОБ90 окраска по Малори: 1 – утолщение стенок почечного сосуда, забитого элементами крови; 2 – патологии почечного тельца: узкое мочевое пространство, многоклеточность клубочков; 3 – некроз эпителия почечных канальцев; 4 – геморрагии

При измерении почечных клубочков выявлено, что средний диаметр был 89,98±4,30 мкн, минимальные и максимальные размеры составили 59,4±14,20 и 107,8±2,20 мкн соответственно. Эта многоклеточность связана с пролиферацией мезангиальных, эндотелиальных, париетальных эпителиальных клеток и лейкоцитарной инфильтрацией. Объем мочевого пространства был относительно небольшим – в среднем 6,71±0,53 мкн. Толщина мочевого протока изменялась от 4,40±1,61 мкн до 9,90±2,11 мкн. В некоторых клубочках мочевое пространство вообще отсутствовало.

У 33,3% самок зарегистрированы тубулярные изменения, которые характеризовались следующими нарушениями: в цитоплазме извитых канальцев обнаружено мутное набухание, в связи с чем границы между эпителиальными клетками было трудно выявить, ядра определялись в базальных частях клеток. В 13,3% случаев выявлено отсло-

ение пласта эпителиальных клеток от базальной мембраны в извитых канальцах. Толщина эпителия почечного тельца варьировала в широких пределах – от 2,6±0,37 мкн до 5,1±0,73 мкн, в среднем составляя 3,65±0,15 мкн. В отдельных канальцах у таких животных отмечено разрушение эпителиального пласта, его базальной мембраны и всей стенки извитого канальца (некроз). У 20,0% особей в межканальцевой ткани отмечался отек и инфильтрация лейкоцитами (лимфоцитами), около стенок сосудов – мелкие кровоизлияния. Во многих полостях извитых канальцев наблюдались белковые образования в виде пены.

В целом у беременных самок каспийского тюленя выявлены следующие изменения: некрозы эпителиальных пластов, базальных мембран и даже самих стенок извитых канальцев, гиперцеллюлярность в почечных тельцах, что, возможно, могло привести к хронической почечной недостаточности.



Таким образом, в почках 33,3% самок тюленей были отмечены признаки хронического гломерулонефрита и амилоидоза. Данные заболевания сопровождались рядом патогистологических проявлений (некроз эпителиальных пластов, базальных мембран, стенок извитых канальцев, гиперцеллюлярность в почечных тельцах, значительные разрастания соединительной ткани в стенках почечных сосудов и по ходу артериол, микроциркуляторные нарушения (гемо- и плазморрагии), отложения масс амилоида в стенках сосудов и в почечных тельцах), что позволяет оценить морфофункциональное состояние обследованного органа по шкале патологических нарушений в среднем в 4.1 балла.

Гистологическое исследование показало, что почка всех плодов тюленя имела дольчатое строение, каждая долька была отделена соединительнотканной капсулой. Внутри органа достаточно хорошо выражена соединительная ткань, особенно под капсулой и около кровеносных сосудов. Нефроны имели все составные элементы с типичными морфологическими характеристиками. У 46,7% обследованных особей в некоторых клубочках имелось пока еще

небольшое количество капиллярных петель, что свидетельствует о незрелости органа. Размер клубочков варьировал от $71,24 \pm 6,81 \times 109,98 \pm 4,37$ мкм до $90,26 \pm 6,92 \times 129,34 \pm 7,39$ мкм, в среднем составляя $95,67 \pm 5,44 \times 107,23 \pm 4,33$ мкм. Сразу под капсулой находились формирующиеся почечные тельца, количество которых уменьшалось вглубь органа. Эти клубочки состояли из недифференцированных эпителиальных клеток и кровеносных капилляров. У плодов имелись канальца всех типов – проксимальные, дистальные и собирательные трубочки.

У 13,3% проанализированных плодов в строении органа зафиксированы мелкие кровоизлияния. У 6,7% каспийских тюленей в плодный период отмечена гиперемия капилляров клубочков, в связи с чем мочевое пространство было резко сужено (рис. 3). Наряду с почечными тельцами, у которых петли капилляров полностью заполняли мочевое пространство, в 26,7% зарегистрированы почечные тельца со спавшимися капиллярными петлями и расширенным мочевым пространством. Толщина мочевого пространства варьировала в среднем от $3,30 \pm 0,77$ мкм до $18,85 \pm 3,66$ мкм.

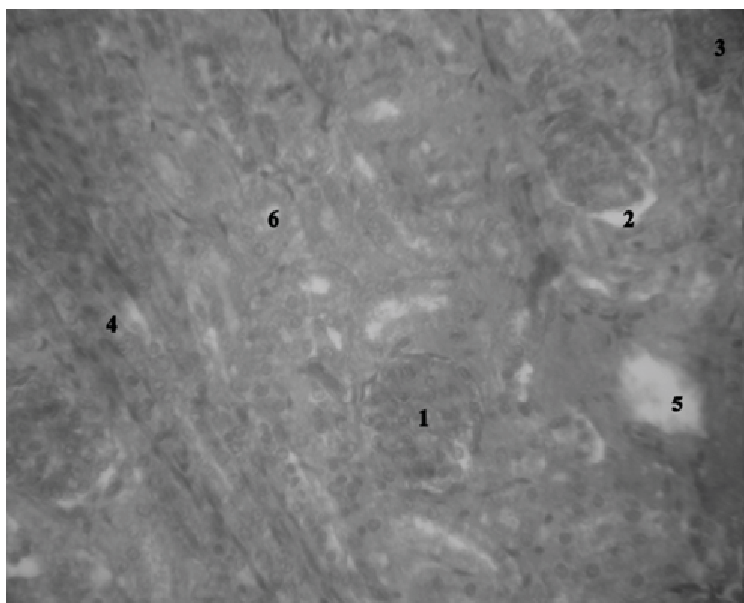


Рис. 3. Почка эмбриона каспийского тюленя. ОК10 ОБ10 окраска по Малори: 1 – гиперцеллюлярность почечного тельца; 2 – мочевое пространство; 3 – кровоизлияние; 4 – собирательные трубочки; 5 – некроз; 6 – дистальные извитые канальца

У 33,3% обследованных плодов просветы почечных канальцев были сужены и заполнены белковым содержимым. У 6,7% животных в плодный период зарегистрирована дистрофия эпителиальных клеток канальцев, высота

которых варьировала в широких пределах – от $5,18 \pm 1,10$ мкм до $10,20 \pm 1,59$ мкм. У 53,3% плодов нерп ядра эпителиальных клеток канальцев характеризовались разноразмерностью.



У 13,3% обследованных животных в плодный период выявлены канальца с некротизированными эпителиальными клетками и с отслоением эпителиального пласта от базальных мембран (десквамация). Таким образом, в почке у 13,3% 7,5–8,0 месячных плодов каспийского тюленя были выявлены повреждения средней тяжести, которые проявились в виде нарушения микроциркуляции крови, нарушениями гломерулярного и тубулярного аппарата. Согласно шкале оценки патогистологического материала состояние этого органа у данной группы животных соответствовало 3 баллам.

Следует отметить, что нарушения микроциркуляции крови, гломерулярного и тубулярного аппарата, зарегистрированные в почечной ткани эмбрионов, обусловлены хроническими заболеваниями их матерей (хронический гломерулонефрит и амилоидоз). Данные заболевания сопровождались следующими патогистологическими проявлениями: некроз эпителиальных пластов, базальных мембран, стенок извитых канальцев, гиперцеллюлярность в почечных тельцах, значительные разрастания соединительной ткани в стенках почечных сосудов и по ходу артериол, микроциркуляторные нарушения (гемо- и плазморрагии), отложения масс амилоида в стенках сосудов и в почечных тельцах. Данное нарушение обусловлено глубоким нарушением белкового обмена. Следует отметить, что

амилоидоз почек считается особенно опасным, поскольку приводит к нарушению функции этого органа и даже к смерти организма.

Таким образом, выявленные нарушения в системе «мать–плод» свидетельствуют о снижении функциональности выделительной системы у 33,3% самок и 13,3% их плодов.

Список литературы

1. Брисуловский А. И. Жизнь до рождения. М. : Знание, 1991. 224 с.
2. Володина В. В., Грушко М. П., Федорова Н. Н. Особенности морфологии почек каспийского тюленя (*Phoca caspica*) // Принципы устойчивого развития как основа экологической безопасности территории Нижнего Поволжья и социально-экономического благополучия общества сельских муниципальных образований : материалы Междунар. науч.-практ. конф. / сост. и ред. : В. П. Зволинский, Н. В. Тютюма, Р. К. Туз. М. : Изд-во Рос. акад. с/х наук, 2012. С. 182–183.
3. Шанкайц В. А. Медико-социальные, клинические и организационные проблемы формирования здоровья детей в перинатальном периоде жизни : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 2001. 44 с.
4. Волкова О. В., Елецкий Ю. К. Основы гистологической техники. М. : Медицина, 1982. 304 с.
5. Лесников Л. А., Чинарева И. Д. Патогистологический анализ состояния рыб при полевых и экспериментальных токсикологических исследованиях // Тез. докл. 1-го Всесоюз. симпоз. по методам ихтиотоксикол. исслед. Л., 1987. С. 81–82.

УДК 582.29 (470.44)

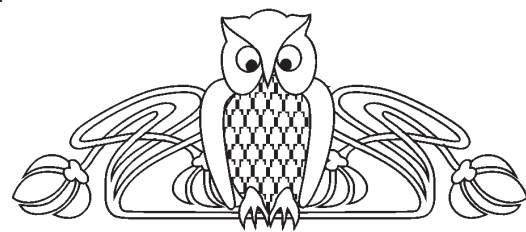
МАТЕРИАЛЫ К ИЗУЧЕНИЮ ЛИХЕНОФЛОРЫ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «ХВАЛЫНСКИЙ» (Саратовская область)

Е. А. Козырева, В. А. Болдырев

Саратовский государственный университет
E-mail: lichens_sarat@mail.ru

В статье представлены результаты исследований лихенофлоры территории национального парка «Хвалынский» 2011–2013 гг., а также обработки сведений гербарных образцов коллекции фонда SARAT и данных других исследователей. Составлен аннотированный список, включающий 65 видов. Среди них один (*Cladonia acuminata*) – новый для Саратовской области, два (*Cladonia decorticata*, *Cl. botrytes*) – новые для Приволжской возвышенности. Четыре вида лишайников (*Cladonia acuminata*, *Cladonia decorticata*, *Parmelina quercina*, *Pseudevernia furfuracea*) предлагаются к внесению в новое издание Красной книги Саратовской области.

Ключевые слова: лишайники, лихенофлора, Саратовская область, национальный парк «Хвалынский».



Materials to the Study of the Lichen Flora of the National Park «Khvalynsky» (Saratov Region)

Е. А. Kozyreva, V. A. Boldyrev

The article presents the results of lichens' research of the National Park «Khvalynsky» in 2011–2013 and data processing of herbarium collection SARAT and other researchers. The annotated list is presented. It includes 65 species. Among them one specie (*Cladonia acuminata*) is new for the Saratov Region, two species (*Cladonia decorticata*, *Cl. botrytes*) are new for the Privolzhskaya Upland. Four species (*Cladonia acuminata*, *Cladonia decorticata*, *Parmelina*



quercina, *Pseudevernia furfuracea*) are offered for inclusion in the new edition of the Red Book of the Saratov Region.

Key words: lichens, lichen flora, Saratov Region, National Park «Khvalynsky».

Национальный парк «Хвалынский» расположен в Хвалынском районе в северной части Саратовской области на стыке Среднего и Нижнего Поволжья, занимает останцовый массив Приволжской возвышенности «Хвалыньские горы». Общий характер рельефа возвышенный, пере-сеченный хорошо выраженной овражно-балочной сетью, холмисто-грядовый. Максимальная абсолютная высота – 369 м. Территория сложена отдельными плоскими массивами, останцами и грядами из пород меловой системы [1]. Климат территории НП «Хвалынский» континентальный, с резкими суточными, сезонными и годовыми колебаниями температуры воздуха и почв, с теплым и сухим летом, умеренно холодной и малоснежной зимой. Средняя годовая сумма осадков около 425–450 мм [1, 2]. Почвенный покров довольно сложный, в нем хорошо выражены черноземы карбонатные. На плоских водоразделах преобладают черноземы обыкновенные. Под лесной растительностью на супесчаных и суглинистых бескарбонатных породах сформировались серые лесные почвы. Гранулометрический состав почв чаще всего суглинистый и супесчаный [3]. Для исследованной территории характерна степная и лесная растительность. Леса тяготеют к высоким водораздельным поверхностям, склонам и балкам, на равнинах уступая место луговым степям [4].

Ранее лишенофлора НП «Хвалынский» специально не изучалась.

Данное сообщение основывается на материалах (более 300 образцов), собранных во время полевых сезонов 2011–2013 гг. в ходе маршрутных исследований, а также на сведениях гербарных образцов коллекции фонда Гербария Саратовского государственного университета (SARAT) и данных других исследователей [5–8]. Определение образцов проводилось по стандартным методикам [9]. Названия таксонов даны в соответствии с последней сводкой по лишайникам Фенноскандии [10].

Места сборов образцов

/Хв/ – окр. Хвалынска, 52°28–29' с. ш., 48°03–06' в. д., степь на склоне холма и широколиственный лес на вершине холма, Т. Дудорева, 2008 г.

[Хв] – окр. Хвалынска, сосняк, ивняк, липняк, осинник, березняк, М. Павлова, Куренева, 1956 г.;

СМЛ – Сосново-Мазинское лесничество (кварталы 46, 55 и 60), сухой сосновый лес, ландшафтный липняк, осоковый липово-дубовый лес, степные поляны в дубняках, Антонова, 1956 г.; лиственный лес 52°28'23" с. ш., 48°00'51" в. д., Е. Козырева, 2013 г.

СМ – окр. с. Сосновая Маза, 52°30–31' с. ш., 47°55–56' в. д., сосновые посадки, лиственный лес на холмах, Е. Козырева, VII 2013 г.

СЯ – окр. с. Старая Яблонка, 52°23–24' с. ш., 48°01–03' в. д., смешанный лес по С-3 склону, Е. Козырева, VII 2013 г.

СБ – окр. детского лагеря «Сосновый бор» и дома отдыха «Черемшаны», 52°29–30' с. ш., 48°02–03' в. д., лиственный лес на вершине холма, поросшая ослинником осыпь, Е. Козырева, 5–7.VII 2011; кленовик у лагеря, сосняк на склоне близ лагеря, Е. Козырева, VII 2013 г.

ЧЗ – окр. с. Черный Затон, 52°43–44' с. ш., 48°19–20' в. д., разнотравно-луговые сообщества на склоне надпойменной террасы, нарушенные степные сообщества, Е. Козырева, 06. VII 2011 г.

ХВ – Хвалынский водораздел, 52°28–30' с. ш., 48°01–04' в. д., лиственный лес у экологической тропы, Е. Козырева, VII 2012 г.; смешанные, лиственные леса на склонах и вершине водораздела, открытые участки степи на вершине водораздела, Е. Козырева, V, VII 2013 г.

Звездочкой обозначены виды, впервые указанные для НП «Хвалынский» (как части Приволжской возвышенности), полужирным шрифтом выделен вид, новый для Саратовской области.

1. *Anaptychia ciliaris* (L.) Körb. – /Хв/, СМ, СМЛ, ХВ. На коре лиственных пород в смешанных и лиственных лесах.

2. *Aspicilia contorta* (Hoffm.) Kremp. – /Хв/. На голых камнях на степных участках.

3. *Athallia pyracea* (Ach.) Arup, Frödén & Söchting – [Хв], /Хв/. На коре тополя, плотной сухой древесине и сухих остатках кустарничков в лиственных лесах, в степях и на лугах.

4. *Candelariella xanthostigma* (Ach.) Lettau – ХВ. На коре лиственных пород деревьев в смешанных лесах.

5. *Bryoria capillaris* (Ach.) Brodo et D. Hawksw. – СБ. На коре сосны в сосняке.

6. *Cladonia acuminata* (Ach.) Norrl. – ХВ. На почве на участке степи среди сосновых посадок.

7. *Cladonia botrytes** (K. G. Hagen) Willd. – СМ. На пне в лиственном лесу.

8. *Cladonia cariosa* (Ach.) Spreng. – ЧЗ. На песчаной почве в нарушенном степном сообществе.



9. *Cladonia chlorophaea* (Flörke ex. Sommerf.) Spreng. s. lat. – ХВ. На почве на степных участках, на комлевой части деревьев лиственных пород среди мха.
10. *Cladonia coniocraea* (Flörke) Spreng. – СМ, ЧЗ, СБ, ХВ. На песчаной почве в нарушенном степном сообществе; среди мха на комле березы, дуба; на пнях в лиственных и смешанных лесах.
11. *Cladonia decorticata** (Flörke) Spreng. – ХВ. На растительных остатках и песчаных почвах на открытых степных участках.
12. *Cladonia fimbriata* (L.) Fr. – /Хв/, [Хв], СБ, ЧЗ, СМ, ХВ. На почве и растительных остатках на участках луговых степей; на пнях и у основания деревьев среди мха в лиственных и сосновых лесах.
13. *Cladonia macilenta* Hoffm. – /Хв/. На гниющей древесине.
14. *Cladonia pyxidata* (L.) Hoffm. – ХВ. На песчаной почве степных участков среди сосновых посадок.
15. *Cladonia rangiferina* (L.) Weber ex F. H. Wigg. – СМЛ, СБ. В сухом сосновом лесу; на гниющей древесине в сосняке.
16. *Cladonia rei* Schaer. – ЧЗ, ХВ, СБ. На песчаной почве в нарушенном степном сообществе, среди мха в разнотравно-луговой степи и на степных участках среди сосновых посадок; на растительных остатках; на почве у основания березы.
17. *Diplotomma alboatrum* (Hoffm.) Flot. – /Хв/. На кварцевых камнях у обочины тропы на опушке сосново-широколиственного леса.
18. *Evernia mesomorpha* Nyl. – СМ, ХВ. На коре дуба (реже березы) в лиственных и смешанных лесах.
19. *Evernia prunastri* (L.) Ach. – /Хв/, СМЛ, СМ, ХВ, СБ, СЯ. На сухих деревьях, на коре деревьев лиственных и хвойных пород в смешанных и лиственных (кленовник, липо-дубняк) лесах.
20. *Flavoplaca citrina* (Hoffm.) Arup, Frödén & Søchting s. lat. На голых камешках в степях.
21. *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. – СБ, ХВ, /Хв/. На коре лиственных и хвойных пород в смешанных лесах.
22. *Hypogymnia tubulosa* (Schaer.) Hav. – СБ. На коре березы в лиственном лесу.
23. *Lecania cyrtella* (Ach.) Th. Fr. – /Хв/. На коре сосен в лесопосадках.
24. *Lecanora albella* (Pers.) Ach. – [Хв]. На коре в липовом лесу (опр. Е. Штукенберг).
25. *Lecanora albellula* (Nyl.) Th. Fr. – /Хв/. На коре лиственных и хвойных пород деревьев и гниющей древесине в лиственных, смешанных лесах.
26. *Lecanora allophana* Nyl. – [Хв], /Хв/, ХВ. На коре лиственных пород деревьев в лиственных и смешанных лесах.
27. *Lecanora carpinea* (L.) Vain. – /Хв/. На коре лиственных пород деревьев в лиственных лесах.
28. *Lecanora chlarotera* Nyl. – /Хв/. На коре лиственных пород деревьев в лесах.
29. *Lecanora dispersa* (Pers.) Sommerf. – /Хв/. На голых камнях и сухих остатках кустарничков в степях.
30. *Lecanora hagenii* (Ach.) Ach. – /Хв/. На коре лиственных и хвойных пород деревьев в лесах.
31. *Lecanora populicola* (DC.) Duby – /Хв/. На коре тополя и осины в лиственных лесах и лесопосадках.
32. *Lecanora pulicaris* (Pers.) Ach. – /Хв/. На коре лиственных и хвойных пород деревьев в сосновом, сосново-широколиственном лесах и в лесопосадках.
33. *Lecanora varia* (Hoffm.) Ach. – /Хв/. На оголенной древесине и коре лиственных пород деревьев в смешанных и лиственных лесах.
34. *Lecidella euphorea* (Flörke) Hertel – /Хв/. На коре деревьев лиственных пород в сосновом и лиственном лесах.
35. *Melanelixia glabra* (Schaer.) O. Blanco et al. – [Хв], /Хв/, СЯ, ХВ. На сухих деревьях, на коре лиственных пород деревьев в смешанных и лиственных (ивняк, кленовник) лесах.
36. *Melanelixia subargentifera* (Nyl.) O. Blanco et al. – [Хв], /Хв/, СМ, СБ. На коре лиственных пород деревьев в лесах и лесопосадках.
37. *Melanohalea exasperata* (De Not.) O. Blanco et al. – /Хв/, [Хв], ХВ. На коре лиственных пород деревьев в лесопосадках и лиственных лесах.
38. *Oxneria fallax* (Hepp) S. Kondr. & Kärnefelt – ХВ, /Хв/, СБ. На коре лиственных пород деревьев в лиственных лесах.
39. *Parmelia sulcata* Tayl. – /Хв/, [Хв], СМ, СЯ, ХВ, СБ. На коре лиственных пород деревьев, реже на разлагающейся древесине в лиственных и смешанных лесах. Редко в сосновых посадках.
40. *Parmelina quercina* (Willd.) Hale – [Хв]. На коре сосны в сосновом лесу.
41. *Parmelina tiliacea* (Hoffm.) Hale – ХВ, СБ. На погибшей осине; на березе, липе, дубе в лиственном и смешанном лесах.
42. *Parmeliopsis ambigua* (Wulf.) Nyl. – [Хв], СБ, ХВ. На сосне в смешанном и сосновом лесах.
43. *Peltigera canina* (L.) Willd. – ХВ, [Хв]. На почве среди мха у основания дерева в смешанном и сосновом лесах.



44. *Peltigera rufescens* (Weiss) Humb. – [Хв]. В сосновом лесу.

45. *Phaeophyscia nigricans* (Flörke) Moberg – /Хв/. На коре лиственных пород деревьев в лиственных лесах.

46. *Phaeophyscia orbicularis* (Neck.) Moberg – /Хв/, СЯ. На гниющей древесине в лесопосадках и смешанном лесу.

47. *Physcia adscendens* (Fr.) H. Oliver – /Хв/, ХВ, СБ. На ветках дуба, на коре лиственных пород в лиственных и смешанных лесах.

48. *Physcia aipolia* (Ehrh. ex Humb.) Fürnr. – /Хв/, СМ, СЯ, ХВ. На коре лиственных пород деревьев в смешанных и лиственных лесах, лесопосадках.

49. *Physcia dimidiata* (Arnold) Nyl. – /Хв/. На коре лиственных пород деревьев в лиственных лесах.

50. *Physcia stellaris* (L.) Nyl. – /Хв/, [Хв], СМЛ, СЯ, ХВ. На коре лиственных пород в смешанных и лиственных лесах, лесопосадках.

51. *Physcia tenella* (Scop.) DC. in Lam. & DC. – [Хв]. На коре лиственных пород в осиннике, липняке.

52. *Physconia detersa* (Nyl.) Poelt – СБ. На коре дуба в лиственном лесу.

53. *Physconia distorta* (With.) J. R. Laundon – /Хв/, [Хв], СЯ, СБ, ХВ. На коре лиственных пород в смешанных и лиственных лесах.

54. *Physconia enteroxantha* (Nyl.) Poelt – /Хв/, СМ, ХВ, СБ, СЯ. На коре лиственных пород деревьев в смешанных и лиственных лесах, лесопосадках. Реже среди мха.

55. *Physconia perisidiosa* (Erichsen) Moberg – ХВ. На коре липы в лиственном лесу.

56. *Pleurosticta acetabulum* (Neck.) Elix & Lumbsch – /Хв/, [Хв], СЯ, ХВ, СМ. На сухих деревьях; на коре лиственных пород в смешанных и лиственных лесах (липо-дубняк, кленовик), лесопосадках.

57. *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf – [Хв], ХВ. На коре сосны в смешанном лесу.

58. *Rinodina pyrina* (Ach.) Arnold – /Хв/. На коре лиственных пород деревьев в лиственных лесах.

59. *Rufoplaca arenaria* (Pers.) Arup, Søchting & Frödén – /Хв/. На голых камнях на лугоvine.

60. *Scoliosporum chlorococcum* (Graewe ex Stenh.) Vězda – /Хв/. На коре хвойных пород деревьев в смешанных лесах.

61. *Trapeliopsis flexuosa* (Fr.) Coppins et P. James – /Хв/. На коре березы и на гниющей древесине в лиственных лесах.

62. *Tuckermanopsis chlorophylla* (Willd.) Hale – /Хв/. На коре лиственных пород деревьев в смешанных и лиственных лесах.

63. *Usnea hirta* Webb. in Wigg. – СМ, ХВ. На коре дуба и сосны в смешанных лесах.

64. *Vulpicida pinastri* (Scop.) J.-E. Mattson et Lai – СБ, ХВ. На коре березы и сосны в лиственном лесу и сосновом бору.

65. *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. – /Хв/, [Хв], СМ, СЯ, ХВ. На коре лиственных пород деревьев в смешанных и лиственных лесах, посадках.

В результате исследования составлен аннотированный список лишайников, содержащий 65 видов. Среди представленных видов один (*Cladonia acuminata* (Ach.) Norrl.) является новым для территории Саратовской области, два (*Cladonia decorticata* (Flörke) Spreng., *Cl. botrytes* (K. G. Hagen) Willd.) – новыми для Приволжской возвышенности.

Четыре вида лишайников (*Cladonia acuminata* (Ach.) Norrl., *Cladonia decorticata* (Flörke) Spreng., *Parmelina quercina* (Willd.) Hale, *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf) предлагается авторами к внесению в новое издание Красной книги Саратовской области.

Авторы выражают благодарность Т. А. Дудоревой за помощь в определении лишайников рода *Cladonia*.

Список литературы

1. Учебно-краеведческий атлас Саратовской области. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2013. 144 с.
2. Пряхина С. И. Климат Саратовской области // Энциклопедия Саратовского края (в очерках, фактах, событиях, лицах). Саратов : Приволж. кн. изд-во, 2002. С. 24–28.
3. Болдырев В. А., Степанов М. В., Архипова Е. А. Национальный парк «Хвалынский» // Почвы заповедников и национальных парков Российской Федерации. М. : НИИ-Природа – Фонд «Инфосфера», 2012. С. 251–253.
4. Пискунов В. В. Растительность Саратовской области // Энциклопедия Саратовского края (в очерках, фактах, событиях, лицах). Саратов : Приволж. кн. изд-во, 2002. С. 143–146.
5. Дайковский В. С. Эпифлеодные и эпигейные лишайники некоторых районов Правобережья Саратовской области // Вопросы ботаники Юго-Востока. Флора. Растительность. Физиология : межвуз. науч. сб. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 1984. С. 97–99.
6. Дудорева Т. А., Гимельбрант Д. Е. Предварительный список лишайников окрестностей г. Хвалынска (Са-



- ратовская область) // Вестн. Твер. гос. ун-та. 2009. Сер. Биология и экология. Вып. 16, № 37. С. 144–148.
7. Шустов М. В. Лишайники Приволжской возвышенности. М. : Наука, 2006. 237 с.
 8. Еленкин А. А. Флора лишайников Средней России : в 4 ч. Юрьев : Б. И., 1906–1911. Ч. 1–4.
 9. Флора лишайников России : Биология, экология, разнообразие, распространение и методы изучения

лишайников. М. ; СПб. : Т-во науч. изд. КМК, 2014. С. 204–220.

10. Nordin A., Moberg R., Tønsberg T., Vitikainen O., Dalsätt Å., Myrdal M., Snitting D., Ekman S. Santesson's Checklist of Fennoscandian Lichenforming and Lichenicolous Fungi, version 29 April 2011. [Electronic resources]. 2011. URL : <http://130.238.83.220/santesson/home.php> (дата обращения: 08.12.2014).

УДК 504.064:574.21

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ИНДИКАЦИЯ ПОЧВ НАД ПОДЗЕМНЫМ ХРАНИЛИЩЕМ ПРИРОДНОГО ГАЗА

Т. О. Полещук, Е. В. Плешакова, М. В. Решетников, И. С. Пальцев

Саратовский государственный университет
E-mail: plekat@rambler.ru



Проведена микробиологическая индикация почв над Степновским подземным хранилищем природного газа на основе оценки численности гетеротрофных, углеводородокисляющих и метилотрофных бактерий. Обнаружено повышенное содержание микроорганизмов индикаторных физиологических групп, что свидетельствует о поступлении метана в верхние слои почвы. Показана возможность использования углеводородокисляющих и метилотрофных бактерий для экологического мониторинга почв в районах газовых хранилищ.

Ключевые слова: подземное хранилище природного газа, метан, гетеротрофные микроорганизмы, углеводородокисляющие и метилотрофные бактерии.

Microbiological Indication of Soil above the Underground Storage of Natural Gas

T. O. Poleshchuk, Ye. V. Pleshakova,
M. V. Reshetnikov, I. S. Paltsev

Microbiological indication of soil over Stepnovskoye underground storage of natural gas was carried out on the basis of estimating the number of heterotrophic, hydrocarbon-oxidizing and methylotrophic bacteria. Increased number of microorganisms of test physiological groups were found, indicating the admission of methane in the upper layers of the soil. The possibility of using hydrocarbon-oxidizing and methylotrophic bacteria for environmental monitoring of soil in the areas of natural gas storage facilities was shown.

Key words: underground storage of natural gas, methane, heterotrophic microorganisms hydrocarbon-oxidizing and methylotrophic bacteria.

В настоящее время промышленная и хозяйственная деятельность человека все чаще становится основным источником загрязнения атмосферы. Добыча, транспортировка и хранение природного газа приводят к загрязнению окружающей среды. Этому способствует утечка

газа из искусственных газовых залежей. Миграция метана, основного компонента природного газа, из пласта-коллектора по системе вертикальной и горизонтальной трещиноватости геологических структур способствует увеличению его концентрации в атмосфере. Важную роль в регулировании потоков метана играет почвенный покров, в котором происходит микробиологическое окисление этого газа с образованием конечных продуктов – диоксида углерода и воды. Промежуточными продуктами являются метанол, формиат и формальдегид. Процесс метаноокисления снижает выделение метана, но в то же время приводит к увеличению концентрации углекислого газа в почве и его эмиссии в атмосферу.

Почва является регулятором биосферных взаимодействий, функционируя, она контролирует и трансформирует проходящие через нее потоки и циклы вещества и энергии. Почвенный покров выступает как своеобразная полупроницаемая мембрана, осуществляющая газообмен между атмосферой и литосферой [1]. В настоящее время наиболее остро стоят проблемы увеличения метана в атмосфере, содержание которого за последние два столетия возросло почти втрое, что, по-видимому, связано с дисбалансом продуцирования, разложения и трансформации метана.

Впервые углеводороды, мигрировавшие из находящихся на глубине газонефтяных залежей, были обнаружены у земной поверхности российскими и американскими геологами в 30-х гг. XX столетия [2, 3]. Это явление В. И. Вер-



надский назвал «газовым дыханием Земли». Миграция газа к поверхности обусловлена наличием трещиноватости геологических структур. Даже породы – флюидопоры, представленные глинами и каменной солью, не являются абсолютным непроницаемым экраном для газового миграционного потока. Вокруг залежей образуются вертикальные и пластовые ореолы рассеяния, характеризующиеся аномальными (по сравнению с фоном) значениями геохимических показателей. Максимальные концентрации углеводородных газов наблюдаются над контуром нефтегазоносности. Среди них превалирует метан. Характерно постоянное присутствие тяжелых гомологов метана. Газовые углеводородные аномалии проявляют пульсационный характер в подпочвенном воздухе, это явление зависит от сезона [3]. В водоносных горизонтах максимальные концентрации метана фиксируются в весенний период. Снижение концентраций газов и возрастание интенсивности развития углеводородоксилирующей микрофлоры в летний период объясняется повышением температуры. В осенний период снова наблюдается быстрое накопление метана в воде в результате снижения жизнедеятельности метанооксилирующих бактерий [4].

В природных условиях процесс бактериального окисления метана осуществляют облигатные метилотрофные микроорганизмы (метанотрофы), использующие в качестве углеродного источника питания метан и его одноуглеродные замещенные и окисленные производные, а также факультативные метилотрофы, ассимилирующие как одноуглеродные соединения – метанол, формальдегид, метиламины, так и другие органические вещества [5].

Актуальными экологическими проблемами дальнейшего использования существующих разрабатываемых газовых месторождений и

подземных газохранилищ является исследование биогеохимических циклов парниковых газов в биосфере, влияния последних на функционирование почвенной системы и формирование почв, функционально-экологических особенностей почв газоносных территорий [6].

В связи с вышесказанным целью настоящего исследования явилась биодиагностика почв над подземным хранилищем газа с помощью микробиологического анализа. В ходе работы оценивались: общая численность гетеротрофных микроорганизмов, количество углеводородоксилирующих микроорганизмов и метилотрофных бактерий в почвенных образцах. Также решалась задача по выявлению взаимосвязи между физико-химическими показателями почвенных образцов, отобранных над подземным хранилищем газа, и численностью микроорганизмов исследованных физиологических групп.

Материалы и методы

Объектом исследования явились образцы почв, отобранные на территории Степновского подземного хранилища газа Саратовской области. Отбор почвенных проб производился в июле 2013 г. группой студентов и преподавателей геологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. На рис. 1 представлена карта исследованной территории с точками отбора проб почвы, жирным шрифтом выделены точки, из которых почва подвергалась микробиологическому анализу.

Глубина взятия проб составляла 0,1 м. В отобранных почвенных пробах был определен водородный показатель, окислительно-восстановительный потенциал и магнитная восприимчивость – показатель, косвенно отражающий концентрацию железа в почве [7]. Эти данные представлены в таблице.

Физико-химические показатели исследованных образцов почв

Номер пробы	pH	Eh, мВ	k (10 ⁻⁵ ед. СИ)	Почва
1	7,86	-27,5	38,1	Суглинок легкий
2	7,69	-19,2	45,0	Суглинок средний
3	6,72	33,5	33,3	Суглинок легкий
4	7,55	-11,2	29,7	Суглинок тяжелый
5	6,94	21,1	75,8	Суглинок средний
6	7,87	-28,7	57,2	Суглинок средний
7	7,16	9,9	59,3	Суглинок легкий
8	7,99	-34,4	51,1	Суглинок средний
9	7,18	8,9	45,7	Суглинок легкий

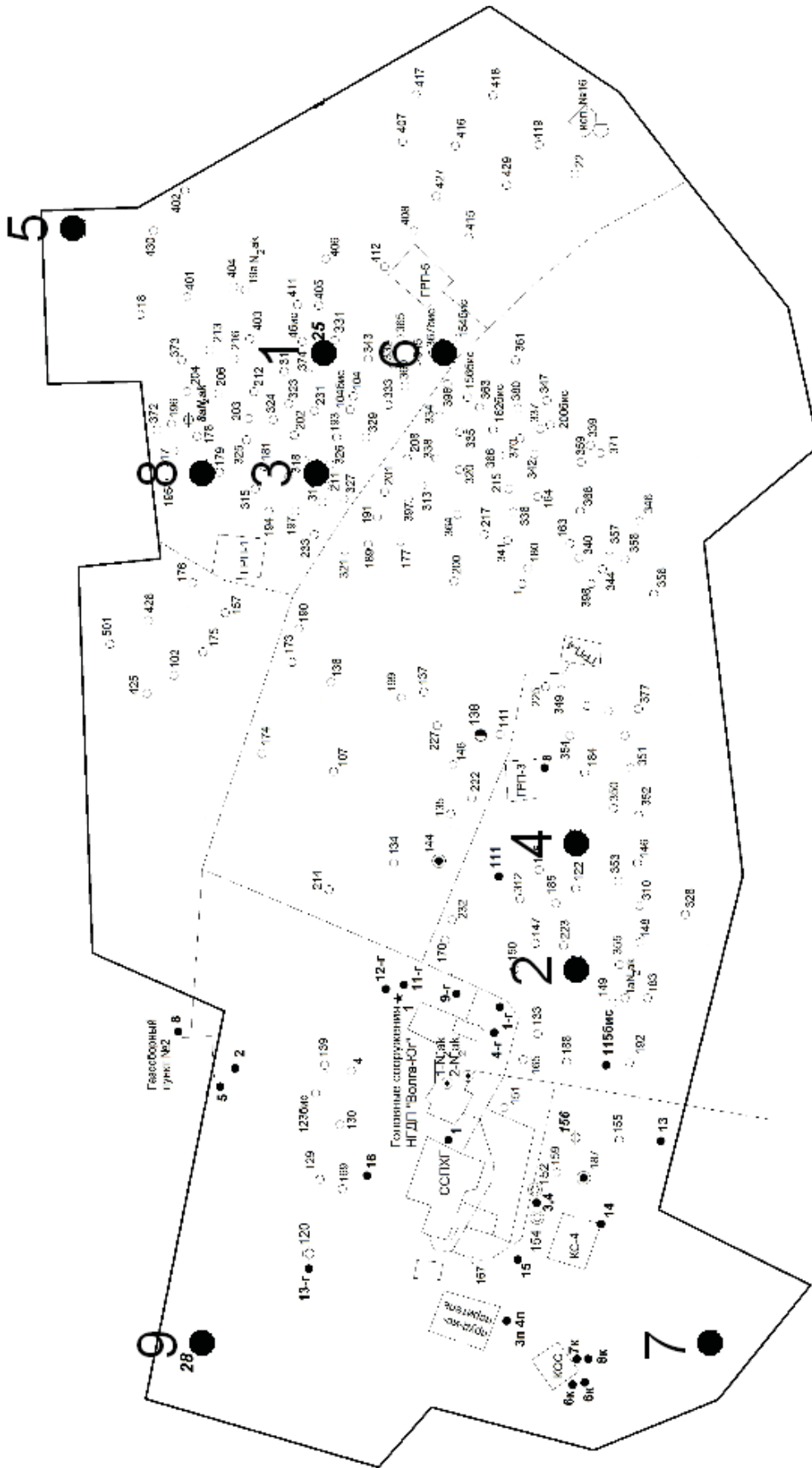


Рис. 1. Карта отбора проб в районе Степновского подземного хранилища газа Саратовской области



Оценку общей численности гетеротрофных микроорганизмов производили на МПА общепринятыми бактериологическими методами [8]. Количество углеводородокисляющих микроорганизмов оценивали на агаризованной минеральной среде с вазелиновым маслом (1%) в качестве единственного источника углерода и энергии; метилотрофных бактерий – на минеральной среде Хирша с метанолом (0,4%) [9]. Определение численности микроорганизмов (гетеротрофных, метилотрофных и углеводородокисляющих) в исследуемой почве включало несколько этапов: подготовку почвы к микробному анализу (гомогенизация), приготовление разведений почвенной суспензии в стерильном физиологическом растворе; посев полученных разведений на плотную среду в чашки Петри и подсчет выросших колоний через 3–5 сут. культивирования в термостате при температуре 28°C. Высевы на МПА и на селективные среды для учета численности метилотрофных и углеводородокисляющих бактерий производили из разведений 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} в нескольких повторностях.

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с применением пакета прикладных программ Microsoft Excel 2003 (для Windows XP).

Результаты и их обсуждение

Загрязнение почв углеводородами приводит к ухудшению их агрохимических и агрофизических характеристик, повышению фитотоксичности почв. Общеизвестно, что углеводороды в значительной мере влияют на почвенный микробоценоз и биохимические процессы [10, 11].

Существует несколько методологических подходов к оценке экологического состояния почв. На наш взгляд, наиболее чувствительным является микробиологический метод. Микробиота полифункциональна, и, участвуя в противоположных реакциях, осуществляет стабилизирующую функцию метаболического равновесия в природе. Благодаря большой поверхности контакта со средой, микроорганизмы очень чувствительны к меняющимся условиям существования, а высокая скорость размножения дает возможность в короткий срок выявлять изменения, которые возникают под влиянием экологических факторов.

Над разрабатываемыми газовыми и нефтяными месторождениями установлено повышенное содержание углеводородных газов, увеличение содержания углеводородокисляющих

микроорганизмов по сравнению с фоновыми почвами. Авторами [12, 13] показано формирование газовых и бактериальных аномалий по проявлению эмиссии метана в атмосферу, увеличению активности бактериального окисления метана, снижению и широкому варьированию окислительно-восстановительного потенциала в почвах над подземными газохранилищами. Участие углеводородных газов и продуктов их микробиологического преобразования в почвообразовании газоносных территорий рассматривалось с позиций увеличения биомассы метилотрофных микроорганизмов, формирования органического углерода и азота.

В исследованных нами пробах почвы над Степновским подземным хранилищем природного газа общая численность гетеротрофных микроорганизмов различалась в разных вариантах. В образцах № 2, 3, 4, 5 и 7 она составляла от 5 до 10×10^5 КОЕ/г почвы (рис. 2). В вариантах № 1 и 6 количество гетеротрофных микроорганизмов было больше, составляя 25 и 48×10^5 КОЕ/г почвы. И, наконец, два образца почвы отличались высокой численностью гетеротрофных бактерий, на 1–2 порядка выше, чем в других пробах, в варианте № 9 она равнялась 75×10^5 КОЕ/г почвы, № 8 – 685×10^5 КОЕ/г почвы.

Для анализа нами были выбраны также две физиологические группы микроорганизмов: метилотрофные и углеводородокисляющие бактерии. Различий в численности углеводородокисляющих бактерий в почвенных образцах было меньше, их содержание в среднем было от 2 до 39×10^5 КОЕ/г почвы (см. рис. 2).

Сравнивая количество гетеротрофных и углеводородокисляющих бактерий в пробах, можно отметить, что в образцах № 3, 4 и 7 количество углеводородокисляющих микроорганизмов было выше, чем гетеротрофных. Такое повышенное содержание углеводородокисляющей микрофлоры связано, по всей видимости, с селективным воздействием соответствующих субстратов. Поэтому выявленные особенности могут косвенно свидетельствовать о присутствии в почве углеводородов.

Численность метилотрофных микроорганизмов варьировала в разных образцах почвы от 6 до 60×10^5 КОЕ/г почвы (см. рис. 2). При сравнении количества гетеротрофных и метилотрофных бактерий в пробах было отмечено, что в образцах № 3, 5 и 7 содержание метилотрофных микроорганизмов было выше, чем гетеротрофных (см. рис. 2). Образцы почв № 3 и 7 также характеризовались повышенной численностью углеводородокисляющих бактерий.



Рис. 2. Численность углеводородоокисляющих, метилотрофных и гетеротрофных бактерий в почвенных пробах

Обращает на себя внимание тот факт, что в почвенных образцах № 5, 7 и 9 количество метилотрофных микроорганизмов выше, чем углеводородоокисляющих (в среднем в 2 раза), что свидетельствует о развитии в почве не только факультативных метилотрофов, но и облигатных. Это является косвенным доказательством наличия метана в верхнем горизонте почв над подземным хранилищем газа.

Таким образом, нами по результатам микробиологического анализа выделены образцы, которые отличались повышенным содержанием метилотрофных и углеводородоокисляющих бактерий: это, прежде всего, образцы № 3 и 7, в меньшей степени – № 4, 5 и 9. Данные образцы характеризовались также повышенным, по сравнению с другими пробами, окислительно-восстановительным потенциалом (см. таблицу). Большая часть окислительно-восстановительных реакций в почве имеет биохимическую природу и связана с микробиологическими процессами. Положительные значения редокс-потенциала почвы отражают преобладание в ней реакций окисления органических веществ, а также, возможно, реакций, связанных с превращением азота серы и окислением железа и марганца. Достоверных корреляционных взаимосвязей между магнитной восприимчивостью почвы и изученными микробиологическими показателями выявить не удалось.

В целом микробиологический анализ почвы над подземным хранилищем газа выявил в ряде образцов (№ 3, 4, 5, 7 и 9) характерные отличия

в содержании микроорганизмов индикаторных физиологических групп (углеводородоокисляющих и метилотрофных), которые позволяют говорить о поступлении метана в верхние слои почвы, возможно, вследствие нарушения условий хранения газа или природных геологических особенностей.

Заключение

Проникновение газов из нижележащих слоев и формаций в более высоко расположенные горизонты и толщи сопровождается образованием сквозных газовых и бактериальных аномалий, расположенных друг над другом. Формирование бактериальных аномалий происходит в обозримо короткий срок вслед за появлением углеводородных газов в покровной толще пород. В отдельных случаях бактериальные аномалии фиксируются раньше газовых и помогают обнаруживать зоны скопления блуждающих газов, а также, что особенно важно, способствуют резкому снижению содержания метана и тяжелых углеводородов в толще покровных отложений.

Нами при исследовании почвенных проб над Степновским подземным хранилищем природного газа выявлены образцы с повышенным содержанием метилотрофных и углеводородоокисляющих бактерий. В почвенных образцах № 5, 7 и 9 обнаружены облигатные и факультативные метилотрофы, что является косвенным доказательством содержания метана в верхнем почвенном горизонте над подземным хранилищем газа.



Результаты микробиологической индикации почв свидетельствуют о наличии углеводородных газов в контуре нефтегазоносности, что может способствовать поиску источника газопроявления.

В целом представляется перспективным использование показателей численности исследованных физиологических групп метилотрофных и углеводородокисляющих бактерий для экологического мониторинга почв в районах газовых хранилищ.

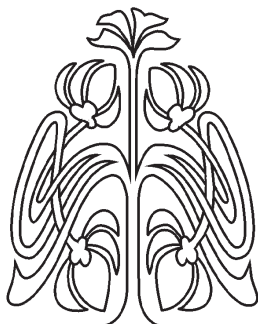
Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках государственного задания в сфере научной деятельности (задание № 1757).

Список литературы

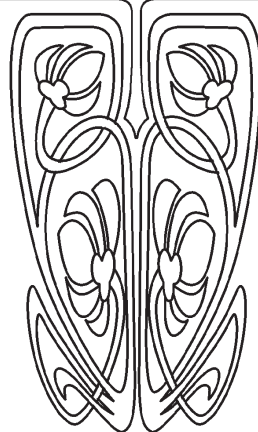
1. Розанов Б. Г. Геомембрана : мембранная функция почвы в планетарной геосферной системе Земли // Почвоведение. 1988. № 7. С. 54–58.
2. Перельман А. И. Геохимия. М. : Высш. шк., 1989. 528 с.
3. Пиковский Ю. И. Природные и техногенные потоки углеводородов в окружающей среде. М. : Изд-во МГУ, 1993. 208 с.
4. Оборин А. А., Ившина И. Б., Бердичевская М. В. О природных экологических факторах, влияющих на жизнедеятельность углеводородокисляющей микрофлоры // Геомикробиология поиска и разведки нефтяных месторождений. Тр. Ин-та биологии. Свердловск : УНЦ АН СССР, 1979. Вып. 124. С. 30–38.
5. Можарова Н. В. Функционирование и формирование почв над подземными хранилищами природного газа : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2009. 48 с.
6. Таргульян В. О. Элементарные почвообразовательные процессы // Почвоведение. 2005. № 12. С. 1413–1422.
7. Решетников М. В. Магнитная индикация почв городских территорий (на примере г. Саратова). Саратов : Сарат. гос. техн. ун-т, 2011. 152 с.
8. Практикум по микробиологии : учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / под ред. А. И. Нетрусова. М. : Академия, 2005. 608 с.
9. Почвенные микроорганизмы : прокариоты, выделение, учет и идентификация : учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / под ред. Е. Г. Инешина. Улан-Удэ : Изд-во ВСГТУ, 2007. 143 с.
10. Азнаурьян Д. К. Изменение эколого-биологических свойств почв Юга России при загрязнении нефтью : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ростов н/Д, 2009. 22 с.
11. Dorn P. B., Salanitro J. P. Temporal ecological assessment of oil contaminated soils before and after bioremediation // Chemosphere. 2000. Vol. 40. P. 419–426.
12. Можарова Н. В., Пронина В. В., Иванов А. В., Шоба С. А., Загурский А. М. Формирование магнитных оксидов железа в почвах над подземными хранилищами газа // Почвоведение. 2007. № 6. С. 707–720.
13. Строганова М. Н. Магнитная восприимчивость почв урбанизированных территорий (на примере города Москвы) // Доклады по экологическому почвоведению. 2012. № 1, вып. 16. С. 40–80.



ЭКОЛОГИЯ



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ



УДК 581.526

НОВЫЕ ДАННЫЕ О ГАЛОФИТНОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

О. Н. Давиденко¹, С. А. Невский¹, Т. М. Лысенко²

¹Саратовский государственный университет

E-mail: biosovet@sgu.ru

²Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти

E-mail: ltm2000@mail.ru

Статья посвящена новым для Саратовской области ассоциациям галофитной растительности. Для каждого сообщества приведены диагностические виды, полный видовой состав, количественное соотношение видов. Обработка и интерпретация полученных материалов проведены с позиций эколого-флористического подхода.

Ключевые слова: галофитная растительность, эколого-флористический подход, Саратовская область.

New Data on the Halophytic Vegetation of the Saratov Region

O. N. Davidenko, S. A. Nevskiy, T. M. Lysenko

This article is devoted to new halophytic vegetation associations of the Saratov region. The diagnostic species, full species composition, proportion of species are defined for each community. Processing and interpretation of obtained materials held in terms of ecological-floristic approach.

Key words: halophytic vegetation, ecological-floristic approach, Saratov region.

В 2010–2013 гг. был опубликован ряд статей по растительности засоленных почв Поволжья [1–8], основанных на использовании эколого-флористического подхода [9]. Работы по исследованию разнообразия галофитной растительности Поволжья продолжают, в том числе и на уровне отдельных регионов. Для территории Саратовской области в последние годы появилось несколько обобщающих работ, рассматривающих вопросы современного состава и структуры галофитной растительности, а также особенностей ее динамики [10–13]. Однако существующее разнообразие галофитной растительности Саратовской области выявлено еще не полностью, о чем свидетельствуют находки новых ассоциаций.

В данной статье дается описание новых ассоциаций галофитной растительности, выявленных на территории Саратовского Заповольжья в 2011–2012 гг. Описание растительности проводилось по стандартным геоботаническим методикам [14–15] в естественных границах фитоценозов. Обработка и интерпретация полученных материалов проведена с позиций эколого-флористического подхода [9]. Новые ассоциации выделены и названы в соответствии с «Международным кодексом фитосоциологической номенклатуры» [16], латинские названия растений приведены по сводке С. К. Черепанова [17]. Проективное покрытие видов растений в таблицах приведено по шкале Б. М. Миркина [18]: менее 1% – +,



1–5% – 1, 6–15% – 2, 16–25% – 3, 26–50% – 4, более 50% – 5.

Ассоциация *Suaeda acuminatae–Ofaistonetum monandri* ass. nov. hoc loco (табл. 1, номенклатурный тип (holotypus) – описание 3). Диагностические виды: *Ofaiston monandrum*, *Suaeda acuminata*, *Salicornia perennans*. В составе сообществ ассоциации насчитывается 4–6 видов растений (см. табл. 1). Доминируют *Ofaiston*

monandrum и *Suaeda acuminata*. Общее проективное покрытие 40–60%. Подъярусы не выделены. Сообщества описаны в Озинском районе на побережье озера Большой Морец на солончаках, а также известны их местонахождения на террасе р. Соленая Куба близ с. Кано Старополтавского района Волгоградской области на солончаках луговых. Фитоценозы занимают небольшие площади и подвержены значительному выпасу скота.

Таблица 1

Характеристика ассоциации *Suaeda acuminatae–Ofaistonetum monandri* ass. nov. hoc loco

Дата выполнения описания	03.08.2011							28.09.2013	Постоянство, %
Размер площадки, м ²	4	4	4	4	4	4	4	16	
ОПП, %	50	60	40	50	55	60	40	70	
Число видов в описании	4	6	5	4	4	6	5	4	
Порядковый номер описания	1	2	3	4	5	6	7	8	
Диагностические виды ассоциации									
<i>Ofaiston monandrum</i>	4	4	3	3	3	3	3	4	100 ³
<i>Suaeda acuminata</i>	3	3	2	3	3	2	2	3	100 ³
<i>Salicornia perennans</i>	1	1	1	.	1	1	2	.	75 ¹
Прочие виды									
<i>Lepidium perfoliatum</i>	.	1	2	.	1	+	1	.	63
<i>Artemisia santonica</i>	.	1	.	1	.	.	1	2	50
<i>Puccinellia distans</i>	.	1	1	.	.	2	.	.	38
<i>Suaeda salsa</i>	1	.	.	1	.	1	.	.	38
<i>Limonium gmelinii</i>	2	13

Примечание. Места выполнения описаний: Саратовская область, Озинский район, окрестности оз. Большой Морец – оп. 1–7; Волгоградская область, Старополтавский район, окрестности с. Кано, терраса р. Соленая Куба. Авторы описаний: О. Н. Давиденко (1–5), С. А. Невский (6–7), Т. М. Лысенко (8).

Ofaiston monandrum-сообщество (табл. 2). Флористический состав сообществ крайне беден, не более трех видов (см. табл. 2). Абсолютно до-

минирует *Ofaiston monandrum*. Общее проективное покрытие варьирует от 15 до 30%. Травостой разреженный, деление на подъярусы не выражено.

Таблица 2

Характеристика *Ofaiston monandrum*-сообщества

Дата описания	03.08.2011					15.06.2012					Постоянство, %
Размер площадки, м ²	2	2	2	4	4	4	10	4	9	4	
ОПП, %	20	30	20	25	15	20	25	20	30	25	
Число видов в описании	2	2	2	3	2	1	2	3	2	2	
Порядковый номер описания	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
<i>Ofaiston monandrum</i>	2	3	3	3	2	2	3	3	4	3	100 ³
<i>Polygonum salsugineum</i>	.	+	1	1	30
<i>Atriplex sp.</i>	.	.	.	1	.	.	1	.	.	.	20
<i>Lepidium perfoliatum</i>	1	.	.	1	.	.	20
<i>Salicornia perennans</i>	.	.	.	1	.	.	.	1	.	.	20
<i>Artemisia santonica</i>	1	10
<i>Puccinellia distans</i>	.	.	1	10

Примечание. Места выполнения описаний: Саратовская область, Озинский район, окрестности оз. Большой Морец (1–6); Саратовская область, Озинский район, окрестности пос. Балаши (7–10). Автор описаний О. Н. Давиденко.



Ofaiston monandrum-сообщества описаны в Озинском районе Саратовской области в окрестностях оз. Большой Морец на засоленной почве, размытой талыми и дождевыми водами, и в окрестностях пос. Балаши на побережье р. Большой Камышлак на антропогенно нарушенном участке с засоленными почвогрунтами.

Ассоциация *Hymenolobum procumbens* ass. nov. hoc loco (табл. 3, номенклатурный

тип (holotypus) – описание 1). Диагностические виды: *Hymenolobus procumbens*, *Limonium gmelinii*. Флористическое богатство ценозов невысоко – 3–8 видов (табл. 3). Абсолютно доминирует *Hymenolobus procumbens*. Общее проективное покрытие составляет 40–50%. Деление травостоя на подъярусы не выражено в связи с малым проективным покрытием сопутствующих видов.

Таблица 3

Характеристика ассоциации *Hymenolobum procumbens* ass. nov. hoc loco

Дата описания	07.05.2012	08.05.2012	09.05.12						Постоянство, %
Размер площадки, м ²	4	2	4	9	2	4	4	4	
ОПП, %	45	40	40	50	50	45	40	50	
Число видов в описании	4	8	7	4	4	6	3	3	
Порядковый номер описания	1	2	3	4	5	6	7	8	
Диагностические виды ассоциации									
<i>Hymenolobus procumbens</i>	4	4	4	4	4	4	4	4	100 ⁴
<i>Limonium gmelinii</i>	1	1	1	1	.	1	1	.	75 ¹
Прочие виды									
<i>Limonium caspium</i>	1	.	1	1	1	.	.	.	50
<i>Berteroa incana</i>	.	+	.	.	1	1	.	.	38
<i>Elytrigia repens</i>	.	.	+	.	.	.	+	1	38
<i>Eremopyron orientale</i>	.	1	+	.	.	1	.	.	38
<i>Puccinellia distans</i>	.	+	1	.	1	.	.	.	38
<i>Salicornia perennans</i>	.	1	.	.	.	1	.	1	38
<i>Lepidium perfoliatum</i>	.	+	.	.	.	+	.	.	25
<i>Suaeda prostrata</i>	.	1	.	1	25
<i>Artemisia santonica</i>	.	.	1	13
<i>Puccinellia tenuissima</i>	+	13

Примечание. Места выполнения описаний: Саратовская область, Озинский район, побережье оз. Большой Морец. Авторы описаний: С. А. Невский (1, 7–8), О. Н. Давиденко (2–6).

Фитоценозы, относящиеся к данной ассоциации, были описаны в Озинском районе на побережье оз. Большой Морец на солончаках типичных.

Ассоциация *Hymenolobo procumbentis-Limonietum caspici* ass. nov. hoc loco (табл. 4, номенклатурный тип (holotypus) – описание 1). Диагностические виды: *Limonium caspium*, *Hymenolobus procumbens*. В составе ассоциации насчитывается до 13 видов растений (см. табл. 4), число видов в фитоценозе – 3–6. Доминируют *Limonium caspium* и *Hymenolobus procumbens*. Общее проективное покрытие 55–60%. В структуре сообществ четко выделяются два подъяруса. Первый образован *Limonium caspium* и некоторыми сопутствующими видами (*Berteroa incana*, *Elytrigia repens*, *Puccinellia distans*); его высота 25–30 см. Второй под-

ярус, высотой до 15 см, сложен *Hymenolobus procumbens*.

Сообщества данной ассоциации также были описаны на солончаках типичных побережья озера Большой Морец.

Ассоциация *Salicornio perennantis-Frankenetum hirsutae* ass. nov. hoc loco (табл. 5, номенклатурный тип (holotypus) – описание 8). Диагностические виды: *Salicornia perennans*, *Frankenia hirsuta*. В составе ассоциации отмечено 15 видов, в отдельных описаниях 5–9 видов. Доминирует *Frankenia hirsuta*, *Salicornia perennans* выступает содоминантом. Общее проективное покрытие 40–60%. Травостой четко разделен на два подъяруса. Первый, высотой до 20 см, образован содоминантом и некоторыми сопутствующими видами (*Bassia sedoides*, *Limonium gmelinii*). Второй ярус высотой до 7 см сложен доминантом.



Таблица 4

Характеристика ассоциации *Hymenolobus procumbentis*–*Limonietum caspici* ass. nov. hoc loco.

Дата описания	08.05.2012						09.05.12			Постоянство, %
Размер площадки, м ²	25	25	9	9	25	25	9	9	25	
ОПП, %	60	60	55	60	50	60	55	60	60	
Число видов в описании	4	5	5	4	3	6	4	4	4	
Порядковый номер описания	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Диагностические виды ассоциации										
<i>Limonium caspium</i>	4	4	4	4	4	4	4	4	4	100 ⁴
<i>Hymenolobus procumbens</i>	3	3	2	3	2	3	2	3	3	100 ³
Прочие виды										
<i>Elytrigia repens</i>	.	1	+	1	.	.	+	.	.	44
<i>Artemisia santonica</i>	1	.	.	1	1	33
<i>Eremopyron orientale</i>	.	.	.	1	.	+	.	1	.	33
<i>Erigeron acris</i>	.	1	.	.	+	1	.	.	.	33
<i>Berteroa incana</i>	.	+	.	.	.	1	.	.	.	22
<i>Limonium gmelinii</i>	1	1	.	.	22
<i>Puccinellia tenuissima</i>	1	1	22
<i>Suaeda prostrata</i>	.	1	.	.	.	1	.	.	.	22
<i>Puccinellia distans</i>	.	.	1	11
<i>Salicornia perennans</i>	.	.	1	11

Примечание. Места выполнения описаний: Саратовская область, Озинский район, побережье оз. Большой Морец. Авторы описаний: О. Н. Давиденко (1–7), С. А. Невский (8–9).

Таблица 5

Характеристика ассоциации *Salicornia perennans*–*Frankenietum hirsutae* ass. nov. hoc loco.

Дата описания	03.08.2011		04.08.2011		16.07.2012					Постоянство, %
Размер площадки, м ²	2	4	4	4	4	4	4	4	4	
ОПП, %	40	50	60	40	45	40	55	40	50	
Число видов в описании	5	6	9	7	6	6	5	5	6	
Порядковый номер описания	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Диагностические виды										
<i>Salicornia perennans</i>	2	3	3	2	2	2	2	2	3	100 ²
<i>Frankenia hirsuta</i>	3	3	4	3	3	3	3	3	3	100 ³
Прочие виды										
<i>Poa bulbosa</i>	1	.	1	1	1	.	1	1	.	67 ¹
<i>Bassia sedoides</i>	.	+	1	1	+	.	.	.	+	56
<i>Lepidium perfoliatum</i>	+	.	1	1	.	1	.	+	.	56
<i>Elytrigia repens</i>	1	+	1	+	44
<i>Puccinellia distans</i>	.	1	1	.	1	.	.	.	1	44
<i>Limonium gmelinii</i>	.	.	1	.	.	1	1	.	.	33
<i>Polygonum salsugineum</i>	.	+	.	.	1	.	.	.	+	33
<i>Artemisia santonica</i>	.	.	.	1	.	.	1	.	.	22
<i>Rumex sp.</i>	.	.	+	.	.	1	.	.	.	22
<i>Atriplex sp.</i>	.	.	+	11
<i>Phragmites australis</i>	1	.	.	.	11
<i>Puccinellia tenuissima</i>	.	.	.	1	11

Примечание. Места выполнения описаний: Саратовская область, Озинский район, побережье оз. Большой Морец. Автор описаний О. Н. Давиденко.



Сообщества данной ассоциации также были описаны на солончаках в прибрежной зоне озера Большой Морец. Все фитоценозы подвергаются значительному вытаптыванию в результате выпаса скота.

Список литературы

1. *Лысенко Т. М., Раков Н. С.* Растительность засоленных почв Северного Низкого Заволжья (Ульяновская и Самарская области) // Растительность России. 2010. № 16. С. 27–39.
2. *Лысенко Т. М.* К характеристике растительности засоленных почв Самарской области // Современные проблемы популяционной экологии, геоботаники, систематики и флористики : материалы междунар. науч. конф., посвящ. 110-летию А. А. Уранова. Кострома, 31 окт. – 3 нояб. 2011 г. Кострома, 2011. С. 45–48.
3. *Лысенко Т. М.* Растительность засоленных почв бассейна Средней Волги // Изв. СамНЦ РАН. 2011 б. Т. 15, № 1 (5). С. 101–106.
4. *Лысенко Т. М., Митрошенкова А. Е., Шубина В. И.* Новые данные о растительности засоленных почв Нижнего Поволжья // Изв. СамНЦ РАН. 2013. Т. 15, № 3. С. 112–116.
5. *Лысенко Т. М., Митрошенкова А. Е.* Растительность засоленных гидроморфных экотопов озер Эльтон и Баскунчак (Волгоградская и Астраханская области) // Изв. СамНЦ РАН. 2011. Т. 13, № 1 (4). С. 863–870.
6. *Лысенко Т. М.* Новые данные о растительных сообществах солонцовых почв в степной зоне (Россия и Казахстан) // Изв. СамНЦ РАН. 2013. Т. 15, № 3 (2). С. 731–740.
7. *Лысенко Т. М.* Характеристика растительного покрова солонцовых почв особо охраняемых природных территорий – озер Эльтон и Баскунчак // Вектор науки Тольят. гос. ун-та. 2013. № 2 (24). С. 47–53.
8. *Лысенко Т. М.* Разнообразие растительных сообществ засоленных почв в Поволжье и вопросы их охраны // Изв. СамНЦ РАН. 2012. Т. 14, № 1 (4). С. 1061–1064.
9. *Braun-Blanquet J.* Pflanzensoziologie. Wien ; N.Y. : Springer-Verlag, 1964. 865 s.
10. *Гребенюк С. И.* Растительность засоленных почв / Биоразнообразии и охрана природы в Саратовской области : в 4 кн. Кн. 3. Растительность. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2011. С. 60–79.
11. *Невский С. А., Давиденко О. Н., Пискунов В. В., Давиденко Т. Н.* Растительные комплексы побережий солоноватых озер восточной части саратовского Заволжья // Изв. СамНЦ РАН. 2012. Т. 14, № 1 (4). С. 1077–1079.
12. *Давиденко О. Н., Невский С. А.* Особенности современной структуры и динамики степной и галофитной растительности Саратовского Заволжья // Живые и биокосные системы. 2013. Вып. 3. URL: <http://www.jbks.ru/archive/issue-3/article-17>.
13. *Давиденко О. Н., Невский С. А., Гребенюк С. И., Давиденко Т. Н., Фомкина Л. Н., Фомкин Ю. К.* Современное состояние растительного покрова и пути сохранения фиторазнообразия Саратовского Заволжья. Саратов : ИЦ Наука, 2013. 145 с.
14. *Юнатов А. А.* Типы и содержание геоботанических исследований. Выбор пробных площадей и заложение экологических профилей // Полевая геоботаника. М. ; Л. : Изд-во АН СССР, 1964. Т. 3. С. 9–36.
15. *Матвеев Н. М.* Биоэкологический анализ флоры и растительности (на примере лесостепной и степной зоны) : учеб. пособие. Самара : Самар. ун-т, 2006. 311 с.
16. *Weber H. E., Moravec J., Theurillat J. -P.* International Code of Phytosociological Nomenclature. 3rd ed. // J. Veg. Sci. 2000. Vol. 1. P. 739–768.
17. *Черепанов С. К.* Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). СПб. : Мир и семья, 1995. 992 с.
18. *Миркин Б. М., Розенберг Г. С., Наумова Л. Г.* Словарь понятий и терминов современной фитоценологии. М. : Наука, 1989. 223 с.

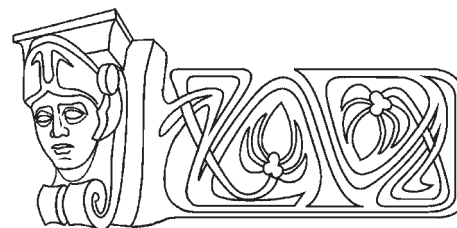


УДК 502.13(470.5-751.2)

ПАМЯТНИК ПРИРОДЫ «ЕЛИЗАВЕТИНСКИЕ ГОРНЫЕ СТЕПИ» – ИТОГИ 45 ЛЕТ ИССЛЕДОВАНИЙ (Свердловская область)

Н. В. Золотарева, Е. Н. Подгаевская

Институт экологии растений и животных Уро РАН, Екатеринбург
E-mail: nvr@ipae.uran.ru



Исследовано современное состояние реликтового фрагмента степной растительности в пределах бореальной зоны, выявлены изменения, произошедшие за последние 45 лет. Показана стабильность видового состава исследованного степного фрагмента, а также сокращение его площади в результате зарастания сосной.

Ключевые слова: памятники природы, охраняемые территории, горные степи, Свердловская область.

Current State of «Elizavetinsk Mountain Steppes»: Results of 45-years Investigation (Sverdlovsk Oblast)

N. V. Zolotareva, E. N. Podgaevskaya

Current state of the relict fragment of steppe vegetation in boreal zone was studied. At the same time the changes that have been happening during the last 45 years were revealed. Species composition stability and area reduction of the studied fragment as a consequence of *Pinus sylvestris* expansion were shown.

Key words: natural landmarks, conservation area, mountain steppes, Sverdlovsk Oblast.

Степная растительность на территории Свердловской области имеет реликтовый характер, представлена изолированными островами небольшой площади. Значительная часть местобитаний горных степей на территории области относится к памятникам природы – наименее охраняемой категории ООПТ, в связи с чем возникает необходимость инвентаризации видового состава степных участков и дальнейшего фитомониторинга.

Елизаветинские горные степи – фрагмент реликтовой степной растительности, расположенный на Уктусских горах в черте г. Екатеринбурга. Степная растительность Уктусских гор привлекала внимание многих исследователей, но основные работы по ее изучению были выполнены В. И. Прокаевым (1967, 1980 гг.), М. М. Сторожевой (1987 г.) и С. В. Баландиным (1995–1996 гг.) [1–4]. Степная растительность приурочена к выходам дунитов и перидотитов и представлена небольшими фрагментами в окружении остепненных сосновых лесов (подзона южной тайги). С конца 60-х гг. XX в. отмечено существенное сокращение как числа, так и пло-

щади степных участков – из 11 ранее описанных участков 4 прекратили свое существование в результате разработки дунитов, сохранилось только 7, 3 из них практически исчезли в результате зарастания сосной [4]. Уктусские горы, особенно в своей северной части, подвергаются интенсивному антропогенному воздействию, существовавшие там когда-то степные сообщества деградировали, по скальным уступам и склонам встречаются отдельные группировки степных видов. Наиболее интересные и хорошо сохранившиеся фрагменты степной растительности Уктусских гор расположены на правом склоне Елизаветинского лога, спускающегося к р. Патрушихе – это Елизаветинские горные степи (56° 44' 7" с.ш., 60° 37' 3.8" в.д.), ботанический памятник природы, представляющий большое научно-познавательное значение как местонахождение видов и сообществ степных растений, значительно удаленных на север от своего основного ареала. Целью нашего исследования было выявление фитообразия степных участков памятника природы «Елизаветинские горные степи», оценка его современного состояния, природоохранной значимости, а также изменений, произошедших за последние 45 лет.

Рассматриваемый памятник природы имеет площадь 15 га, располагается на достаточно крутом и коротком юго-западном склоне Елизаветинского лога. Большую часть территории памятника природы занимают остепненные сосновые леса, существующие на контакте с участками степной растительности. В травяно-кустарничковом ярусе доминируют *Rubus saxatilis* L., *Calamagrostis arundinacea* (L.) Roth., высокое обилие имеют *Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv. и *Vaccinium vitisidaea* L., в составе сообщества постоянно присутствуют такие степные и лесостепные виды, как *Aconogonon alpinum* (All.) Schur, *Aster alpinus* L., *Centaurea sibirica* L., *Chamaecytisus ruthenicus* Klaskova, *Dianthus versicolor* Fisch. ex Link, *Echinops crispus* S. Majorov, *Euphorbia gmelinii* Steud., *Festuca valesiaca* Gaudin, *Galium verum* L., *Genista tinctoria* L., *Pulsatilla uralensis*



(Zām.) Tzvel., *Veronica spicata* L. и др. На каменистых выпуклых взлобках в верхней части склона среди лесной растительности встречаются фрагменты пустынноовсецовой степи с ракитником русским, в общей сложности их площадь равна 80 м². Наиболее крупный степной участок ранее имел размеры 30×100 м [1], сейчас же его размеры сократились до 30×20 м, степная растительность частично заместила молодым сосновым лесом с разреженным травяным покровом (пп травяного яруса 35%), в котором преобладают *Carex caryophylla* Latourr., *Echinops crispus*, *Veronica spicata*. На сохранившемся участке степной растительности в верхней и средней частях крутого склона располагается наиболее ксерофитная злаково-мордовниковая степь, в нижней части склона находятся кустарниковые степи: клубнично-злаковая с ракитником русским и спиреей городчатой и клубнично-перистоковыльная со спиреей городчатой; восточная часть склона занята степными фитоценозами с обильным подростом сосны (пп=25–30%, h=22–114 см): тонконогово-мордовниковой степью в верхней части склона и расположенной под ней мордовниково-пустынноовсецовой – в нижней.

Первые подробные данные о растительности рассматриваемого степного фрагмента содержатся в работе В. И. Прокаева [1], где он приводит описание 2 фитоценозов, занимающих верхнюю и нижнюю части степного участка. В 1980 г. растительность степного склона подвергалась сильному антропогенному воздействию: отмечено большое количество костровищ, выбитых участков, травостой был разрежен и обеднен, в верхней части склона увеличилась роль типчака, в нижней – почти исчез ковыль, его ости вырывались отдыхающими [2]. В 1995–1996 гг. С. В. Баландин обследовал рассматриваемый фрагмент степной растительности и сделал описание наибольшего по площади сообщества. Длительная история изучения этого ботанического объекта дает возможность оценить динамику растительности и видового состава. В верхней и средней частях степного фрагмента, на наиболее прогреваемом участке склона в 1967 г. располагалась мордовниково-типчаковая каменистая степь, которая в 1995–1996 гг. сменилась сибирско-вазильково-мордовниковой степью с одиночными деревьями сосны до 90 см высотой (таблица), а в 2012 г. некогда единое сообщество распалось на 2 – злаково-мордовниковую степь (1-1 в таблице), занимающую взлобок, и тонконогово-мордовниковую степь с подростом сосны на выровненной части склона (1-2 в таблице). В 1995–1996 гг. С. В. Баландин отмечал единичные деревья со-

сны в степном сообществе, сейчас же подрост сосны активно развивается в восточной части степного участка, занимая полосу шириной 5 и длиной 15 м, где его проективное покрытие составляет 25–30%. Нижняя часть степного фрагмента в 1967 г. была занята ковыльно-разнотравной степью со спиреей городчатой, в 2001 г. отмечена сильная антропогенная трансформация сообщества, приведшая к смене доминантов. В 2012 г. в нижней части склона описаны два фитоценоза кустарниковой степи: клубнично-злаковая степь с ракитником русским и спиреей городчатой (2-1 в таблице) и клубнично-перистоковыльная степь со спиреей городчатой (2-2 в таблице).

Таким образом, за прошедшие 45 лет не отмечено существенных изменений в составе доминантов рассматриваемых степных сообществ – при снятии антропогенного воздействия происходит восстановление исходной растительности. Не отмечено также и существенного изменения видового состава на степном участке – 88% видов, указанных в 1967 г., и 100% – в 1996 г. произрастают в пределах исследованного памятника природы и сейчас. Исключения составляют такие виды, как *Eremogone saxatilis* (L.) Ikonn., *Galium tinctorium* (L.) Scop., (L.) Moench, *Verbascum thapsus* L., *Silene klokovii* Knjasev, отмеченные только в 1967 г. и в настоящее время на территории памятника природы нами не выявленные. При этом *Phlomis tuberosa* и *Verbascum thapsus* встречаются на степном участке, расположенном по склону Елизаветинского лога ближе к р. Патрушихе, *Silene klokovii* была найдена нами в 2011 г. в северной части Уктусских гор на скальных выходах, а *Eremogone saxatilis* и *Galium tinctorium* на Уктусских горах нами найдены не были и известны из работы М. М. Сторожевой (1980). Интересно также высокое обилие *Antennaria dioica* (L.) Gaertn. в составе типчаково-мордовниковой степи в 1967 г., в настоящее время этого вида нет на степном участке, но он является характерным элементом сухих сосновых лесов и в 2010–2013 гг. на территории памятника природы отмечен именно в этих сообществах. В настоящий момент рассматриваемый степной участок не подвергается сильному антропогенному воздействию, тем не менее, в составе степных сообществ с 1967 г. продолжает существовать такой синантропный вид, как *Pimpinella saxifraga* L., с 1996 г. – *Arenaria serpyllifolia* L., в 2010–2013 гг. нами отмечены не указанные ранее синантропные виды: *Lactuca tatarica* (L.) C. A. Mey., *Linaria vulgaris* L., *Pastinaca sativa* L.,


Описания степных фитоценозов памятника природы Елизаветинские горные степи за период 1967–2013 гг.

Вид	Присутствие видов на ООПТ в 2011–2013 гг.	Верхняя и средняя части склона				Нижняя часть склона		
		1967 г.*	1995–1996 гг.*	2013 г. *		1967 г.*	2010 г.*	
				1-1	1-2		2-1	2-2
1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Achillea asiatica</i> Serg.	+		+				+	1
<i>Aconogonon alpinum</i> (All.) Schur	+		+			sp.		
<i>Allium rubens</i> Schrad. ex Willd.	+		+	1	7			
<i>A. strictum</i> Schrad.	+	sp.				sol.	+	
<i>Amoria montana</i> (L.) Sojak	+			+		sp.	10	1
<i>Androsace septentrionalis</i> L.	+			+				
<i>Antennaria dioica</i> (L.) Gaertn.	+	cop ₁						
<i>Arenaria serpyllifolia</i> L.	+		+	+	1			
<i>Artemisia sericea</i> Web.	+	sp.	+					
<i>Asparagus officinalis</i> L.	+						+	
<i>Aster alpinus</i> L.	+	sp.	1	+	+			
<i>Astragalus danicus</i> Retz.	+					sp.		
<i>Bromopsis inermis</i> (Leys.) Holub	+						+	
<i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth	+						8	2
<i>Carex caryophylla</i> Latourr.	+		1	1	7		+	7
<i>C. praecox</i> Schreb.	+						20	1
<i>C. rhizina</i> Blytt ex Lindblom	+							3
<i>C. supina</i> Willd. ex Wahlenb.	+			5				10
<i>Centaurea sibirica</i> L.	+	cop ₁	2	5	3		3	
<i>Chamaecytisus ruthenicus</i> Klaskova	+		1	1	1	•	8	+
<i>Cirsium setosum</i> (Willd.) Bess.	+							1
<i>Cotoneaster melanocarpus</i> Fisch. ex Blytt	+	sol.				•		
<i>Dianthus versicolor</i> Fisch. ex Link	+		1	+	+			1
<i>Dracocephalum ruyschiana</i> L.	+					sp.		
<i>Echinops crispus</i> S. Majorov	+	cop ₁₋₂	2	25	20		5	7
<i>Elytrigia lolioides</i> (Kar. & Kir.) Nevski	+			+			+	
<i>E. repens</i> (L.) Nevski	+			+			+	
<i>Eremogone saxatilis</i> (L.) Ikonn.	–	sp.						
<i>Euphorbia gmelinii</i> Steud.	+	sp.		+	+	sol.		1
<i>Festuca valesiaca</i> Gaudin	+	cop ₂₋₃	1	3	5	cop ₁	+	1
<i>Filipendula stepposa</i> Juz.	+							1
<i>F. vulgaris</i> Moench	+					sol.	8	1
<i>Fragaria vesca</i> L.	+							1
<i>F. viridis</i> (Duch.) Weston	+		+			sp.		35
<i>Galium ruthenicum</i> Willd.	+		+	1				1
<i>G. tinctorium</i> (L.) Scop.	–					sp.		
<i>G. verum</i> L.	+					sol.	+	



Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Genista tinctoria</i> L.	+		1	1	+	●	1	
<i>Helictotrichon desertorum</i> (Less.) Nevski	+		+	+	+	sp.-cop. ₁		
<i>Hylotelephium triphyllum</i> (Haw.) Holub	+		+	+	+			
<i>Inula hirta</i> L.	+	sp.					1	
<i>I. salicina</i> L.	+						+	
<i>Koeleria cristata</i> (L.) Pers.	+	sp.		10	20		+	
<i>Lactuca tatarica</i> (L.) C.A.Mey.	+				+			
<i>Linaria vulgaris</i> L.	+							1
<i>Lupinaster albus</i> Link.	+		+	+		sp.		
<i>Onosma simplicissima</i> L.	+	sp.-cop. ₁						
<i>Pastinaca sativa</i> L.	+						1	
<i>Phleum phleoides</i> (L.) Karst.	+		+	15	10	cop. ₁	3	10
<i>Phlomis tuberosa</i> (L.) Moench	–					sp.		
<i>Pimpinella saxifraga</i> L.	+			+		sp.	+	1
<i>Plantago media</i> L.	+			+				
<i>P. urvillei</i> Opiz	+						3	
<i>Poa angustifolia</i> L.	+		+	3	+		25	
<i>Polygala wolfgangiana</i> Bess. ex Szafer, Kulcz. et Pawl.	+					sp.		
<i>Polygonatum odoratum</i> (Mill.) Druce	+					sp.		
<i>Potentilla argentea</i> L.	+	sp.		+				
<i>P. heidenreichii</i> Zimmeter	+						+	
<i>P. humifusa</i> Willd. ex Schlecht.	+	sp.	1	15	3	sol.	1	5
<i>Pulsatilla uralensis</i> (Zām.) Tzvel.	+		+			sp.		
<i>Ranunculus polyanthemus</i> L.	+						+	
<i>Rumex acetosella</i> L.	+			+	+			
<i>Scleranthus annuus</i> L.	+			+	+			
<i>Seseli libanotis</i> (L.) Koch	+			+		sol.		
<i>Silene amoena</i> L.	+		+		+			
<i>S. klokovii</i> Knjasev	+	sp.						
<i>S. nutans</i> L.	+	sol.	+	+	1		1	1
<i>Spiraea crenata</i> L.	+		+	1		●	5	20
<i>Stipa pennata</i> L.	+		+	+	+	cop. ₁₋₂	+	40
<i>Taraxacum officinale</i> s.l.	+			+			1	
<i>Thalictrum simplex</i> L.	+						1	3
<i>Trifolium pratense</i> L.	+						1	
<i>Verbascum thapsus</i> L.	–	sol.						
<i>Veronica chamaedrys</i> L.	+						+	
<i>V. spicata</i> L.	+	sp.	1	20	7	sol.	+	2
<i>Vincetoxicum hirundinaria</i> Medikus	+	sol.	+	1	1	sp.	+	3



Окончание таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Viola rupestris</i> F.W. Schmidt	+			+	+		1	
Число видов		20	28	37	25	28	38	28
Проективное покрытие (пп) трав. яр., %		70	40	75	70	Сомкнутый**	70	80
Пп куст. яр., %		–	<5	3	<1	Много кустарников**	15	20
Подрост <i>Pinus sylvestris</i> L. h, м/ пп, %		–	0,9/одиночн. деревца**	0.5/+	0.5/30	–	–	–
Экспозиция склона, гр. / крутизна, гр.		200/22–24			205/22		220/26	

Примечание. * – в 1967 г. обилие видов оценивалось по шкале Друде (Прокаев, Каргашин, 1980), ● – указано присутствие вида без информации об его обилии (Прокаев, 1968), в 1995–1996 гг. использовалась балльная шкала (+, 1-6) (Баландин, 2001), в 2010–2013 гг. проективное покрытие видов указано в %, «+» – пп менее 1%; ** – количественные данные отсутствуют, материалы приводятся в авторской редакции; названия фитоценозов см. в тексте.

Plantago media L., *Rumex acetosella* L., *Scleranthus annuus* L. Очевидна разная степень выявления исследователями видового состава рассматриваемых степных сообществ (см. таблицу), тем не менее, даже неполные данные о видовом составе 1967, 1995–1996 гг. позволяют оценить изменения произошедшие за последние 45 лет, но осуществление комплексного мониторинга возможно только при наличии полноценной основы.

Ранее нами был выработан комплекс информативных показателей, которые позволяют оценить природоохранную значимость и современное состояние реликтовых степных фрагментов: это число видов степного и лесостепного флористического комплекса, сохранившихся в конкретном местообитании, число эндемичных видов, охраняемых растений, а также число синантропных растений [5]. Наибольший интерес вызывает присутствие на исследованных участках растений степного и лесостепного флористического комплексов, которые в условиях бореальной зоны в большинстве своем являются реликтами и составляют основу видового богатства рассматриваемых горных степей. Под степными растениями мы вслед за П. Л. Горчаковским [6] понимаем виды, тесно связанные в своем распространении со степной зоной. Лесостепные растения характеризуются более широкой экологической амплитудой, встречаясь как на севере степной, так и на юге лесной зоны, но их экологический оптимум находится в зоне лесостепи. В пределах памятника природы «Елизаветинские горные степи» произрастают 44 вида степного и лесостепного флористического комплекса, что составляет 69 % всех степных и лесостепных видов, отмеченных на Уктусских горах: *Aconogonon alpinum*, *Allium rubens* Schrad.

ex Willd., *A. strictum* Schrad., *Amoria montana* (L.) Sojak, *Artemisia latifolia* Ledeb., *A. sericea* Web., *Asparagus officinalis* L., *Aster alpinus* L., *Campanula wolgensis* P. Smirn., *Carex caryophylllea*, *C. pediformis* C.A. Mey., *C. praecox* Schreb., *C. supina* Willd. *ex* Wahlenb., *Centaurea sibirica*, *Chamaecytisus ruthenicus*, *Cotoneaster melanocarpus* Fisch. *ex* Blytt, *Dianthus versicolor*, *Dracocephalum ruyschiana* L., *Echinops crispus*, *Elytrigia lolioides* (Kar. & Kir.) Nevski, *Euphorbia gmelinii*, *E. korshinskyi* Geltm., *Festuca valesiaca*, *Filipendula stepposa* Juz., *F. vulgaris* Moench, *Fragaria viridis* (Duch.) Weston, *Galium ruthenicum* Willd., *G. verum*, *Genista tinctoria*, *Geranium pseudosibiricum* J. Mayer, *Helictotrichon desertorum* (Less.) Nevski, *Inula hirta* L., *Koeleria cristata* (L.) Pers., *Lupinaster albus* Link., *Onosma simplicissima* L., *Phleum phleoides* (L.) Karst., *Potentilla humifusa* Willd. *ex* Schlecht., *Pulsatilla uralensis*, *Ranunculus polyanthemos* L., *Seseli libanotis* (L.) Koch, *Silene amoena* L., *Spiraea crenata* L., *Stipa pennata* L., *Veronica spicata*.

Эндемичные для Урала виды на территории памятника природы представлены *Euphorbia gmelinii*, *E. korshinskyi*. Отмечено 4 охраняемых вида, включенных в Красные книги РФ [7] – *Stipa pennata*, и Свердловской области [8] – *Asparagus officinalis*, *Aster alpinus*, *Pulsatilla uralensis*. Ошибочно для территории этого памятника природы указывался *Thymus uralensis* Klok. [8], встречающийся по скалам к р. Патрушихе в северной части Уктусского массива. Несмотря на умеренную антропогенную нагрузку и хорошую сохранность растительности данного памятника природы, в его границах выявлено 12 синантропных видов: *Arenaria serpyllifolia*, *Artemisia vulgaris* L., *Cirsium setosum* (Willd.) Bess., *Lactuca tatarica*,



Linaria vulgaris, *Pastinaca sativa*, *Pimpinella saxifraga*, *Plantago media*, *Rumex acetosella*, *Scleranthus annuus*, у подножья степного склона произрастает взрослый экземпляр *Ulmus minor* Mill., в подлеске остепненных сосновых лесов обычна ирга (*Amelanchier spicata* (Lam.) C. Koch).

Целый ряд видов, выявленных нами в пределах данного памятника природы, не отмечался ранее не только во флоре Уктусских гор [3], но и во флоре г. Екатеринбурга [9]: *Alchemilla breviloba* Н. Lindb., *Carex supina*, *Elytrigia lolioides*, *Euphorbia korshinskyi*; некоторые виды отмечены в черте г. Екатеринбурга как заносные, но прежде не были известны с Уктусских гор. Так, нами выявлено естественное местонахождение *Asparagus officinalis*, о чем свидетельствует также и богатый состав произрастающих здесь степных и лесостепных видов.

В последние десятилетия стало очевидным сокращение площадей, занятых степной растительностью на северном пределе ее распространения, степные участки исчезают вследствие зарастания сосной [4, 5], что является отражением глобальных преобразований экосистем, связанных с происходящими климатическими изменениями. В результате исследований, проведенных нами в 2010–2013 гг. на территории памятника природы «Елизаветинские горные степи», выявлено значительное сокращение участка степей – по сравнению с данными 1968 г. В. И. Прокаева, площадь степной растительности уменьшилась более чем в 2 раза. В настоящее время растительность памятника природы представляет комплекс степных и лесных фитоценозов, позволяющий проследить временную последовательность и выявить основные этапы зарастания горных степей [10]. При этом за прошедшие 45 лет не наблюдается существенного сокращения числа степных и лесостепных растений, хотя 6 из упоминаемых в 1967 г. видов в настоящий момент на территории рассматриваемого памятника природы не найдены, но выявлен ряд видов, ранее не известных для флоры г. Екатеринбурга.

Памятник природы «Елизаветинские горные степи» является одним из 9 ботанических памятников природы, созданных для сохранения степной растительности на территории Свердловской области. Остальные 8 ООПТ находятся в юго-западных районах Свердловской области и приурочены к территории Красноуфимской лесостепи, что определяет их большее флористическое и фитоценотическое разнообразие. Так, один из наиболее богатых участков степной растительности «Александровские степи и остепненная растительность на Алексан-

дровских сопках» включает 86 видов степного и лесостепного флористического комплекса, 12 охраняемых и 7 эндемичных видов [5]. Северное местоположение Елизаветинских степей, малая площадь степных фитоценозов определяют небольшое фиторазнообразие. Тем не менее, рассматриваемый памятник природы имеет как природоохранное, так и научно-познавательное значение, являясь доступным местом проведения ботанических экскурсий для студентов екатеринбургских вузов, а также представляет интерес как полигон для исследования динамики экстразональной степной растительности на северном пределе ее распространения.

Работа выполнена при поддержке РФФИ и Правительства Свердловской области (проект № 13-04-96057), Уральского отделения РАН (проект № 12-44-005-СГ).

Список литературы

1. Прокаев В. И. Степная растительность Уктусских гор в г. Свердловске // Учен. зап. Свердл. гос. пед. ин-та. 1968. Сб. 80, вып. 5. С. 75–86.
2. Прокаев В. И., Каргашин А. А. Ботанический памятник природы «Уктусские горы» на Среднем Урале // Продуктивность и рациональное использование растительности Урала. Свердловск : УНЦ АН СССР, 1980. С. 109–117.
3. Сторожева М. М. Флора и растительность Уктусских гор (Средний Урал). Препринт. Свердловск : УНЦ АН СССР, 1987. 68 с.
4. Баладин С. В. Динамика степной растительности Уктусских гор (Средний Урал) // Бот. журн. 2001. Т. 86, № 5. С. 103–110.
5. Золотарева Н. В., Подгаевская Е. Н. Современное состояние горных степей Свердловской области // Экология. 2012. № 5. С. 331–339.
6. Горчаковский П. Л. Красноуфимская лесостепь – ботанический феномен Предуралья // Бот. журн. 1967. Т. 52, № 11. С. 1574–1591.
7. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / гл. ред. Ю. П. Трутнев и др. М. : КМК, 2008. 855 с.
8. Красная книга Свердловской области : Животные, растения, грибы / сост. В. Н. Большаков и др. ; отв. ред. Н. С. Корытин. Екатеринбург : Баско, 2008. 256 с.
9. Третьякова А. С. Флора Екатеринбурга. Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2011. 192 с.
10. Золотарева Н. В. Закономерности динамики степной растительности Урала на северном пределе распространения // Современная ботаника в России. Труды XIII Съезда РБО : в 2 т. Т. 2 : Систематика и география сосудистых растений. Сравнительная флористика. Геоботаника. Тольятти : Кассандра, 2013. С. 223–225.

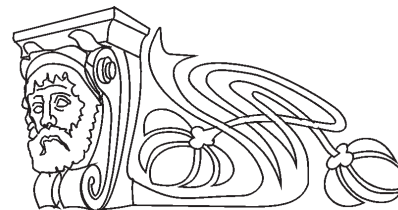


УДК 581.54

АДАПТАЦИИ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ ПОСЛЕ ТЕПЛООВОГО СТРЕССА В ПРИХОПЕРЬЕ

А. И. Золотухин, М. А. Занина

Балашовский институт
Саратовского государственного университета
E-mail: FEBZolotuhin@yandex.ru



Изучалось жизненное состояние древесных растений, имеющих различные уровни тепловых повреждений летом 2010 г. Показано, что у ряда видов неодинаково происходили частичное усыхание и гибель деревьев в насаждениях различного возраста и местобитаний. В благоприятной экологической среде они оставались здоровыми. Это мезофиты и мезогигрофиты, находящиеся на южной границе ареалов, в основном эксплеренты. Толерантны к тепловому стрессу деревья и кустарники пойменных лесов и отдельные интродуценты. В последние годы все неустойчивые к высоким температурам виды деревьев проходят адаптацию. Растет индекс жизненного состояния их древостоев. Происходит частичное или полное восстановление крон, отмечается обильное плодоношение.

Ключевые слова: древесные растения, тепловой стресс, адаптация, жизненное состояние древостоев, восстановление крон, Прихоперье.

The Adaptations of Woody Plants after a Thermal Stress in the Khopyor River Region

A. I. Zolotukhin, M. A. Zanina

The living state of woody plants having different levels of thermal damages in the summer of 2010 was studied. It is shown that a number of species had partial drying out and the death of trees unevenly in plantations of different age and localities. In a favourable ecological environment they remained healthy. They are mesophytes and mesohygrophytes which are on the southern border of the areas, mostly explerents. The trees and shrubs of floodplain forests and certain introducents are tolerant of a thermal stress. In recent years all species of trees which are intolerant of high temperatures have been adapting. The index of the living state of their forest stands is increasing. A partial or full recovery of crowns takes place, heavy bearing is registered.

Key words: woody plants, thermal stress, adaptation, living state of forest stands, recovery of crowns, Khopyor river region.

Изучение адаптации древесных растений к высоким температурам становится все более актуальным в связи с часто повторяющимися аномальной жарой и засухами. Высокие температуры приводят к гибели растений из-за обезвоживания, повреждения мембран, инактивации и денатурации белков, накопления ядовитых продуктов распада. Большинство растений повреждаются температурами немного выше

30°C, но имеют различные уровни устойчивости и механизмы адаптации к стрессовым тепловым воздействиям [1–4]. У древесных растений определялась жаростойкость лабораторными методами по летальной температуре листьев, что не позволяет проследить адаптацию различных видов к высоким температурам после проведения опытов [5–7]. Имеются многочисленные исследования пирогенных повреждений древесных растений и их репарации в послепожарный период [8, 9]. Влияние климатогенного теплового стресса на древесные растения и их последующая адаптация исследованы недостаточно. Целью данной работы стало обобщенное изучение состояния древесных растений, имеющих различный уровень тепловых повреждений летом 2010 г. [10].

Объекты и методы

Объекты исследований – естественные леса и культуры различных видов древесных растений, распространенные в городе Балашове и других населенных пунктах, в лесных полосах, в рукотворных лесных массивах. Подбирались насаждения в возрасте 30–50 лет, компактно расположенные в различных местообитаниях. Тепловые повреждения древесных растений определялись визуально по разработанной нами методике с учетом уровней усыхания и ожогов крон, наличия сухих вершин. Для этой цели составлена шкала на основе анализа диапазона морфологических изменений крон древесных растений: I класс – крона дерева не повреждена – все листья зеленые, термальные ожоги листьев единичны или отсутствуют – 1 балл; II класс – слабое повреждение: 15–25% кроны с высохшими или обожженными листьями – 2 балла; III класс – среднее повреждение: 25–50% кроны с высохшими или обожженными листьями – 3 балла; IV класс – сильное повреждение: 50–75% кроны с высохшими или обожженными листьями, возможно наличие суховершинности – 4 балла; V класс – очень сильное повреждение – от 75–100% кроны с



высохшими, обожженными листьями. Сухие вершины составляют около 50% кроны – 5 баллов. В каждом варианте исследовались 20–50 экземпляров деревьев. Средний балл вычислялся как средневзвешенное значение через число деревьев, составляющих определенный класс поврежденности. Диагностика жизненного состояния древесных растений определялась в 2011, 2012, 2014 гг. по методике В. А. Алексеева [11]. Сравнение современного состояния древостоев с уровнями их повреждений в 2010 г. позволяют определить особенности адаптаций древесных растений после перенесенного сильнейшего теплового стресса на популяционном уровне. Названия растений приводятся по П. Ф. Маевскому [12].

Результаты и их обсуждение

Летом 2010 г. дана оценка тепловых повреждений 38 видов древесных растений. Учитывая средние размеры баллов повреждений древесных растений в различных местообитаниях, были выделены четыре группы: сильно поврежденные (4,2–4,8 баллов), средне поврежденные (2,1–3,5 балла), слабо поврежденные (1,2–1,9 балла), без повреждений (1,0–1,1 балла). Не имели тепловых повреждений деревья и кустарники в естественных пойменных лесах. На фоне высоких температур и засухи летом 2010 г. отмечены повреждения листьев *Betula pendula*, *Populus balsamifera*, *Tilia cordata*, *Salix fragilis*, *S. alba* на 20–30% грибами, вирусами, насекомыми (минерами и тлей) (таблица).

Степень тепловых повреждений древесных растений летом 2010 г.

Сильно поврежденные 4,2–4,8 балла	Средне поврежденные 2,1–3,5 балла	Слабо поврежденные 1,2–1,9 балла	Без повреждений 1,0–1,1 балла
<i>Betula pendula</i>	<i>Ulmus laevis</i> *	<i>Syringa vulgaris</i>	<i>Pseudotsuga menziesii</i>
<i>Populus balsamifera</i>	<i>Tilia cordata</i> *	<i>Quercus robur</i>	<i>Populus italica</i>
<i>Sorbus aucuparia</i>	<i>Tilia platyphyllos</i>	<i>Caragana arborescens</i>	<i>Populus nigra</i>
<i>Sorbus intermedia</i>	<i>Picea abies</i>	<i>Robinia pseudoacacia</i>	<i>Populus deltoides</i>
<i>Padus avium</i>	<i>Acer negundo</i>	<i>Populus tremula</i> *	<i>Salix alba</i>
<i>Padus virginiana</i>	<i>Larix sibirica</i> **	<i>Picea pungens</i>	<i>Elaeagnus angustifolia</i>
<i>Aesculus hippocastanum</i>	<i>Acer tataricum</i>	<i>Pinus sylvestris</i> **	<i>Malus sylvestris</i>
<i>Ulmus laevis</i> **	<i>Salix cinerea</i>	<i>Salix fragilis</i> **	<i>Catalpa bignonioides</i>
<i>Thuja occidentalis</i> (обычная форма)	<i>Ulmus pumila</i>	<i>Thuja occidentalis</i> (нурма-дальняя форма)	<i>Pinus sylvestris</i> *
<i>Acer platanoides</i> **	<i>Acer platanoides</i> *	<i>Hippophae rhamnoides</i>	<i>Salix fragilis</i> *
<i>Tilia cordata</i> **	<i>Populus tremula</i> **	<i>Larix sibirica</i> *	<i>Robinia pseudoacacia</i>

Примечание. * – лесные массивы; ** – городские и дачные посадки.

В период с 2011 по 2014 г. нами проводился учет жизненного состояния древесных растений, получивших различные уровни повреждений или оказавшихся индифферентными к влиянию высоких температур и сильной засухи. Тополь бальзамический (*Populus balsamifera* L.) в 2010 г. пострадал от жары больше других представителей данного рода (см. таблицу). Он достаточно устойчив к действию техногенных факторов [13], но имеет невысокие показатели жаростойкости [6]. Индекс жизненного состояния тополя составляет 60,6–90,1% (рис. 1). У деревьев, имеющих 30–40% сухих сучьев в кронах, выросли из спящих почек ветви с густым облиствением почти по всему стволу. При этом деревья, имеющие второй и третий класс жизненного состояния, перешли в первый и второй соответственно. Показано, что тополь бальзамический в экстремальных лесорастительных условиях адаптируется за счет быстрого роста, адекватных

ответных реакций на морфологическом и ценопопуляционном уровнях на стресс [13].

Рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia*) летом 2010 г. получила значительные повреждения, после чего многие ее деревья в г. Балашове погибли. Индекс жизненного состояния ее древостоев летом 2014 г. составил 83,7–97,8% (см. рис. 1). Почти у трети обследованных деревьев рябины были обнаружены ожоги коры. У всех учтенных деревьев сформировались густые кроны, они обильно плодоносят, что свидетельствует об улучшении их жизненного состояния.

У березы повислой (*Betula pendula*), которая оказалась самой уязвимой к действию высоких температур, индекс жизненного состояния в разные годы наблюдений варьировал от 27,1 до 80,2%. Очень сильное ослабление береза имела в лесной полосе на супесчаных почвах и изреженных задерневших 50-летних культурах в парке около школы в селе Лесном (см. рис. 1).

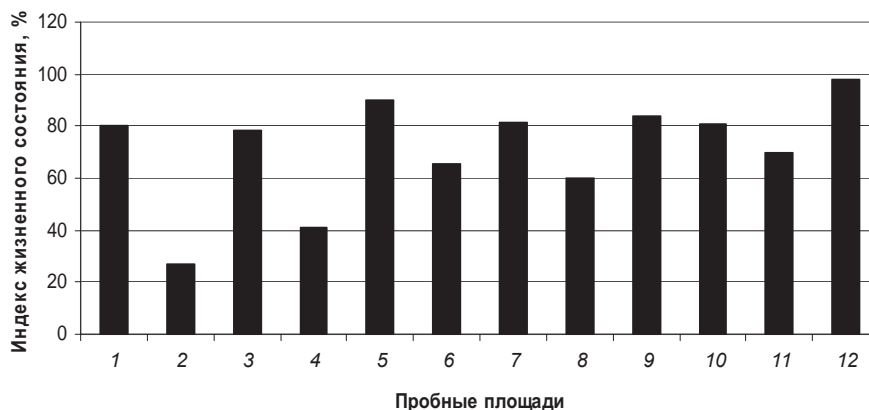


Рис. 1. Жизненное состояние древесных растений, имеющих сильные тепловые повреждения летом 2010 г.: береза повислая: 1 – г. Балашов (2011 г.); 2 – окрестности с. Б. Мелик (2011 г.); 3 – г. Балашов (2014 г.); 4 – с. Лесное (2014 г.); тополь бальзамический: 5 – п. Ветельный (2011 г.); 6 – г. Балашов (2011 г.); 7 – центр г. Балашова (2014 г.); 8 – г. Балашов, КПТ (2014 г.); рябина обыкновенная: 9 – г. Балашов (2011 г.); 10 – п. Ветельный (2011 г.); 11 – окрестности п. Мача (2011 г.); 12 – центр г. Балашова (2014 г.)

Здесь многие деревья березы высохли и погибли.

В более благоприятных экологических условиях, в лесном массиве Медвежий куст, 50-летние древостои березы летом 2011 г. имели индекс жизненного состояния равный 80,6%. На улицах и в парках г. Балашова летом 2014 г. береза оказалась здоровой или незначительно ослабленной. На многих деревьях происходит восстановление крон при наличии усохших на 20–25% скелетных верхушечных ветвей. Имеются многочисленные тонкие ветви в различных частях крон с густым облиствением. Восстановление крон березы происходит за счет роста побегов от стволов

из спящих почек. Деревья с высоким уровнем жизнеспособности обильно плодоносят.

На рис. 2 показано распределение деревьев березы с различным жизненным состоянием по ступеням толщины в нескольких местообитаниях. Видно, что количество погибших и сильно ослабленных берез распределяется по ступеням более или менее равномерно. Их количество на сельской территории пропорционально числу учтенных деревьев. Следовательно, отмирание березы не зависело от ее размеров. В г. Балашове березового сухостоя гораздо меньше, что связано с его вырубкой коммунальной службой.

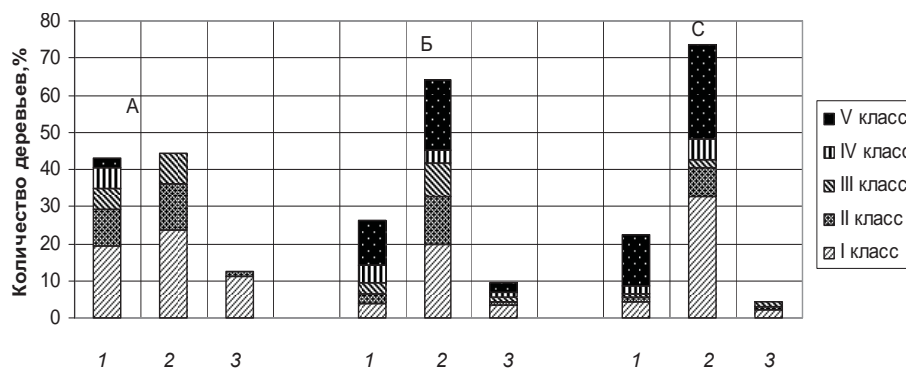


Рис. 2. Распределение деревьев березы повислой по ступеням толщины и классам жизненного состояния: А – пробные площади в центре г. Балашова (2014 г.); В – с. Лесное, остепенный участок (2014 г.); С – с. Лесное, парк (2014 г.). I, II, III, IV, V – классы жизненного состояния древостоев. Ступени толщины: 1 – 8–16 см; 2 – 20–28 см; 3 – 32 и более см

Индекс жизненного состояния древесных растений, получивших тепловые повреждения среднего уровня, варьирует от 70,3 у вяза обыкновенного (*Ulmus laevis*) до 100% – у липы мелколистной (рис. 3). В эту группу входит ель

европейская (*Picea abies*). Ее деревья не имели заметных повреждений летом 2010, но в 2011 г. некоторые растения в парках г. Балашова погибли. За последние годы состояние ели европейской различного возраста улучшилось.

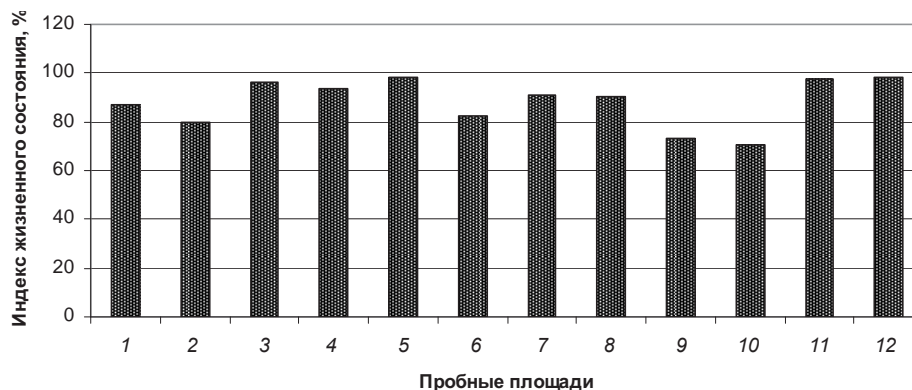


Рис. 3. Жизненное состояние древесных растений, имеющих средние тепловые повреждения летом 2010 г.: липа мелколистная: 1 – г. Балашов (2011 г.); 2 – лесной массив Медвежий куст (2011 г.); 3 – центр г. Балашова (2014 г.); 4 – г. Балашов, КПТ (2014 г.); ель европейская: 5 – центр г. Балашова (2014 г.); клен остролистный: 6 – г. Балашов (2011 г.); 7 – г. Балашов (2014 г.); вяз гладкий: 8 – п. Ветельный (2011 г.); 9 – г. Балашов (2011 г.); 10 – лесной массив Медвежий куст (2011 г.); 11 – г. Балашов (2014 г.); 12 – ива серая (2014 г.)

Ее деревья имеют линейный прирост верхушечных побегов 30–40 см и ярко-зеленые кроны. О повышении жизнеспособности данного вида свидетельствует и довольно большое количество шишек на деревьях. У липы мелколистной (*Tilia cordata*) произошло восстановление кроны. Летом 2014 г. липы обильно плодоносят, но с начала июля их сильно повредила тля.

В группу слабо поврежденных древесных растений входят лесообразователи – дуб обыкновенный (*Quercus robur*), осина (*Populus*

tremula) и сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris*). Во всех местообитаниях древостои дуба в 2011 г. были здоровые с индексом жизненного состояния 88,9–99,0% (рис. 4). Исследованиями, проведенными нами в пойменных лесах в июле 2014 г., установлено восстановление кроны дуба, которые имели сухие вершины и сучья, увеличение сомкнутости древостоев до 0,8–0,9, наличие подроста 10 тыс. шт/га и более. Индекс жизненного состояния древостоев составляет 98,7–100,0%.

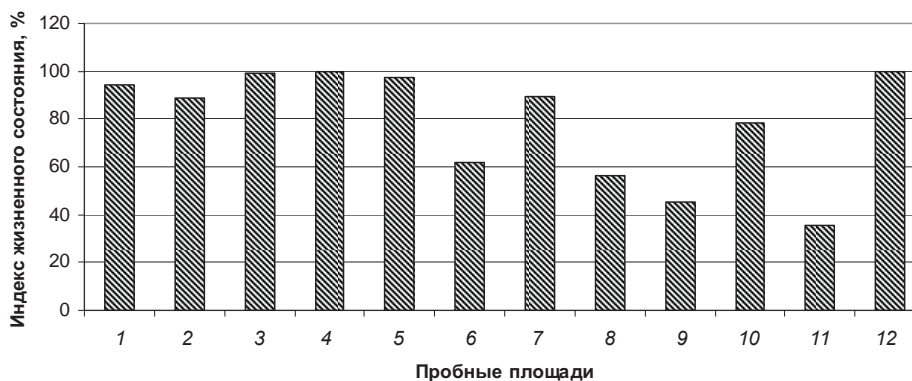


Рис. 4. Жизненное состояние древесных растений, имеющих слабые тепловые повреждения летом 2010 г.: дуб обыкновенный: 1 – пойма Хопра (2011 г.); 2 – Б. Мелик, лесная полоса (2011 г.); 3 – лесной массив Медвежий куст (2011 г.); осина: 4 – г. Балашов (2011 г.); 5 – пойма Хопра (2011 г.); 6 – пойма Хопра (2014 г.); сосна обыкновенная: 7 – окрестности п. Мача, полнота насаждений 0,7 (2011 г.); 8 – окрестности п. Мача, полнота насаждений 0,5 (2011 г.); 9 – Б. Мелик (2011 г.); 10 – Балашовская птицефабрика (2014 г.); 11 – окрестности п. Мача, лисий овраг (2014 г.); 12 – ива ломкая: пойма Хопра (2014 г.)

Осина в 2010 г. имела незначительные тепловые повреждения кроны в дачном поселке и г. Балашове (1,1–2,3 балла). В пойменных лесах ее кроны не имели тепловых повреждений, но в 2011 г. произошло локальное отмирание дре-

востоев осины, о чем можно судить по следующим примерам. Так, в Падовском участковом лесничестве, в кварталах 37 и 38 на площади 12 га в дубово-осиновом насаждении (5Д5Ос, 70 лет, полнота 0,6) около 80% осины погибло.



Образовалось большое количество упавших и поломанных стволов. По результатам учета летом 2014 г. в пойменных лесах рекреационной зоны г. Балашова индекс жизненного состояния древостоев осины составил 57,0–67,1%, что характеризует их как ослабленные.

Сосна обыкновенная имеет высокую жароустойчивость [14]. Она не имела заметных тепловых повреждений в 2010 г., но ее состояние в последние годы ухудшалось, что связано с распространением очагов корневой губки и рыжего соснового пилильщика, которые провоцируются неблагоприятными погодными условиями. Наиболее уязвимыми оказываются насаждения 30–40-летнего возраста. Высокие показатели индекса жизненного состояния характерны для 70–80 летних сосняков. В таких культурах нами летом 2014 г. обнаружено распространение подроста до 10–15 тыс. шт./га. Это является важным показателем реабилитации сосновых насаждений.

Представляет интерес состояние местных видов древесных растений и интродуцентов, не получивших существенных тепловых повреждений.

Высокий уровень жизненного состояния имеют ива белая (*Salix alba*) и тополь черный

(*Populus nigra*) в естественных местообитаниях (рис. 5). Древесные интродуценты – акация белая (*Robinia pseudoacacia*), лжетсуга Мензиса (*Pseudotsuga menziesii*), тополь дельтовидный (*Populus deltoides*) – остаются здоровыми и в настоящее время ($L = 90,2–100,0\%$). Насаждения тополя итальянского, или пирамидального, (*Populus italica*) в г. Балашове в 2011 г. начали суховершинить и даже отмирать. Этот вид в лабораторных опытах обнаружил наиболее высокую жаростойкость среди других представителей данного рода [15]. Наряду с тепловым шоком на его состояние мог повлиять и дефицит влаги, потому что интенсивность транспирации у тополей выше, чем у других древесных пород [16]. Установлено, что гибель растений происходит не от высоких температур, а от иссушения цитоплазмы клеток из-за дефицита влаги [5, 6]. Современное состояние тополя итальянского в г. Балашове ослабленное ($L = 60,3–72,6\%$). Особенно сильно пострадали деревья 25–30-летнего возраста. Происходит восстановление крон на деревьях, не утративших жизнеспособность. Немногочисленные посадки катальпы сиренелистной (*Catalpa bignonioides*) в г. Балашове ослаблены из-за сильных ожогов коры, которые занимают до трети площади стволов.

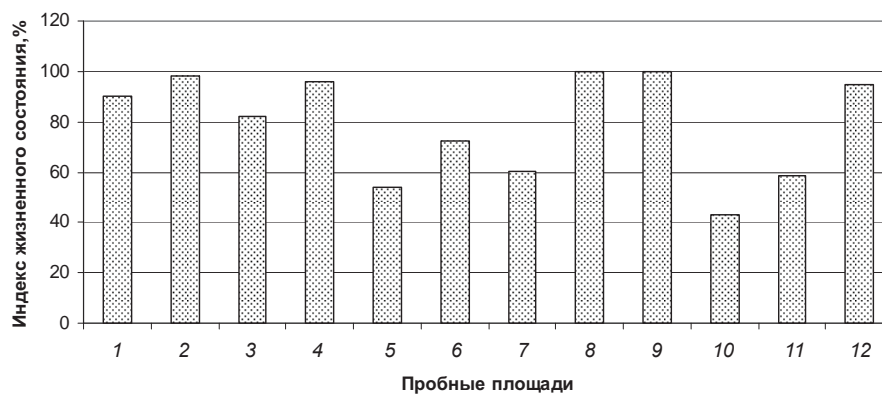


Рис. 5. Жизненное состояние древесных растений, не имеющих тепловых повреждений летом 2010 г.: лжетсуга Мензиса: 1 – Балашов (2011 г.); 2 – Балашов (2014 г.); тополь итальянский: 3 – Балашов (2011 г.); 4 – п. Ветельный (2011 г.); 5 – окрестности с. Старый Хопер, лесная полоса (2011 г.); 6 – центр г. Балашова (2014 г.); 7 – г. Балашов, КПТ (2014 г.); ива белая: 8 – г. Балашов (2011 г.); 9 – пойма Хопра (2011 г.); 10 – п. Ветельный, на повышении рельефа (2011 г.); катальпа сиренелистная: 11 – г. Балашов (2014 г.); тополь черный: 12 – г. Балашов (2014 г.)

Заключение

Большинство местных видов деревьев и отчасти интродуценты после небывалой для Прихоперья жары и засухи сохранили удовлетворительное состояние. Для них последствия стресса оказались обратимыми. Значительные повреждения получили береза повислая, тополя

бальзамический и итальянский, осина, рябина обыкновенная. Сильнее пострадали культуры в возрасте 25–30 лет. У них произошло летом 2011 г. частичное отмирание древостоев после первичного стресса и наступила фаза адаптации. В последующие годы их состояние стабилизировалось. Растет индекс жизненного состояния их



древостоев. Происходит частичное или полное восстановление крон водяными побегами, отмечается обильное плодоношение. Установлено, что от теплового стресса больше пострадали виды древесных растений, находящиеся на южной границе ареала, в основном мезофиты и мезоигрофиты, древесные интродуценты, не прошедшие натурализацию. Наибольшие повреждения и последующее ослабление получили экспленты, или реактивные виды – береза повислая и осина. Более устойчивыми к данному фактору оказались виоленты (дуб обыкновенный) и патиенты (липа мелколистная, клен остролистный). Защитное значение имеют индивидуальные анатомо-морфологические и физиологические адаптации отдельных видов, что перспективно для дальнейшего изучения. Деревья сильнее повреждаются экстремальными температурами, чем кустарники. В антропогенной среде действие высоких температур и засухи на древесные растения усиливается. Целесообразно корректировать ассортимент древесных растений для защитных насаждений и озеленения городов, при этом ограничить использование березы повислой, тополя бальзамического, тополя пирамидального в городских посадках. Для этих целей рекомендуются виды, проявившие термотолерантность. Данная проблема остается актуальной, потому что жара и засуха стали повторяться все чаще.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках базовой части государственного задания в сфере научной деятельности (задание № 2014/203, код проекта 1287).

Список литературы

1. Березина Н. А., Афанасьева Н. Б. Экология растений. М. : Изд. центр «Академия», 2009. 400 с.
2. Гродзинский Д. М. Надежность растительных систем. Киев : Наук. думка, 1983. 368 с.
3. Косулина Л. Г. Физиология устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды. Ростов н/Д : Изд-во Ростов. ун-та, 1993. 240 с.
4. Яковец О. Г. Фитофизиология стресса : курс лекций. Минск : Изд-во Белорус. гос. ун-та, 2010. 103 с.
5. Любимов В. Б., Гриб В. В., Левчук М. А., Солдатова В. В. Устойчивость растений к температурному режиму и дефициту влаги в районе интродукции // Мониторинг биоразнообразия степной и лесостепной зон : материалы Всерос. науч.-практ. конф. 18–19 октября 2012 г., г. Балашов / под ред. А. И. Золотухина. Балашов : Николаев, 2012. С. 98–110.
6. Михеева М. А. Геоэкологическая оценка разнообразия и устойчивости древесных растений в условиях городской среды (на примере г. Воронежа) : автореф. дис. ... канд. геогр. наук. Воронеж, 2009. 23 с.
7. Кавеленова Л. М., Малыхина Н. В., Розно С. А. Экологические особенности некоторых местных и интродуцированных древесных растений в городских насаждениях лесостепи Среднего Поволжья (на примере г. Самары) // Вестн. Самар. гос. ун-та. 2007. Вып. 8 (58). С. 89–96.
8. Гирс Г. И., Суховольский В. Г. Адаптационные изменения фотосинтеза сосны обыкновенной после теплового воздействия // Адаптация древесных растений к экстремальным условиям среды. Петрозаводск : Карельский филиал АН СССР, 1984. С. 117–124.
9. Демаков Ю. П. Диагностика устойчивости лесных экосистем (методологические и методические аспекты). Йошкар-Ола : Изд-во Мар. гос. ун-та, 2000. 416 с.
10. Кузьмичев А. И., Золотухин А. И. Повреждения древесных растений экстремально высокими температурами и засухой летом 2010 г. в Среднем Прихоперьи // Вестн. Саратов. гос. агроун-та им. Н. И. Вавилова. 2012. № 1. С. 32–36.
11. Алексеев В. А. Диагностика жизненного состояния деревьев и древостоев // Лесоведение. 1989. № 4. С. 51–57.
12. Маевский Н. Ф. Флора средней полосы европейской части России. 10-е изд. М. : Т-во науч. изд. КМК, 2006. 600 с.
13. Бакиев И. Ф. Анализ состояния насаждений тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.) на территории республики Башкортостан : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Оренбург, 2012. 18 с.
14. Рысин Л. П., Савельева Л. И. Сосновые леса России. М. : Т-во науч. изд. КМК, 2008. 289 с.
15. Дорохина О. А., Мушинская Н. И. К изучению биоэкологических особенностей видов рода *Populus* L. в условиях степной зоны Южного Урала // Аграрная Россия. 2009. Спец. вып. С. 59–60.
16. Редько Г. И. Биология и культура тополей. Л. : Изд-во Ленингр. ун-та, 1975. 175 с.



УДК [639.127.2:591.53](282.247 417)

ОСОБЕННОСТИ РАЗМЕЩЕНИЯ И ЧИСЛЕННОСТЬ ВОДОПЛАВАЮЩИХ ПТИЦ НА ВОДОЁМЕ-ОХЛАДИТЕЛЕ БАЛАКОВСКОЙ АТОМНОЙ СТАНЦИИ В ЗИМНИЙ ПЕРИОД

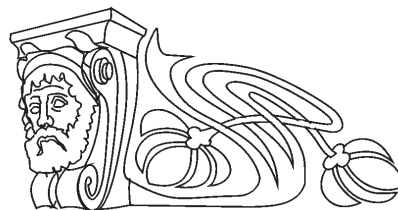
М. Ю. Воронин, Е. Ю. Мосолова, В. Г. Табачишин¹, А. Ю. Еловенко

Саратовский государственный университет

E-mail: ekmosolova@mail.ru

¹Саратовский филиал Института проблем экологии
и эволюции им. А. Н. Северцова РАН

E-mail: tabachishinvg@sevin.ru



На основании полевых исследований водоёма-охладителя БАЭС (Саратовская область), проведенных в 2003 – 2014 гг., выявлены особенности размещения и численности водоплавающих птиц в зимний период. Показано, что на различных участках водоёма-охладителя в этот период отмечено пребывание 6 видов водоплавающих птиц (большая поганка – *Podiceps cristatus*, кряква – *Anas platyrhynchos*, красноголовая – *Aythya ferina* и хохлатая – *A. fuligula* чернети, обыкновенный гоголь – *Bucephala clangula*, большой крохаль – *Mergus merganser*). Межгодовые различия в динамике численности некоторых птиц (кряква, обыкновенный гоголь) значительны и обусловлены погодными условиями предзимнего периода.

Ключевые слова: водоплавающие птицы, водоём-охладитель, Саратовская область.

Location Features and Abundance of Waterfowl in the Pond Cooler of the Balakovo Nuclear Power Plant in the Winter

M. Yu. Voronin, E. Yu. Mosolova,
V. G. Tabachishin, A. Yu. Elovenco

On the basis of our 2003–2014 field surveys of the pond cooler of BNPP (Saratov region), peculiarities of the spatial distribution and abundance of waterfowl in the winter were revealed. The stay of 6 waterfowl species was noted during this period in different parts of the pond cooler, namely, *Podiceps cristatus*, *Anas platyrhynchos*, *Aythya ferina*, *Aythya fuligula*, *Bucephala clangula*, and *Mergus merganser*. Interannual variations in the population dynamics of some birds (*A. platyrhynchos*, *B. clangula*) were significant and caused by the pre-winter weather.

Key words: waterfowl, pond-cooler, Saratov region.

Зимовкам водоплавающих на техногенных водоёмах посвящено достаточно много работ [1–6], однако указанные исследования проводились главным образом на сточных водоёмах-накопителях или водоочистительных сооружениях.

На территории Саратовской области практически отсутствуют постоянные зимние орнитокомплексы незамерзающих водоёмов в связи с небольшим количеством, малой площадью и непостоянным существованием последних [7–9].

Исключение составляют техногенные водоёмы, в частности водоём-охладитель Балаковской атомной электростанции (БАЭС), где в зимний период концентрируется значительное количество различных видов водоплавающих птиц.

Цель настоящего исследования – определить особенности пространственного распределения и численности водоплавающих и околоводных птиц в зимний период на различных участках водоёма-охладителя БАЭС.

Материал и методы исследования

Учёт зимующих водоплавающих и околоводных птиц на водоёме-охладителе и сопредельных наземных участках проводили в декабре – феврале 2003–2014 гг. В качестве основного метода исследований был использован маршрутный учёт птиц, которые проводили, как правило, без ограничения ширины трансекта, с последующим пересчетом полученных показателей на площадь по средней дальности обнаружения интервальным методом [10]. Учёт водоплавающих птиц проводили путем их подсчета с берега [11].

В соответствии с распределением кормовых объектов водоплавающих птиц плотность оценивали на длину береговой полосы. Длина береговой полосы тепловодной части водоёма-охладителя БАЭС составляет 24900 км, холодноводной – 15200 км. Достоверность отличий обилия водоплавающих птиц, отмеченных на тепловодной и холодноводной частях водоёма-охладителя, оценивали по критерию Фишера с введением поправки Йетса.

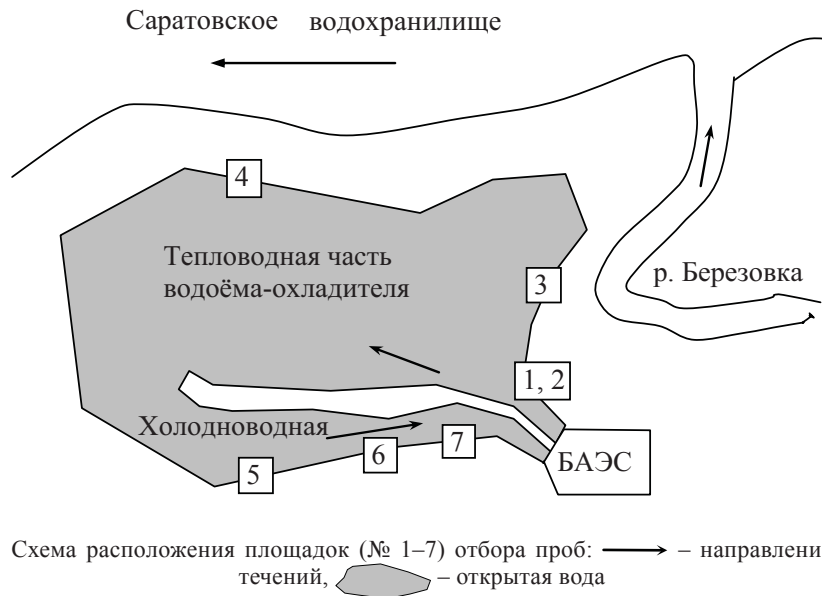
Для анализа кормовой базы водоплавающих птиц пробы бентоса отбирались по контуру водоёма-охладителя, так как в центральной части водоёма-охладителя макрозообентос значительно обеднен [12]. Пробы бентоса отбирали гидробиологическим скребком с шириной полосы захвата 0.2 м в трех повтор-



ностях. Объем пробы составлял 0.03 м². Пробы после первичной разборки фиксировались 70% спиртом. Было собрано и обработано 57 проб. Обработку проб осуществляли по общепринятым гидробиологическим методикам. Биомасса определялась по методу Уломского (сырой вес). Организмы взвешивались на электронных весах с точностью до 0.1 мг [13].

Температурный режим водоёма-охладителя БАЭС значительно отличается от водоёмов, не

подверженных сбросу подогретых вод. Внутри водоёма-охладителя существует выраженный градиент температур; здесь температура воды в период исследования составляла от 2°C (в холодноводной части водоема-охладителя) до 10°C (в тепловодной), поэтому станции отбора проб макрозообентоса располагались в тепловодной части водоёма-охладителя (отводящий канал) (№ 1–4) и в холодноводном (приводящем) канале (№ 5–7) (рисунок).



Проверку нормальности распределения численности и биомассы макрозообентоса проводили по критериям Колмогорова – Смирнова, Лиллиефорса и Шапиро – Уилка. Оценивали асимметрию и эксцесс распределения. Сравнение численности и биомассы макрозообентоса тепловодной и холодноводной частей водоема-охладителя проводили по U критерию Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение

В ходе работ установлено, что на различных участках водоёма-охладителя БАЭС в зимний период отмечено пребывание 6 видов водоплавающих птиц из отрядов Поганкообразных и Гусеобразных (большая поганка – *Podiceps cristatus*, кряква – *Anas platyrhynchos*, красноголовая – *Aythya ferina* и хохлатая – *A. fuligula* чернети, обыкновенный гоголь – *Bucephala clangula*, большой крохаль – *Mergus merganser*).

Несмотря на бедность орнитонаселения водоёма-охладителя в зимний период года, отмечаются относительно высокие показатели численности птиц. Такой характер динамики плотности населения определяется концентраци-

ей кряквы на участках акватории холодноводного (приводящего) канала; здесь в различные годы обилие птиц варьирует от 6 до 120 особ./10 км береговой линии. Причем отмечена положительная корреляция с температурами предзимнего периода (ноябрь, декабрь). Так, в более тёплые годы (ноябрь–декабрь 2007–2008 и 2010–2011 гг.) зарегистрированы максимальные значения этого показателя и соответственно составили 97 и 120 особ./10 км береговой линии. Помимо крякв постоянно встречаются большой крохаль и обыкновенный гоголь, общая численность которых относительно низка. Однако в отдельные годы при относительно низких температурах в предзимний период характерны зимовки последнего вида с большим количеством особей. Так, например, в январе 2013 г. в холодноводной части водоёма-охладителя наблюдались стаи обыкновенного гоголя, состоящие из 50–80 особей. Большой крохаль, как правило, на различных участках исследуемого водоёма держится небольшими группами из 2–6 особей. В тепловодной части водоёма-охладителя в отдельные дни наблюдений изредка встречаются лишь малые группы кряквы из 2–4 особей.



Структура и численность орнитонаселения водоёмов в зимний период во многом определяются фактором беспокойства, наличием укрытий и распределением кормовых объектов. Однако на всем водоёме-охладителе запрещена охота. В холодноводной части водоёма-охладителя тростниковые заросли, как места укрытий для птиц, значительно сокращены либо отсутствуют совсем. В то же время большинство зимующих водоплавающих птиц на водоёме-охладителе Балаковской АЭС держится в холодноводном (приводящем) канале. Очевидно, что в условиях водоёма-охладителя пространственное размещение птиц связано в первую очередь с распределением их кормовых объектов: бокоплавы, мотыль, олигохеты, молодые двустворчатые моллюски (дрейссена). Доля всех бентоядных водоплавающих птиц в тепловодной и холодноводной зонах водоёма-охладителя достоверно отличаются ($99.2; p=0.0000$). Отличия достоверны и отдельно для кряквы ($8.5; p=0.0035$) и обыкновенного гоголя ($89.7; p=0.0000$). Суммарная плотность водоплавающих птиц в тепловодной части водоёма-охладителя составляет 0.32 экз./км, в холодноводной – 4.74 экз./км.

Численность и биомасса макрозообентоса, как основного кормового объекта водоплавающих птиц, в тепловодной части водоёма-охладителя снижена по сравнению с холодноводной в связи с действием высоких температур. По данным отбора проб, в зимний период численность макрозообентоса в пробах из тепловодной части водоёма-охладителя колебалась от 0 до 1932 экз./м², медиана составила 187.5 экз./м². В холодноводной части водоёма-охладителя численность была значительно выше – от 850 экз./м² до 31275 экз./м², медиана – 6300 экз./м². Биомасса макрозообентоса в тепловодной части водоёма-охладителя колебалась от 0 до 44.7 г/м², медиана составила 0.38 г/м²; в холодноводной – от 3.9 г/м² до 983.1 г/м², медиана – 48.6 г/м². При оценке воздействия БАЭС на макрозообентос не использовали средние арифметические значения, поскольку показатели численности и биомассы были распределены не нормально и средние значения не отражали бы истинного состояния водоёма. Статистический анализ показал достоверные отличия обилия бентоса этих температурных зон на высоком уровне значимости как для мягкого (без моллюсков), так и для общего бентоса. Для численности общего бентоса: $p = 0.0000$, $Z = -6.39$; для биомассы общего бентоса: $p = 0.0000$, $Z = -5.93$; для численности мягкого бентоса: $p = 0.0000$, $Z = -6.38$; для биомассы мягкого бентоса: $p = 0.0000$, $Z = -6.43$.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что в условиях севера Нижнего Поволжья водоём-охладитель БАЭС является местом зимовки значительного числа водоплавающих птиц. Дальнейшая динамика орнитонаселения данного водоёма требует тщательного изучения.

Список литературы

1. Морошенко Н. В. Использование птицами очистных сооружений Байкальского целлюлозно-бумажного комбината // Экология и охрана птиц : тез. докл. 8-й Всесоюз. орнитол. конф. Кишинев, 1981. С. 157.
2. Александров В. Н., Климов С. М. Орнитофауна отстойников промышленного комплекса и ее охрана // Изучение птиц в СССР, их охрана и рациональное использование. Л., 1986. № 1. 25 с.
3. Авилова К. В. Динамика численности водоплавающих птиц, зимующих на участке р. Москвы от Коломенского до Бесед // Птицы техногенных водоемов России. М., 1997. С. 134–141.
4. Авилова К. В., Корбут В. В., Фокин С. Ю. Урбанизированная популяция водоплавающих (*Anas platyrhynchos*) г. Москвы. М., 1994. 175 с.
5. Константинов В. М., Спиридонов С. Н. О зимовке водоплавающих птиц на техногенных водоемах Мордовии // Рус. орнитол. журн. 2000. Экспресс-вып. № 127. С. 22–23.
6. Спиридонов С. Н., Долгачева И. С. Формирование зимовок кряквы в г. Саранске // Тр. Мордов. гос. природ. заповедника им. П. Г. Смидовича : сб. науч. статей. Саранск, 2013. Вып. 11. С. 273–277.
7. Шляхтин Г. В., Завьялов Е. В., Табачишин В. Г. Птицы Саратова и его окрестностей : состав, охрана и экологическое значение. Саратов, 1999. 124 с.
8. Завьялов Е. В., Шляхтин Г. В., Табачишин В. Г., Якушев Н. Н., Березуцкий М. А., Мосолова Е. Ю. Генезис природных условий и основные направления современной динамики ареалов животных на севере Нижнего Поволжья. Сообщение VIII. Динамика распространения птиц под воздействием антропогенных факторов // Поволж. экол. журн. 2004. №2. С. 144–172.
9. Завьялов Е. В., Шляхтин Г. В., Табачишин В. Г., Якушев Н. Н., Хрустов И. А. Птицы севера Нижнего Поволжья : в 5 кн. Кн. I. История изучения, общая характеристика и состав орнитофауны. Саратов, 2005. 296 с.
10. Равкин Е. С., Челинцев Н. Г. Методические рекомендации по комплексному маршрутному учету птиц. М., 1990. С. 1–33.
11. Исаков Ю. В. Учет и прогнозирование численности водоплавающих птиц // Организация и методы учета птиц и вредных грызунов. М., 1963. С. 36–82.
12. Воронин М. Ю., Ермохин М. В. Стабильность сообществ макрозообентоса в водоёме-охладителе Балаковской АЭС // Поволж. экол. журн. 2014. № 1. С. 97–102.
13. Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах. Зообентос и его продукция. Л., 1983. 52 с.



УДК 574.5

ОЦЕНКА САМООЧИЩЕНИЯ РЕКИ ВОЛГИ В ОКРЕСТНОСТЯХ ГОРОДА САРАТОВА

О. Н. Торгашкова, Е. С. Левина, С. Г. Гахраманов

Саратовский государственный университет
E-mail: torgaschkova88@mail.ru

Проведена оценка степени загрязнения и самоочищения водной среды реки Волги в окрестностях города Саратова. Определены индексы загрязнения и самоочищения воды и установлены классы качества водной среды.

Ключевые слова: водная среда, качество воды, река Волга, загрязнение, самоочищение.

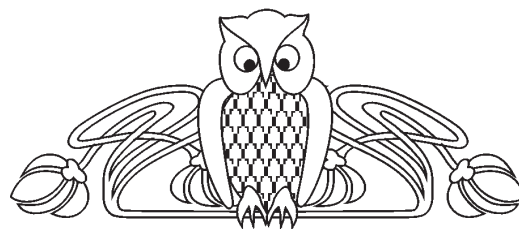
Assessment of Self-purification of the Volga River Near the City of Saratov

O. N. Torgashova, E. S. Levina, C. G. Qahramanov

Assess the degree of pollution and natural purification of the water environment of the Volga river near the city of Saratov. Defined indexes pollution and natural purification of the water and set classes quality of the aquatic environment.

Key words: water, quality of water, Volga river, pollution, self-purification.

Природно-техногенные системы становятся неотъемлемой частью биосферы. Особенно актуально изучение и использование человеком этих систем в городах, где наблюдаются все виды антропогенного воздействия. Экологическое благополучие города во многом зависит от состояния городского водоема, принимающего сточные воды. В городских реках наиболее распространены загрязнителями являются тяжелые металлы, токсичные органические вещества, нитритные и аммонийные соли азота. Река Волга



представляет собой пример городского водотока, испытывающего на себе все многообразие антропогенных воздействий [1]. Поступающие в водоем загрязнения вызывают в нем нарушение естественного равновесия. Способность водоема противостоять этому нарушению, освобождаться от вносимых загрязнений и составляет сущность процесса самоочищения. Самоочищение – сложное многоплановое явление, в котором можно выделить несколько процессов, большей частью одновременных. В настоящее время показано, что стабилизирующим звеном Волгоградского водохранилища является наличие обширной площади заросших мелководий, хотя вопросы, касающиеся вклада макрофитов в процессы самоочищения и самовосстановления экосистемы реки Волги? недостаточно изучены, но способность макрофитов к фильтрации, минерализации и окислению органических веществ, а также аккумуляции большого количества загрязняющих веществ делает их необходимыми «участниками» фиторемедиации водоемов [2].

Исследования проводились в четырех пунктах: 1 – в районе села Пристанное Саратовского района; 2 – в районе поселка Затон; 3 – рядом с железнодорожным мостом в районе поселка Увек; 4 – в районе поселка Красный Текстильщик (рис. 1).



Рис. 1. Карта района исследования



Для оценки состояния водоема проводилось предварительное обследование местности [3]. Ежемесячно с апреля по ноябрь на исследуемых участках отбирались пробы воды и донных отложений. Пробы макрофитов отбирали в период максимальной физиологической активности водных растений (июль) и в конце вегетации (сентябрь). Объектами исследований служили растения разных экологических групп, наиболее типичные для Волгоградского водохранилища [4]: воздушно-водные – тростник обыкновенный (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.), рогоз узколистый (*Typha angustifolia* Linnaeus), камыш озерный (*Schoenoplectus lacustris* (L.) Palla); погруженные – урути мутовчатая (*Myriophyllum verticillatum* L.) и колосистая (*M. spicatum* L.), роголистник темно-зеленый (*Ceratophyllum demersum* L.), элодея канадская (*Elodea canadensis* Michx.), а также рдесты блестящий (*Potamogeton lucens* L.), курчавый (*P. crispus* L.) и пронзеннолистный (*P. perfoliatus* L. Smith); плавающие – кубышка желтая (*Nuphar lutea* (L.) Smith) и водокрас лягушачий (*Hydrocharis morsus-ranae* L.). Названия видов приводятся по [5] с изменениями по сводке [6].

Проводилось определение органолептических (содержание взвешенных частиц, цвета, прозрачности и запаха), гидрохимических и гидробиологических показателей качества воды. Отбор проб воды и определение ее качества воды проводилось в соответствии с РД 52.24.643–2002 [7]. Обработку полученного гидрохимического и гидробиологического материала проводили по основным направлениям: определение комбинаторных индексов (КИЗ), общей суммарной степени загрязнения (ОССЗ), общей степени самоочищения (ОССЗ) по отношению к основным биогенным элементам, с применением стандартных методов статистической обработки результатов:

Пункт 1 располагается под мостом в поселке Пристанное. Вблизи находятся бани, автостоянка, кладбище. Берег песчаный пологий. Из прибрежно-водных растений встречается *Phragmites australis*, из водных – *Potamogeton perfoliatus*, *P. crispus*, *P. lucens*, *Ceratophyllum demersum*. Отмечено значительное количество сине-зеленых водорослей. Пункт 2 располагается вблизи пляжа в Затоне. Тип берега – полого-обрывистый. Берег песчаный. Из прибрежно-водных растений встречаются *Carex acut* и *Phragmites australis*, из водных – *Myriophyllum spicatum*, *Potamogeton perfoliatus*, *P. crispus*, *Ceratophyllum demersum*. Пункт 3 располагается вблизи промышленного комплек-

са, рядом с железнодорожным мостом. Пляж организован несанкционированно, купание на данном участке запрещено. Тип берега – пологий. Берег песчаный или илисто-песчаный. На большей части отсутствуют прибрежно-водные растения, их наличие наблюдается только в заливе – это *Sagittaria sagittifolia* и *Carex acuta*, из водных единично встречаются *Potamogeton perfoliatus*, *P. crispus*, *Ceratophyllum demersum*. Пункт 4 находится в поселке Красный Текстильщик. Тип берега пологий. Берег каменистый, дно каменисто-песчаное. Прибрежно-водные растения представлены *Xanthium strumarium*, *Miriophyllum spicatum*, *Humulus lupulus*, *Setaria sp.*, водные – *Najas marina*, *Elodea canadensis*, *Ceratophyllum demersum*, *Potamogeton perfoliatus*, *P. lucens*. Отмечено существенное количество сине-зеленых водорослей.

Согласно полученным данным, температура воды в разных точках реки отличается на 1–4 °С, наблюдается понижение температуры с глубиной, но оно незначительно. Наибольшей температурой характеризуются участки, расположенные в районе железнодорожного моста.

Цвет воды в пунктах преимущественно желтый, в пунктах 3 и 4 – с зелеными примесями. Наибольшая прозрачность вблизи Затона и Красного Текстильщика, что зависит от количества взвешенных частиц и от содержания химических веществ. Интенсивность запаха превышает предельно-допустимые показатели в районе пункта 2, где отмечался болотный запах с интенсивностью 3 балла, и пункта 3 – запах имел гнилостно-нефтяной характер с интенсивностью 4 балла. В пункте 1 интенсивность запаха была низкая 1 балл, характер запаха – травяной, в пункте 2 – интенсивность также 1 балл, характер запаха – неопределенный. Во всех пунктах на поверхности воды обнаружена пена и скопления сине-зеленых водорослей.

Активная реакция среды практически на всех участках – нейтральная. Изменения pH природных вод в кислую или щелочную среду выше нормативных негативно отражаются на гидробионтах, но активная реакция среды находится в пределах допустимых значений. Во всех пунктах вода мягкая, хотя в пункте 3 увеличивается ее жесткость, но она не превышает предельных значений. Содержание нитритов и нитратов, хлоридов, сульфатов во всех пунктах не превышает предельно-допустимых значений. Меньшая концентрация хлоридов наблюдается в поселке Красный Текстильщик. Наиболее высокие показатели меди и азота нитритов – пункт 3. Биохимическое потребление кислорода



(БПК) исследованной воды превышает ПДК в третьем пункте, а химическое потребление кислорода (ХПК) превышает во всех пунктах и со временем наблюдается его рост. Содержание взвешенных частиц не превышает ПДК только вблизи пос. Красный Текстильщик.

Для объективного заключения о качестве среды необходима биологическая оценка. Учитывая специфику функционирования реки Волги и характер антропогенного воздействия на нее, в качестве индикаторов использовались макрофиты. Обогащение воды биогенными веществами приводит к интенсивному развитию прибрежных растений, что отмечается выше

и ниже Саратова. В местах интенсивного поступления промышленных стоков (пункт 3) происходит гибель растительных сообществ, виды представлены небольшим числом экземпляров.

При комплексной оценке степени загрязненности необходимо оценивать водную среду одновременно по широкому перечню ингредиентов и показателей качества воды и классифицировать воду по степени загрязненности. При оценке качества водной среды используют комбинаторный индекс (КИЗ) и общую суммарную степень загрязнения, сведения о которых приведены на рис. 2.

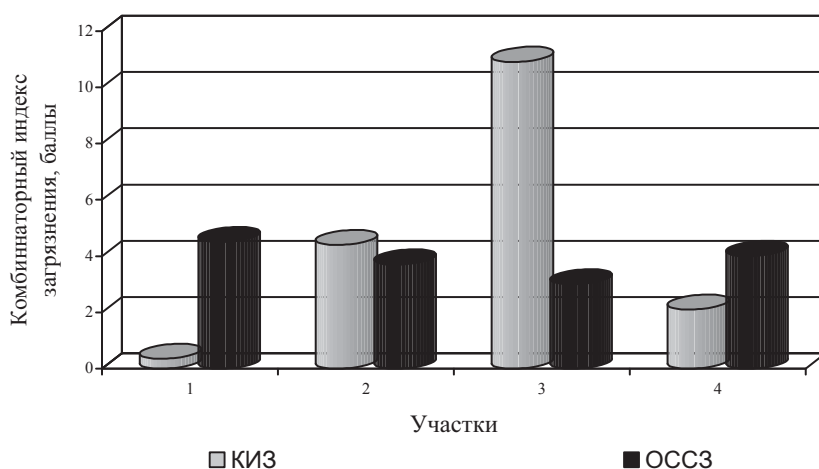


Рис. 2. Сравнительная оценка качества водной среды

Комбинаторный индекс указывает, что вода пунктов 2 и 3 характеризуется как грязная и очень грязная, пункты 2 и 3 имеют 4-й и 5-й классы качества. Пункт 1 и 4 имеют 1-й и 3-й классы качества, вода характеризуется как условно чистая и загрязненная, то есть вода до города и после характеризуется более высоким качеством. Общая суммарная степень загрязнения (ОССЗ) показала, что пункт 1 и 4 имеют 4-й класс качества – вода сильно загрязненная, участки 2 и 3 характеризуются переходным состоянием – 2-й и 3-й классы качества – вода слабо загрязненная и умеренно загрязненная.

При исследовании было выявлено, что максимальным загрязнением характеризуется вода в районе Увека, то есть пункт исследования, находящийся в нижней части города. Ниже города, в районе Красного Текстильщика, отмечается улучшение качества воды, вода характеризуется как загрязненная, что связано с процессами самоочищения воды. Общая степень самоочищения по отношению к основным биогенным элементам отражена на рис. 3.

Наибольшая степень очистки характерна для взвешенных веществ, нитратов и железа. Во время исследования обнаружены макрофиты, участвующие в процессах самоочищения водоема: ряска трехдольная, кубышка желтая, водокрас лягушачий, тростник обыкновенный, рогоз узколистый, рдесты, роголистник погруженный. Эти растения обеспечивают фильтрацию, под влиянием которой увеличивается прозрачность воды, снижается ее минерализация [8]. Основная роль принадлежит тростнику, рогозу, камышу, рдестам, элодее, роголистнику, урути, которые в значительном количестве встречаются в районе первого и от третьего до четвертого участка. Поступающие в водоем вместе с поверхностным стоком взвешенные вещества встречают здесь барьер из высших растений. Скорость течения среди растений ниже, чем в открытом водоеме, что способствует выпадению взвесей в осадок. Чем больше суммарная поверхность растений, тем эффективнее роль его как фильтра.

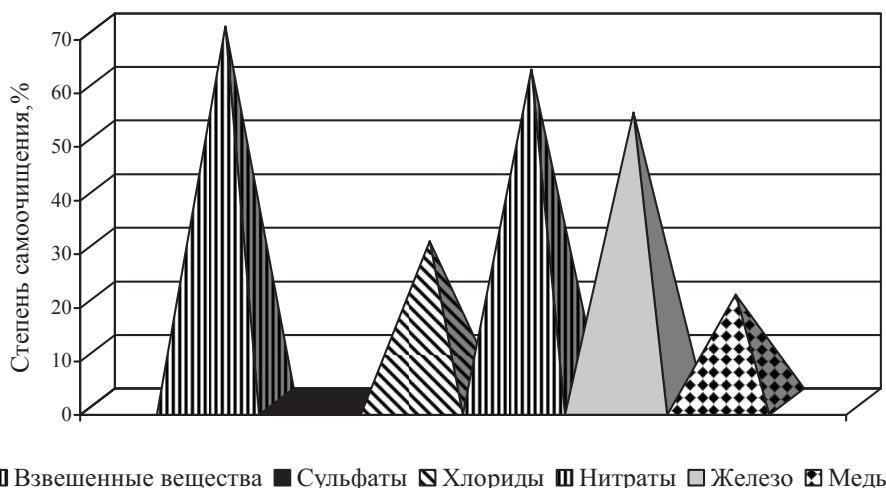


Рис. 3. Общая степень самоочищения по отношению к основным элементам

Макрофиты оказывают влияние на повышение концентрации кислорода в воде, из-за чего происходит увеличение окисления органического вещества и ускорение процесса нитрификации и, как следствие этого, снижение количества азота нитратов в воде. Полупогруженные растения (тростник, рогоз, камыш, аир) в больших количествах извлекают железо, нитратный и аммонийный азот, которые в значительных количествах присутствует в 3 пункте.

Таким образом, наиболее типичные виды, встреченные на исследованных участках реки (рдесты, уруть, роголистник), образующие сплошные заросли, являются основным фактором регулирования качества воды, так как в значительных количествах поглощают и аккумулируют не только биогенные, но и токсичные вещества, способствуя этим самоочищению воды от токсических агентов путем исключения их из круговорота веществ.

Список литературы

1. Бухарин О. В., Розенберг Г. С. Биоиндикация экологического состояния рек. М. : Наука, 2007. 403 с.

2. Шашуловский В. А. Динамика биологических ресурсов Волгоградского водохранилища : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Саратов. 2006. 50 с.

3. Боголюбов А. С. Методы гидрологических исследований : проведение измерений и описание рек (по материалам М. А. Андреевой). М. : Экосистема, 1996. 14 с.

4. Седова О. В. Современное состояние флоры и растительности мелководий Волгоградского водохранилища в административных границах Саратовской области // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2009. Т. 9, вып. 2. С. 61–67.

5. Маевский П. Ф. Флора средней полосы Европейской части СССР. Л. : Колос, 1964. 880 с.

6. Черепанов С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). СПб. : Мир и семья, 1995. 992 с.

7. РД 52.24.643–2002 Метод комплексной оценки степени загрязненности поверхностных вод по гидрохимическим показателям. СПб. : Гидрометеониздат, 2002. 54 с.

8. Дубынина Д. В., Стойко С. М., Сытник К. Макрофиты – индикаторы изменений природной среды. Киев : Наук. думка, 1993. 434 с.

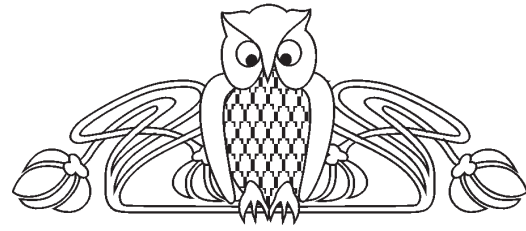


УДК 599.742.42

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА РАЗМЕРОВ ИНДИВИДУАЛЬНОГО УЧАСТКА САМЦОВ И САМОК АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ (*NEOVISON VISON SCHREBER, 1777*) НА ТЕРРИТОРИИ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

А. А. Савонин, А. О. Филиппечев

Саратовский государственный университет
E-mail: savonin.aa@mail.ru



Проведена оценка размеров индивидуальных участков американской норки на водоемах Саратовской области в период с 2000 по 2014 г. Средний размер участка самцов – 30.6 га, самок – 27.8 га. В холодный период на большинстве водоемов размеры участка увеличиваются практически в два раза. Установлено, что самки дальше удаляются от центра русла рек и ручьев, чем самцы (самки – 203.8 м; самцы – 166.7 м). Американская норка больше тяготеет к рекам с широкой поймой ($\chi^2 = 26.2$; $p = 0.01$). Реки с узкой поймой заселяются хищником с меньшей плотностью ($\chi^2 = 15.3$; $p = 0.04$).

Ключевые слова: американская норка, пойма, межполовые различия, ядро участка, кормовая зона, изменение границ, Нижнее Поволжье.

**Seasonal dynamics Individual Plot Sizes
of Males and Females of the American Mink
(*Neovison vison Schreber, 1777*) in the Saratov Region**

A. A. Savonin, A. O. Filipechev

The estimation size of individual plots the American mink on the reservoirs in Saratov region in the period from 2000 to 2014. The average plot size of males – 30.6 hectares, females – 27.8 hectares. During the cold period on most waters plot sizes are increased almost two-fold. Found that females go farther from the center of the rivers and streams than males (females – 203.8 m; males – 166.7 m). American mink is more inclined to the rivers with wide floodplain ($\chi^2 = 26.2$; $p = 0.01$). River with a narrow floodplain populated predator with lower density ($\chi^2 = 15.3$; $p = 0.04$).

Keywords: American mink, floodplain, gender differences, core area, nutrition area, change of borders, Lower Volga region.

Введение

Большинство животных сосредотачивают свою деятельность по сбору пищи, спариванию и уходу за потомством в более или менее ограниченной области, называемой индивидуальным участком [1]. Эффективное потребление ресурсов этой территории возможно только в том случае, когда преимущества, получаемые при ее использовании, превышают затраты как физические, так и энергетические [2–4].

Особенности индивидуальных участков американской норки достаточно хорошо из-

учены как в отечественной [5–7] так и в зарубежной литературе [8–13]. В. Г. Гептнер и др. [5] приводит данные, что средний участок обитания американской норки составляет около 16 га, с возможным колебанием от 10 до 30 га. В северо-западном регионе России размеры участка норки не превышают 10–15 га (в отдельных случаях до 20 га). Кроме того, отмечено, что в холодные и неблагоприятные сезоны участки могут закономерно увеличиваться, а также наблюдаются случаи перемещения особей по водоемам и использование ресурсов, удаленных от них [6]. В Беларуси в результате многолетних исследований местообитаний хищника получены данные о том, что участок может укладываться в интервалы от 5 до 15 га для разных типов водоемов [7–9]. J. Zabala с соавторами [10] проводил исследования участков норки с помощью GPS-трекинга в Испании, по их результатам размеры варьируют от 7 до 18 га, в зависимости от сезонов года и половой принадлежности. Подобные данные приводят в своих работах D. W. MacDonald, L. A. Harrington [11] для США и Новой Зеландии; M. Brzezinski, M. Marzec [12] – Европы. Некоторые особенности индивидуальных участков американской норки на территории Саратовской области были рассмотрены нами ранее [13, 14].

Цель настоящей работы – изучение сезонной динамики размеров индивидуальных участков самцов и самок американской норки на малых и средних реках Саратовской области.

Материалы и методы, район исследования

Исследования проводились на территории Саратовской области на реках Донского бассейна: р. Песчанка (51.90°N, 47.18°E), р. Олышанка (52.19°N, 43.77°E) и р. Медведица (51.41°N, 44.88°E), а также Волжского бассейна: р. Даниловке (50.63°N, 45.59°E) и ручьях в Змеевых



горах (52.06°N, 47.18°E). При выборе модельных водоемов за одну из основных характеристик, определяющих размеры индивидуального участка хищника, была принята ширина поймы. Классификация пойм проводилась по работе В. И. Рычагова [15], согласно которой к рекам с широкой поймой были отнесены р. Песчанка, р. Ольшанка и р. Медведица, а к рекам с узкой поймой – р. Даниловка и ручьи в Змеевых горах.

Р. Песчанка и р. Ольшанка представляют собой средние притоки Хопра протяженностью 16 и 42 км соответственно. Они характеризуются широкой поймой (преобладающая ширина 2–4 км, наибольшая – 6 км, наименьшая – 100 м) и относится к малым равнинным рекам с явно выраженным меандром и пологими берегами, имеющим богатую растительность.

Средняя р. Медведица протекает по Саратовской и Волгоградской областям России, левый приток Дона. Длина реки около 745 км, площадь бассейна 34,7 тыс. км²; ширина от 10 м до 1,5 км. Речная долина состоит из попеременно чередующихся плотной луговой земли, пойменных лугов и болот.

Малая река на территории Даниловского оврага (Красноармейский район, р. Даниловка) имеет протяженность около 20 км и ширину поймы не более 5–10 м. В верхней части овраг имеет V-образную форму и глубину около 15 м, берега крутые. Постепенно овраг переходит в балку. Реку питают многочисленные подземные воды, вытекающие из отрогов. Ширина реки не превышает пяти метров, пойма узкая и слабо развитая.

Ручьи на территории Вольского района, расположенные в овражно-балочной системе около Змеевых гор (возвышенность на берегу р. Волги между районными центрами – Вольском и Воскресенском), имеют схожую топографическую характеристику с р. Даниловка, ширина их не превышает 4–5 м, протяженность от 3 до 8 км.

За период с 2001 по 2014 гг. было закартировано 210 индивидуальных участка самцов и самок американской норки, установлены их протяженность в разные сезоны года, расстояние от центра русла до границы индивидуального участка.

Единой общепринятой типологии структуры индивидуального участка хищных млекопитающих на настоящий момент не существует. В нескольких работах приводится технология выделения зон индивидуального участка куньих (Mustelidae) [13, 14, 16], разных представителей семейства Псовые (Canidae) [17, 18]. В нашем исследовании используется стандартное трехзональное дробление индивидуального участка, отличающееся только терминологией.

В центре располагается *ядро (очаг) участка*, где находятся временные и постоянные убежища. Следующая за ним *кормовая зона (жизненное пространство)*, где норка активно охотится. Между отдельными участками хищника располагается *буферная зона (пространственная оболочка)* – нейтральная территория, с равновероятной возможностью захода любой особи из близлежащих участков. Норки сосредоточены вдоль водоемов, они сильнее подвержены внутривидовой конкуренции ввиду линейности индивидуальных участков. В зависимости от сезона или экологических факторов размеры границу индивидуального участка определяли только как границу кормовой зоны.

Для изучения пространственного размещения норок и структуры их индивидуальных участков применяли маршрутные учеты по следам. Одновременно проводился сбор экскрементов хищника для более точного определения границ участков [19]. Картирование участков выполняли с помощью GPS-трекинга. После определения границ участка наблюдения за животными велись круглогодично [20, 21]. Приуроченность вида к определенному местообитанию оценивалась с помощью критерия нормальности Пирсона (χ^2). В данной работе проверялась нулевая гипотеза преимущественного распределения особей по различным водоемам.

Для оценки статистической значимости динамики индивидуальных участков использовался непараметрический критерий Манна–Уитни (U) [23]. В нашем случае проверялось достоверность количественной оценки изменения индивидуальных участков в зависимости от пола и типа водоема.

Результаты и их обсуждение

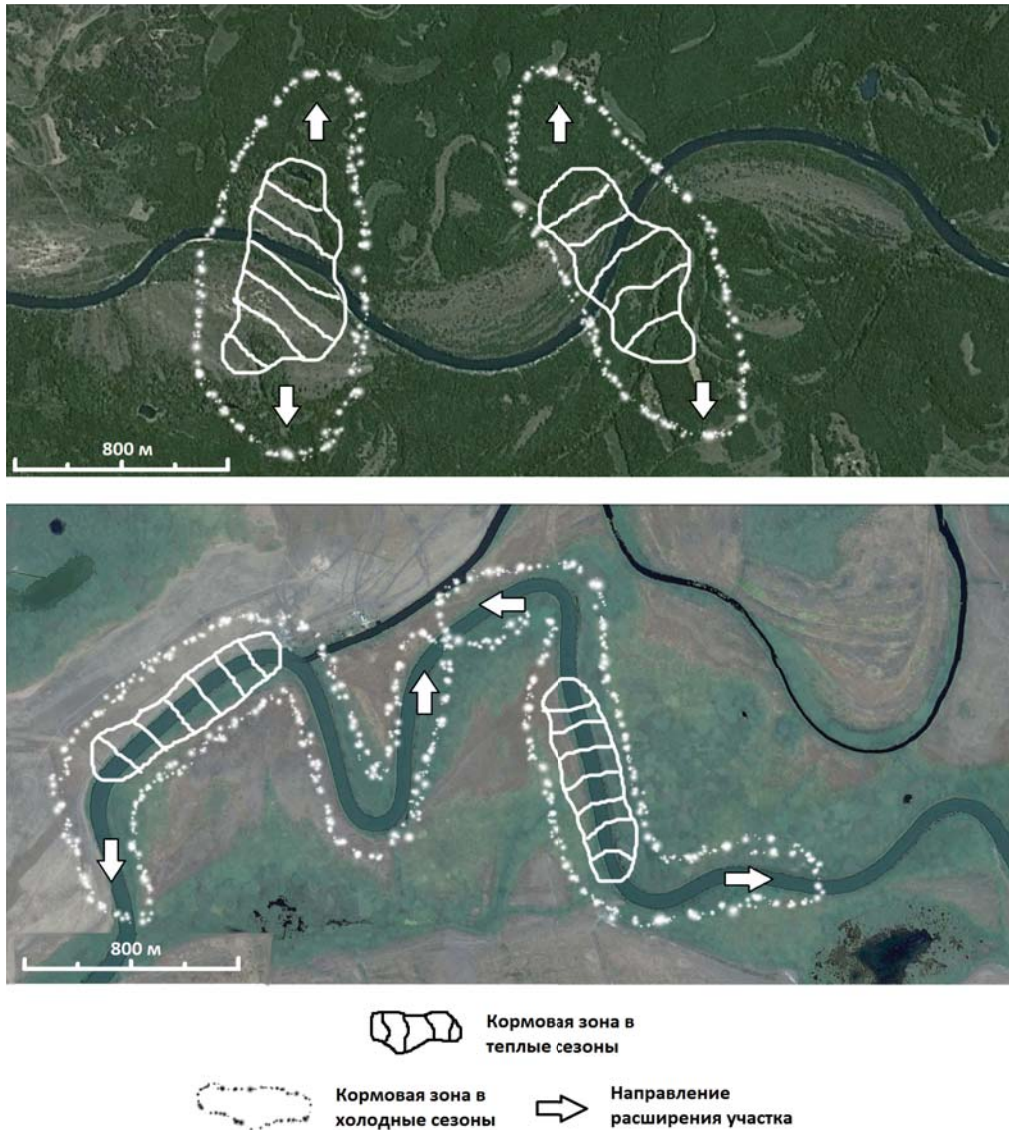
В структуру индивидуального участка американской норки может входить часть побережья реки или озера, или совокупность мелких водоемов. В большинстве случаев каждый зверек занимает изолированный участок. Нарушение границ участков наблюдается осенью во время расселения молодых и весной – самцами во время гона. В период расселения молодых перекрытие и даже совместное использование участков обитания продолжается довольно долго. В отдельные, особенно суровые зимы с ранним замерзанием мелких водоемов зверьки откочевывают из верхнего и среднего течения в устьевые участки, где в таких случаях отмечается совместное обитание нескольких зверьков. Как правило, это происходит после продолжительной летней засухи, когда



уровень воды в водоемах сильно падает, а мелкие ручьи и реки местами пересыхают полностью. С выпадением глубокого снега и установлением низких отрицательных температур активность норок сокращается.

Размеры и очертания индивидуального участка могут сильно изменяться в зависимости

от пола хищника. В отдельных случаях наблюдается совместное использование участка или его части особями разных полов в течение всего года. На малых реках и ручьях индивидуальные участки, особенно в теплый сезон, могут разделяться буферной зоной, размер которой нередко превышает площадь кормового участка (рисунок).



Сезонная динамика в размерах индивидуальных участков американской норки на водоемах с широкой (а) и узкой (б) поймой

Норка активно реагирует на любые изменения, происходящие на ее территории (например, истощение ресурсов), вследствие чего наблюдается изменение границ участка. Это приводит к возрастанию конкурентной борьбы, которая сильнее выражена между самками.

При сравнении индивидуальных участков особей разного пола важное место занимает

ширина поймы. Другая важная характеристика, так называемое «качество местообитания», в нашей работе не затрагивалась, хотя, по данным других исследователей [24, 25], она тоже может оказывать существенное влияние на размер индивидуальных участков. Так, к примеру, район обитания норки коррелирует с растительностью вдоль кромки воды, в



основном это деревья и кустарники, с некоторыми различиями в предпочтениях между полами. Самцы выбирают местообитания с крупными деревьями и кустарниками, а самки с хорошо развитой околоземной растительностью [26].

Проведенные нами исследования показали, что кормовая зона участка американской норки изменяется не только по сезонам года (холодные и теплые), но и в зависимости от пола. Размеры индивидуальных участков американской норки на модельных водоемах представлены в таблице.

Размеры индивидуальных участков самцов и самок американской норки (*N. vison*) в теплый и холодный сезоны

Точки сбора материала	Годы исследования	Среднее значение размера индивидуального участка, га				Расстояние от центра русла до границы участка, м	
		Холодный сезон (ноябрь-апрель)		Теплый сезон (май-октябрь)			
		самцы (n = 129)	самки (n = 81)	самцы (n=129)	самки (n=81)	самцы (n = 129)	самки (n = 81)
Река Песчанка	2001–2013	30.5±1.5	28±1.4	18.8±1.4	16.5±1.7	157±4	174±6
Река Ольшанка	2004–2013	30.1±2.3	25.4±2.1	17.8±1.8	13.9±2.4	218±6	279±7
Река Медведица	2000–2014	51.3±1.5	49.6±1.8	23.3±1.4	20.4±1.9	326±8	400±7
Река Даниловка	2001–2014	40.7±2.6	38.4±1.8	18.6±1.6	15.7±1.5	72.5±3	78.5±4
Ручьи в Змеевых горах	2002–2005	50±1.5	48.6±1.4	25.3±1.9	22.1±1.8	60±5	87.5±6

На реках Ольшанка, Песчанка, Медведица, имеющих широкую пойму, размеры участков норки в холодные сезоны увеличивались примерно в два раза, причем эта тенденция сохраняется и у животных разных полов. Полученные нами числовые данные на этих водоемах статистически достоверны: на р. Песчанка (самцы – $U = 45.2, p = 0.03$; самки – $U = 35.9, p = 0.01$); р. Ольшанка (самцы – $U = 27.2, p = 0.03$; самки – $U = 30.9, p = 0.02$); р. Медведица (самцы – $U = 52.4, p < 0.01$; самки – $U = 47.9, p < 0.01$).

Участки самцов немного больше, чем у самок, хотя никаких статистически достоверных различий в размерах индивидуальных участков для выбранных нами водоемов у разных полов не выявлено.

На реках с узкой поймой ситуация аналогична, размеры участков увеличиваются в холодные сезоны, а участки самцов, как правило, больше по размерам. Данные, полученные на этих водоемах, статистически достоверны: р. Даниловка (самцы – $U = 47.4, p < 0.01$; самки – $U = 42.9, p < 0.01$); ручьи в Змеевых горах (самцы – $U = 24.4, p = 0.03$; самки – $U = 19.9, p = 0.02$). Статистически значимых различий размеров участков между полами в разных водоемах также не выявлено.

Расстояние от центра русла водоема до границы индивидуального участка американской норки определялось только в холодный сезон.

Значение этого параметра также напрямую связано с межполовыми различиями. В отличие от самцов, самки чаще удалялись от ядра участка и проводили там больше времени, в то время как самцы активнее перемещались вдоль русла реки. Это подтверждается и средними значениями данного параметра у самцов и самок (см. таблицу). Наблюдаемый половой диморфизм соответствует индивидуальным предпочтениям куньих, заключающимся в разных энергетических потребностях и особенностях поведения полов [27–29]. Тот факт, что самки сильнее отдавались от рек и ручьев намного дальше самцов, связан с возможной конкуренцией между ними. Во время неблагоприятных периодов года самки не заходят в буферные зоны или соседние участки ввиду возможной агрессии со стороны других особей и вынуждены удаляться от водоема на значительное расстояние.

Наибольшее значение этого параметра отмечено на реках Медведица, Ольшанка и Песчанка. В широкой или заболоченной пойме заметно выше плотность населения и видовое разнообразие мышевидных грызунов, которые служат основным кормом норки в неблагоприятных условиях, в том числе в период морозов [30]. Подобную картину пространственной организации и межполовые различия в перемещениях по индивидуальному участку наблюдается и у других видов куньих. Н. Kruuk [31], работая в Шотландии, отмечал, что самки барсука (*Meles*



meles Linnaeus, 1758) встречались на значительном удалении от центра своего участка, в то время как самцы придерживались только кормовой зоны. Аналогичные данные получены и для североамериканской речной выдры (*Lutra canadensis* Schreber, 1777) [32].

На малой р. Даниловке и ручьях в Змеевых горах самцы и самки американской норки более активно обследуют водоем вдоль береговой линии (см. таблицу). Это заметно сказывается на увеличении контактов особей в буферных зонах и более разреженном заселении местообитаний. Связано это в первую очередь с тем, что ручьи и малые реки поймы Волги находятся в овражной системе, где доступ к мышевидным грызунам территориально ограничен крутыми склонами, поэтому охотничьи маршруты хищника располагаются вдоль береговой линии.

Анализ распределения экскрементов и индивидуальных меток на территории участка, а также данные тропления, с учетом ширины поймы и расстояния от центра русла, показали, что американская норка больше тяготеет к рекам с широкой поймой. Критерий нормальности Пирсона составил на р. Песчанка – $\chi^2 = 25.3$; $p = 0.02$, р. Ольшанка – $\chi^2 = 22.3$; $p = 0.01$, р. Медведица – $\chi^2 = 26.2$; $p = 0.01$. Реки и ручьи с узкой поймой заселены хищником значительно реже. Для р. Даниловка этот показатель составил $\chi^2 = 18$; $p = 0.03$, а для ручьев в Змеевых горах – $\chi^2 = 15.3$; $p = 0.04$. Можно утверждать, что из выбранных модельных водоемов наиболее оптимальные условия обитания для американской норки складываются на реках с широкой поймой и слабым течением, что типично для большинства околоречных хищников. Важно отметить и заметные межполовые различия в использовании индивидуального участка. Самки норки значительно чаще, чем самцы удаляются от ядра участка и охотятся в глубине поймы. Это связано не только с типом водоема и доступности кормов вблизи него, но и с особенностями индивидуального поведения, в частности выраженным соперничеством между особями одного пола.

Список литературы

1. Powell R. A. Animal home ranges and territories and home range estimators // Research techniques in animal ecology. Controversies and consequences. N.Y. : Columbia University Press, 2000. № 15. P. 65–110.
2. Davies N. Ecological questions about territorial behavior // Behavioural ecology, an evolutionary approach. Oxford : Blackwell Scientific Publications, 1978. № 10. P. 317–350.
3. MacDonald D. W. The ecology of carnivore social behavior // Nature. 1983. № 1. P. 379–385.
4. Begon M., Townsend C. R., Harper J. L. Ecology. From individuals to ecosystems. Oxford : Blackwell Publishing, 2006. 752 p.
5. Гентнер В. Г., Наумов Н. П., Юргенсон П. Б., Слудский А. А., Чиркова А. Ф., Банников А. Г. Млекопитающие Советского Союза : в 3 т. Т. 2, ч. 1. Морские коровы и хищные. М. : Высш. шк., 1967. 1014 с.
6. Данилов П. И., Туманов И. Л. Куны Северо-Запада СССР. Л. : Наука, Ленингр. отд-ние, 1976. 256 с.
7. Сидорович В. Е. Куны в Беларуси. Минск : Золотой улей, 1997. 279 с.
8. Sidorovich V., MacDonald D., Kruuk H., Krasko D. Behavioural interactions between the naturalized American mink (*Mustela vison*) and the native riparian *Mustelids* with implications for population changes // Small Carnivore Conservation. 2000. № 22. P. 1–5.
9. Polozov A. G., Zalewski A., Sidorovich V. E. Food niche variation of European and American mink during the American mink invasion in north-eastern Belarus // Biol. Invasions. 2010. № 12. P. 2207–2217.
10. Zabala J., Zuberogoitia I., Martinez-Climent J. A. Spacing pattern, intersexual competition and niche segregation in American mink // Ann. Zool. 2007. № 44. P. 249–258.
11. MacDonald D. W., Harrington L. A. The American mink: the triumph and tragedy of adaptation out of context // New Zealand J. of Zoology. 2003. № 30. P. 421–441.
12. Brzezinski M., Marzec M., Żmihorski M. Spatial distribution, activity, habitat selection of American mink (*Neovision vison*) and polecats (*Mustela putorius*) inhabiting the vicinity of eutrophic lakes in NE Poland // Folia. Zool. 2010. Vol. 59, № 3. P. 183–191.
13. Филиппчев А. О. Эколого-фаунистическая характеристика хищных млекопитающих семейства Куны (*Carnivora, Mustelidae*) севера Нижнего Поволжья : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 2006. 18 с.
14. Филиппчев А. О. Размеры индивидуальных участков и особенности используемых убежищ некоторых видов куньих (*Carnivora, Mustelidae*) на севере нижнего Поволжья // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2012. Т. 12, № 4. С. 39–44.
15. Рычагов Г. И. Общая геоморфология. М. : Изд-во Моск. ун-та; Наука, 2006. 416 с.
16. Kruuk H. The social badger. Oxford : Oxford University Press, 1989. 385 p.
17. Эрнандес-Бланко Х. А., Поярко А. Д., Крутова В. И. Организация семейной группы волков (*Canis lupus lupus*) в Воронежском заповеднике // Зоол. журн. 2005. Т. 85, № 1. С. 80–93.
18. Daniels Thomas J., Bekoff M. Population and social biology of free-ranging dogs, *Canis familiaris* // J. Mammal. 1989. Vol. 70, № 4. P. 754–762.
19. Сидорович В. Е. Пространственная структура и динамика численности популяции американской норки Беларуси. Минск : Экология, 1995. 148 с.



20. Новиков Г. А. Полевые исследования по экологии наземных позвоночных. М. ; Л. : Изд.-во АН СССР, 1953. 499 с.
21. Сидорович В. Е. Куньи в Беларуси. Эволюция, биология, демография и биоценотические связи. Минск : Ураджай, 1997. 263 с.
22. Песенко Ю. А. Принципы и методы количественного анализа и фаунистических исследований М. : Наука, 1982. 288 с.
23. Лакин Г. Ф. Биометрия. 4-е изд. М. : Высш. шк., 1990. 350 с.
24. Yamaguchi N., MacDonald D. W. The burden of co-occurrence : intraspecific resource competition and spacing patterns in American mink // J. Mammal. 2003. № 84. P. 1341–1355.
25. Zabala J., Zuberogoitia I., Garin, I., Aihartza J. R. Landscape features in the habitat selection of European mink in south-western Europe // J. Zool. Lond. 2003. № 260. P. 415–421.
26. Zabala J., Zuberogoitia I., Martnez-Climent J. A. Habitat and landscape features ruling the habitat selection and occupancy of the polecat in a low density area : a multiscale approach // Eur. J. Wildl. Manage. 2007. № 51. P. 157–162.
27. Peters R. H. The ecological implications of body size. Cambridge : Cambridge University Press, 1983. 344 p.
28. Harlow H. J. Trade-offs associated with the size and shape of American martens. Ithaca : Cornell University Press, 1994. № 58. P. 391–403.
29. Zalewski A. Seasonal and sexual variation in the day activity rhythms of pine marten in the Bialowieza National Park // Acta Theriol. 2001. № 46. P. 295–304.
30. Савонин А. А., Филиппчев А. О. Сезонная динамика питания американской норки (*Neovison vison* Schreber, 1777) на территории Волгоградского водохранилища // Самарская Лука : проблемы глобальной и региональной экологии. 2014. Т. 23, № 2. С. 201–208.
31. Kruuk H. Wild otters. Predation and populations. Oxford : Oxford University Press, 1995. 304 p.
32. Reid D. G., Code T. E., Reid A. C. H., Herrero S. M. Spacing, movements and habitat selection of the river otter in boreal Alberta // Can. J. Zool. 1994. № 72. P. 1314–1324.



PERSONALIA

УДК 92:591

К 100-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ПРОФЕССОРА Н. И. ЛАРИНОЙ

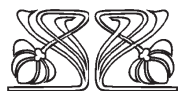
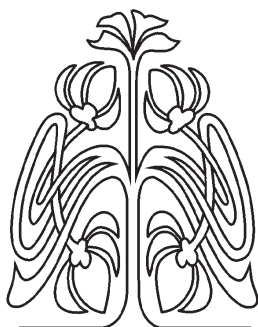
В 2015 г. исполняется сто лет со дня рождения **Нины Ивановны Лариной** – видного российского териолога, крупнейшего специалиста в области популяционной биологии, фенетики, экологии млекопитающих и кариосистематики, заведующей кафедрой зоологии позвоночных животных Саратовского университета (1957–1988).



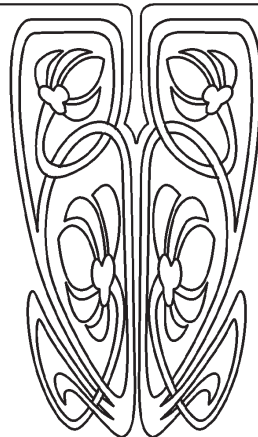
Нина Ивановна Ларина родилась в 1915 г. в Саратове. Её отец, происходивший из крестьян, был сельским учителем, а затем экономистом; мать – учительницей. Среднее образование Нина Ивановна получила в школе № 11 г. Саратова, а в 1932 г. поступила на биологический факультет Саратовского университета, в 1937 г. окончила зоологическое отделение. В студенческие годы она отлично училась и выполняла общественную работу. Еще будучи студенткой она принимала участие в научных исследованиях кафедры зоологии позвоночных, которой руководил проф. Б. К. Фенюк. Летом 1935 г. Нина Ивановна под руководством проф. Е. И. Орлова изучала носителей клещей – переносчиков энцефалита. Параллельно студентка Ларина успевала работать и по своей выбранной теме: распространение сони-полчка в Саратовской области.

Первые научные статьи Нины Ивановны были посвящены экологии мелких мышевидных грызунов и распространению тушканчиков в Приморском и Черноземельском районах Калмыцкой АССР, где она побывала с экспедицией сотрудников биофака. Такая разнообразная научная работа была замечена и оценена заведующим кафедрой проф. Б. К. Фенюком и деканом биофака проф. А. Д. Фурсаевым. Именно эти известные ученые дали Нине Ивановне рекомендацию для поступления на должность лекционного ассистента по кафедре зоологии позвоночных.

Став в 1937 г. преподавателем университета, Нина Ивановна продолжала вести научную работу в области экологии грызунов. Определилась тема ее кандидатской диссертации: «Межвидовые отношения лесных и желтогорлых мышей в связи с процессом видообразования». Она собирает и обрабатывает множество фактических данных по распространению млекопитающих на территории нашей области, исследует важнейшие особенности их



ПРИЛОЖЕНИЯ





экологии, посещает крупнейшие зоологические музеи России, где проводит определение более 1500 коллекционных экземпляров мелких грызунов. Это позволило ей совместно с проф. В. С. Елпатьевским, возглавлявшим тогда кафедру зоологии позвоночных Саратовского университета, и ассистентом В. Л. Голиковой начать планомерное обобщение эколого-фаунистических данных и провести систематизацию сведений по видовому составу и пространственной приуроченности млекопитающих.

После окончания Великой Отечественной войны Н. И. Ларина возобновляет работу над диссертацией и в конце декабря 1946 г. представляет её к защите. Это было оригинальное исследование некоторых дискуссионных вопросов по проблеме совместного обитания морфологически близких видов на примере желтогорлой и лесной мышей. Н. И. Лариной было обосновано существование на Кавказе вторичной межвидовой гибридизации этих видов, выдвинуты предположения о происхождении и распространении близкородственных мышей. В ходе защиты диссертации ей удалось отстоять собственную точку зрения о том, что лесная мышь является более древним, третичным видом, в то время как желтогорлая мышь обособилась от лесной уже в четвертичном периоде.

В 1943 г. в семье Нины Ивановны рождается дочь Елена, а в 1950 г. – Ирина. В 1948 г. Н. И. Ларина становится доцентом кафедры зоологии позвоночных, а в 1950 г. избирается депутатом Саратовского городского Совета по 262-му избирательному округу. В конце 1953 г. Н. И. Ларина назначается деканом биологического факультета университета. Примечательно, какой своеобразный отзыв о работе Нины Ивановны в те годы дает проф. В. С. Елпатьевский: «... в коллективе пользуется большим доверием и авторитетом, как хороший товарищ, всегда готовый оказать поддержку и помочь советом. Для ее энергии еще много простора и в делах кафедры, и в делах факультета». За успешную производственную и общественную работу Нине Ивановне неоднократно выносилась благодарность приказом по университету.

В 1950-е гг. Нина Ивановна разработала и читала много курсов лекций по общей и почвенной зоологии, зоогеографии, экологии животных, териологии, систематике грызунов, вела практические занятия по зоологии позвоночных, гистологии, эмбриологии, большой спецпрактикум, полевую и производственную практики, руководила курсовыми и дипломными работами. В 1953 г. за безупречную работу была награждена орденом

«Знак Почета». В марте 1957 г. Н. И. Ларина становится заведующей кафедрой зоологии позвоночных животных, которую она возглавляла более тридцати лет.

В 1955–1961 гг. Нина Ивановна Ларина обобщает огромный материал по межвидовой гибридизации близкородственных мышей, выясняет особенности совместного использования территории их местообитаний, морфологические признаки, удобные для выделения подвидов. Результатом этой работы стала докторская диссертация, которая была успешно защищена в 1962 г.

С начала 1960-х гг. и в последующее двадцатилетие на биологическом факультете университета работает комплексная экспедиция по природному районированию Саратовского Заволжья и изучению воздействий Волгоградского и Саратовского водохранилищ на природные экосистемы. Териологические исследования в этот период заметно оживляются. Под руководством Н. И. Лариной аспирант В. П. Денисов изучает распространение и экологию малого, крапчатого и рыжеватого сусликов. Уточняются районы совместного проживания первых двух видов и расположение зон их гибридизации, исследуется зависимость плотности поселений грызунов от особенностей растительного покрова. Аспирант С. Н. Семихатова изучает экологию редкого охраняемого вида – степного сурка. На кафедре зоологии позвоночных продолжают углубленные исследования региональной фауны, изучаются экологические зональные комплексы млекопитающих, постепенно накапливаются знания по популяционной структуре мышевидных грызунов и экологии охотничье-промысловых видов животных.

Появляются новые направления научных исследований, связанные с развитием кариосистематики, популяционной биологии, фенетики и этологии млекопитающих. Териологов и систематиков давно интересовала межвидовая гибридизация как одно из возможных направлений эволюции млекопитающих. Саратовскими учеными под руководством Н. И. Лариной впервые описаны хромосомные наборы не только близкородственных видов (малого и крапчатого сусликов), но и их гибридов в зоне перекрытия ареалов этих грызунов. Очень интересна и важна с теоретической точки зрения проблема видов-двойников. Среди млекопитающих известно немало видов, которые отличаются только хромосомными наборами, в то время как все остальные морфологические признаки у них совершенно сходны. Изученные материалы по морфологии, экологии и кариологии



позволили Н. И. Лариной с соавторами сделать монографическое описание восточно-европейской полевки (1982).

С начала 1970-х гг. под руководством Нины Ивановны быстро развиваются морфологические, генетические и фенетические исследования полиморфизма млекопитающих. Работы этого периода группируются вокруг нескольких проблем. Были собраны и обработаны материалы по феногеографической изменчивости разных видов грызунов и сделан их сравнительный анализ. Продолжилось изучение хромосомного полиморфизма на примере различных млекопитающих. Особое внимание уделялось выявлению динамики фенетической структуры изолированных островных популяций мелких грызунов под влиянием волн численности и условий обитания. Глубокая разработка нового фенетического направления исследований сделала необходимым проведение тщательного отбора методов и приемов работы, обращение к общим проблемам фенетики. В соавторстве с чл.-корр. АН СССР А. В. Яблоковым Н. И. Лариной было написано пособие для студентов, которое остается до сих пор единственным подробным руководством по фенетике популяций.

В 1980-х гг. начинаются комплексные исследования надорганизменных биологических систем (популяций) в условиях возрастающего антропогенного воздействия. Модельным объектом были выбраны островные поселения мелких грызунов поймы Волгоградского водохранилища. Изучались особенности размещения и пространственной структуры их популяций, влияние гидрологического режима водохранилища на динамику численности и размещение млекопитающих, особенности роста и развития лесных мышей, морфологические характеристики пищеварительного тракта полевок.

С 1970 г. Н. И. Ларина редактирует межвузовский сборник «Физиологическая и популяционная экология животных», высоко оцененный научной общественностью: её редакторская деятельность отмечена грамотой Минвуза РСФСР. Н. И. Ларина ведет большую научно-организационную работу в высших учебных заведениях Поволжского региона. Она являлась членом бюро рабочей группы Советской национальной программы «Человек и биосфера», членом Центрального совета Всесоюзного териологического общества АН СССР, председателем Саратовского отделения териологического общества. На

биологическом факультете нашего университета под руководством Н. И. Лариной были организованы и проведены (совместно с ИБР АН СССР) первое Всесоюзное совещание по фенетике популяций (Саратов, 1976) и пятое Всесоюзное совещание по грызунам (Саратов, 1980).

Научная деятельность проф. Н. И. Лариной в последние годы жизни была посвящена проблемам микроэволюции и изучению надорганизменных биологических систем, которые проводились на основе координационных планов АН СССР в рамках международной и советской программ «Человек и биосфера».

Н. И. Ларина всегда уделяла много сил и времени своим ученикам. Под ее руководством выполнено и защищено 13 кандидатских и 1 докторская диссертация, огромному числу соискателей Нина Ивановна помогла советами и участием. Во взаимоотношениях со своими соратниками и коллегами она умела сочетать требовательность и доброжелательность, обладала замечательной способностью привлекать к себе других людей и делать их своими единомышленниками. Во всех начинаниях у Нины Ивановны появлялись помощники, последователи, ученики; она заражала своим интересом к науке других людей, вела их за собой. На кафедре зоологии она поддерживала не только сложившиеся научные направления, но и продолжала традиции русской университетской школы, которые были заложены И. Б. Волчанецким, Б. К. Фенюком и В. С. Елпатьевским. Ее всегда отличали безупречная культура общения, умение уделить внимание, выслушать своего собеседника или научного оппонента и лишь затем переубедить его, открыть перед ним новые перспективы работы.

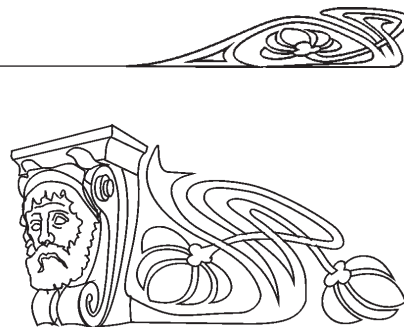
Ближних соратников и коллег всегда поражало, как легко Нина Ивановна ориентировалась в самых разнообразных вопросах биологии. Она была человеком широкой культуры и всесторонних научных интересов: от зоогеографии и систематики до популяционной биологии. Не многие знают, сколько помнила Нина Ивановна стихов, русских пословиц, метких выражений.

Н. И. Ларина имела очень редкое качество – она пользовалась не только научным, но и большим человеческим авторитетом, глубоким уважением всех, кому посчастливилось с ней работать.

*Г. В. Шляхтин,
А. В. Беляченко*

УДК 92:577, 579

К ЮБИЛЕЮ ВЛАДИМИРА ВЛАДИМИРОВИЧА ИГНАТОВА



Владимиру Владимировичу Игнатову, доктору биологических наук, профессору, заслуженному деятелю науки РФ, известному биохимику и микробиологу, вся трудовая деятельность которого связана с нашим университетом, 13 февраля 2015 г. исполнилось 80 лет.

Владимир Владимирович после окончания обучения в 1960 г. в Саратовском медицинском институте, а в 1963 – аспирантуры на кафедре биохимии в 1964 г. защитил кандидатскую диссертацию и два года работал ассистентом на той же кафедре. Нужно сказать, что кафедра биохимии была выведена из структуры университета в 1931 г. вместе с выделившимся медицинским факультетом, преобразованным в институт. Долгие годы читать лекции по биохимии студентам-биологам приходили преподаватели мединститута.

В 1966 г. тогда молодой кандидат наук В. В. Игнатов был приглашён на работу на должность доцента кафедры физиологии растений и микробиологии биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского (СГУ).

Очень скоро проявился организаторский талант молодого учёного: Владимир Владимирович организует при кафедре лабораторию биохимии и биофизики, которая в 1977 г. преобразуется в кафедру того же названия. В 1976 г. В. В. Игнатов защищает докторскую диссертацию и с 1978 г.,

получив звание профессора, возглавляет воссозданную им кафедру биохимии и биофизики.

Начало научной деятельности В. В. Игнатова относится к 1960 г., когда им и под его руководством коллективом кафедры был выполнен цикл работ по характеристике возбудителя гнойных инфекций и пищевых отравлений человека и животных – стафилококка. Исследованию стафилококков В. В. Игнатов посвятил более 20 лет. Основные направления этих работ связаны с всесторонним изучением молекулярных основ формирования лекарственной устойчивости у микроорганизмов, особенностей строения и биосинтеза мембран стафилококков.

С опорой на коллектив преподавателей, аспирантов кафедры и биологического факультета в 1980 г. В. В. Игнатов организует в Саратове Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов АН СССР (ныне Российской академии наук) (ИБФРМ РАН). На протяжении последующих 28 лет Владимир Владимирович возглавляет ИБФРМ РАН, руководит лабораторией биохимии и по-прежнему всячески поддерживает кафедру биохимии и биофизики в университете.

С 1980 г. изменяется и направление его научной работы: начинаются исследования, связанные с молекулярными аспектами взаимодействия ризосферных микроорганизмов с корневой системой растений, существенно углубившее представления о молекулярном и клеточном механизмах процессов формирования эффективных ассоциативных симбиозов. При этом научные направления кафедры переходят в университет, и наоборот.

В. В. Игнатов и его ученики в настоящее время владеют уникальной коллекцией ризосферных микроорганизмов, в значительной мере выделенных из-под культурных злаков Поволжья, и самой большой коллекцией в стране представителей рода *Azospirillum*, которая представляет большую ценность как для теоретиков, так и для практиков, создающих микробные препараты для нужд сельскохозяйственной биотехнологии.

Значительная часть работ по биохимии азоспирилл связана с исследованиями хемотактического поведения клеток микроорганизмов по



отношению к компонентам корневых выделений растений-хозяев, с исследованием молекулярных механизмов контактного взаимодействия азоспирилл с корневой поверхностью пшеницы. Именно эти работы привели к необходимости систематического изучения структуры и свойств биополимеров поверхности бактерий, опосредующих некоторые стадии взаимодействия растений и микроорганизмов: полисахаридных комплексов, лектинов бактерий и растений, в том числе агглютина проростков (зародышей) пшеницы. Эти направления исследований и сейчас активно разрабатываются.

Начиная с 1980-гг. под руководством В. В. Игнатова была выполнена серия работ по исследованию выделенного после СВЧ-воздействия мутанта почвенной бациллы *Bacillus polymyxa* – продуцента экзополисахарида – перспективного аналога ксантана. Были исследованы химические и физико-химические свойства этого полисахарида, названного полимиксаном, который является весьма перспективным для нефтяной промышленности.

Научная деятельность В. В. Игнатова отражена в около 400 отечественных и зарубежных публикациях, шести авторских свидетельствах, четырех монографиях.

В 1995–1997 гг. им был получен грант Международной Соросовской программы в области точных наук по подпрограмме «Соросовские профессора». Многие годы исследования В. В. Игнатова поддерживаются грантами Российского фонда фундаментальных исследований, Президента РФ по поддержке ведущих научных школ, Министерства науки и образования РФ.

В. В. Игнатов ведет большую научно-организаторскую и общественную работу. В 1963 г. им было организовано Саратовское отделение биохимического общества, а в 1970 – Отделение микробиологического общества, которые сейчас активно работают. С 1996 г. он является делегатом России в Федерации Европейских микробиологических обществ (FEMS). Владимир

Владимирович был организатором Саратовского сельскохозяйственного биотехнологического центра и Всероссийского научно-исследовательского и проектно-технологического института сельскохозяйственной биотехнологии, а также членом Совета ректоров Саратова, многие годы он являлся председателем Совета директоров научного центра АН СССР Саратова, вел большую работу в городе и области по организации экологического движения. В. В. Игнатов – член научных советов по биохимии и микробиологии Российской академии наук, член ряда ученых советов и редколлегии журналов. В. В. Игнатов хорошо известен широкому кругу специалистов-микробиологов в нашей стране и за рубежом своими работами в области биохимии и физиологии микроорганизмов. Многие годы он являлся вице-президентом Российского микробиологического общества при РАН и много делал для развития микробиологии и биохимии в нашей стране.

В. В. Игнатов долгие годы вел плодотворную работу по подготовке высококвалифицированных специалистов-биологов, работая заведующим кафедрой и профессором на кафедре биохимии и биофизики СГУ. Под его руководством создан Учебно-научный центр физико-химической биологии Саратовского государственного университета и ИБФРМ РАН, который он и возглавляет по сей день. Под его руководством защищены более 50-ти кандидатских и докторских диссертаций.

По инициативе В. В. Игнатова в Саратове систематически проводятся научные школы для биохимиков и микробиологов, консультации и рабочие совещания по важным научно-хозяйственным проблемам с использованием современных биотехнологий, на которые приезжают отечественные и зарубежные специалисты.

От лица многочисленных учеников и коллег горячо поздравляем Владимира Владимировича с Юбилеем и желаем творческих успехов в его многогранной деятельности и крепкого здоровья.

С. А. Коннова



СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Абрамов Александр Юрьевич – старший научный сотрудник отдела электроформования ОНИ НС и БС СГУ, канд. физ.-мат. наук. E-mail: abramovay85@mail.ru

Аль-Саиди Мохаммед Забун Тхани – аспирант Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: m19z73@yahoo.com

Аникин Василий Викторович – профессор кафедры морфологии и экологии животных биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, д-р биол. наук. E-mail: anikinvasiliiv@mail.ru

Байбурдов Тельман Андреевич – директор ООО «Саратовский химический завод акриловых полимеров «АКРИПОЛ», доцент, канд. хим. наук. E-mail: bta@acrypol.ru

Белова Лидия Анатолиевна – студент Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: belovalidia2312@yandex.ru

Беляченко Александр Владимирович – доцент кафедры морфологии и экологии животных биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: veliger59@mail.ru

Беризовская Елена Игоревна – научный сотрудник ФГУП «Научный центр «Сигнал» (г. Москва). E-mail: nik-yurasov@yandex.ru

Болдырев Владимир Александрович – заведующий кафедрой ботаники и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, профессор, д-р биол. наук. E-mail: boldyrevva@info.sgu.ru

Васин Вячеслав Вениаминович – научный сотрудник ФГУП «Научный центр «Сигнал» (г. Москва). E-mail: nik-yurasov@yandex.ru

Володина Виктория Викторовна – научный сотрудник лаборатории ихтиопатологии Каспийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства (г. Астрахань). E-mail: kaspiy@astranet.ru

Воронин Максим Юрьевич – доцент кафедры морфологии и экологии животных биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: voroninmj@yandex.ru

Гаркушин Иван Кириллович – заведующий кафедрой общей и неорганической химии Самарского государственного технического университета, профессор, д-р хим. наук. E-mail: baschem@samgtu.ru

Гахраманов Сулейман Галиб – студент биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: torgaschkova88@mail.ru

Гегель Наталья Олеговна – заместитель начальника отдела высокомолекулярных соединений ОНИ НС и БС Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. хим. наук. E-mail: gegel@yandex.ru

Гончаров Валерий Михайлович – ведущий научный сотрудник ФГУП «Научный центр «Сигнал», доцент, канд. хим. наук (г. Москва). E-mail: nik-yurasov@yandex.ru

Гринёв Вячеслав Сергеевич – научный сотрудник лаборатории биохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов), канд. хим. наук. E-mail: grinev@ibppm.sgu.ru.

Грушко Мария Павловна – профессор кафедры гидробиологии и общей экологии Астраханского государственного технического университета, д-р биол. наук. E-mail: kaspiy@astranet.ru

Давиденко Ольга Николаевна – доцент кафедры ботаники и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: biosovet@sgu.ru

Дворянова Екатерина Михайловна – доцент кафедры общей и неорганической химии Самарского государственного технического университета, канд. хим. наук. E-mail: dvoryanova_kat@mail.ru

Еловенко Алена Юрьевна – студент биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: ekmosolova@mail.ru

Занина Марина Анатольевна – декан факультета естественно-научного и педагогического образования Балашовского института Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, доцент, канд. сел.-хоз. наук. E-mail: zanmarina@yandex.ru

Золотарева Наталья Валерьевна – старший научный сотрудник Института экологии растений и животных УрО РАН (г. Екатеринбург), канд. биол. наук. E-mail: nvr@iraе.uran.ru

Золотухин Афанасий Иванович – заведующий кафедрой биологии и экологии Балашовского института Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, доцент, канд. биол. наук. E-mail: febzolotuhin@yandex.ru

Кашин Александр Степанович – профессор кафедры методики преподавания биологии и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, д-р биол. наук. E-mail: kashinas@sgu.ru

Козырева Елена Алексеевна – аспирант биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: kozyreva_e@bk.ru

Коннова Светлана Анатольевна – заведующий кафедрой биохимии и биофизики биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, профессор, д-р биол. наук. E-mail: konnovasa@yandex.ru

Крицкая Татьяна Алексеевна – аспирант биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: kriczkaya.tatyana@mail.ru

Крючкова Елена Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории экологической биотехнологии Институ-



та биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов). E-mail: kryu-lena@yandex.ru

Левина Елена Сергеевна – студент биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: torgaschkova88@mail.ru

Лобачев Анатолий Леонидович – заведующий кафедрой аналитической и экспертной химии Самарского государственного университета, профессор, д-р хим. наук. E-mail: lobachev@samsu.ru

Лысенко Татьяна Михайловна – старший научный сотрудник лаборатории проблем фиторазнообразия Института экологии Волжского бассейна (г. Тольятти), канд. биол. наук. E-mail: biosovet@sgu.ru

Любунь Елена Валентиновна – старший научный сотрудник лаборатории экологической биотехнологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов), канд. биол. наук. E-mail: lyubun@ibppm.sgu.ru

Малинин Александр Витальевич – ведущий научный сотрудник ФГУП «Научный центр «Сигнал», доцент, канд. мед. наук (г. Москва). E-mail: nik-yurasov@yandex.ru

Малинкина Ольга Николаевна – инженер отдела высокомолекулярных соединений ОНИ НС и БС Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: olga-malinkina@yandex.ru

Монахова Юлия Борисовна – научный сотрудник Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. хим. наук. E-mail: yul-monakhova@mail.ru

Мосолова Екатерина Юрьевна – доцент кафедры морфологии и экологии животных биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: ekmosolova@mail.ru

Невский Сергей Александрович – доцент кафедры ботаники и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: biosovet@sgu.ru

Неврюева Наталия Владимировна – старший преподаватель Саратовского государственного медицинского университета имени В. И. Разумовского, канд. хим. наук. E-mail: natasha.k.83@mail.ru

Нешко Александра Андреевна – аспирант Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов). E-mail: aansanura@rambler.ru

Пальцев Илья Сергеевич – аспирант геологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: rnv85@list.ru

Панкратов Алексей Николаевич – профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, д-р хим. наук. E-mail: pankratovan@info.sgu.ru

Перельгин Валерий Сергеевич – ведущий научный сотрудник ФГУП «Научный центр «Сигнал» (г. Москва). E-mail: nik-yurasov@yandex.ru

Пичкаев Олег Викторович – аспирант Самарского государственного технического университета. E-mail: legpichkaev@rambler.ru

Плешакова Екатерина Владимировна – профессор кафедры биохимии и биофизики биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, д-р биол. наук. E-mail: plekat@rambler.ru

Подгаевская Елена Николаевна – научный сотрудник Института экологии растений и животных УрО РАН (г. Екатеринбург), канд. биол. наук. E-mail: enp@ipae.uran.ru

Полещук Татьяна Олеговна – студент биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: plekat@rambler.ru

Попов Николай Владимирович – заведующий лабораторией эпизоотологического мониторинга ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», д-р биол. наук, профессор. E-mail: porov47@mail.ru

Решетников Михаил Владимирович – заведующий лабораторией геоэкологии и экологической геохимии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. геогр. наук. E-mail: rnv85@list.ru

Савонин Алексей Александрович – аспирант биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: savonin.aa@mail.ru

Смирнова Татьяна Дмитриевна – профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, доцент, канд. хим. наук. E-mail: smirnovatd@mail.ru

Ступенькова Людмила Леонидовна – начальник научно-исследовательского центра ООО «Саратовский химический завод акриловых полимеров «АКРИПОЛ», канд. хим. наук. E-mail: sl11956@yandex.ru

Табачишин Василий Григорьевич – старший научный сотрудник Саратовского филиала Института проблем экологии и эволюции имени А. Н. Северцова РАН, заведующий Зоологическим музеем Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: tabachishinvg@sevin.ru

Торгашкова Ольга Николаевна – доцент кафедры ботаники и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: torgaschkova88@mail.ru

Турковская Ольга Викторовна – заведующий лабораторией экологической биотехнологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов), профессор, д-р биол. наук. E-mail: ovtur@ibppm.sgu.ru

Удовиков Анатолий Иванович – старший научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», д-р биол. наук. E-mail: udovikovau@mail.ru

Федоненко Юлия Петровна – старший научный сотрудник лаборатории биохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов), канд. биол. наук. E-mail: fedonenko@yandex.ru

Федорова Надежда Николаевна – профессор кафедры гидробиологии и общей экологии Астраханского государственного технического университета, д-р мед. наук. E-mail: kaspiy@astranet.ru



Филипьев Алексей Олегович – доцент кафедры морфологии и экологии животных биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: badger13@yandex.ru

Фомина Валентина Ивановна – старший научный сотрудник отдела высокомолекулярных соединений ОНИ НС и БС Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: fomina.oni@yandex.ru

Фомина Наталья Валерьевна – аспирант Самарского государственного университета. E-mail: nkichimaeva@mail.ru

Цивилева Ольга Михайловна – ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов), д-р биол. наук. E-mail: tsivileva@ibppm.sgu.ru

Цымбал Олег Александрович – аспирант Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: olegtsymbal1990@yandex.ru

Шиповская Анна Борисовна – заведующий кафедрой полимеров Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, начальник отдела высокомолекулярных соединений ОНИ НС и БС Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, д-р хим. наук. E-mail: shipovskayaab@rambler.ru

Шляхтин Геннадий Викторович – декан биологического факультета, заведующий кафедрой морфологии и экологии животных биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, профессор, д-р биол. наук. E-mail: biofac@sgu.ru

Штыков Сергей Николаевич – профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, д-р хим. наук. E-mail: shtykovsn@mail.ru

Юрасов Николай Александрович – старший научный сотрудник лаборатории неорганической химии Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. хим. наук. E-mail: nik-yurasov@yandex.ru



INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Abramov Alexandr Yurievich – Senior Researcher, Division of Electrospinning, Educational Research Institute of Nanostructures and Biosystems, Saratov State University, Ph. D. E-mail: abramovay85@mail.ru

Al-Saidi Mochammed Zabun Thani – Graduate Student, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: m19z73@yahoo.com

Anikin Vasilii Viktorovich – Professor, Chair of Animals Morphology and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Doctor of Biological Science. E-mail: anikinvasiliiv@mail.ru

Bayburdov Telman Andreevich – Director, «AKRIPOL» (Saratov), Associate Professor, Ph. D. E-mail: bta@acrypol.ru

Belova Lidiya Anatolievna – Student, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: belovalidia2312@yandex.ru

Belyachenko Aleksandr Vladimirovich – Associate Professor, Chair of Animals Morphology and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: badger13@yandex.ru

Berizovskaya Elena Igorevna – Research Associate, «Signal» (Moscow). E-mail: nik-yurasov@yandex.ru

Boldyrev Vladimir Alexandrovich – Head of Chair of Botany and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Professor, Doctor of Biological Science. E-mail: boldyrevva@info.sgu.ru

Davidenko Olga Nikolaevna – Associate Professor, Chair of Botany and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: biosovet@sgu.ru

Dvoryanova Ekaterina Michailovna – Associate Professor, Chair of General and Inorganic Chemistry, Samara State Technical University, Ph. D. E-mail: dvoryanova_kat@mail.ru

Elovenko Alena Yurievna – Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: ekmosolova@mail.ru

Fedonenko Yulia Petrovna – Senior Researcher, Laboratory of Biochemistry, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (Saratov), Ph. D. E-mail: room308@ibppm.sgu.ru

Fedorova Nadezhda Nikolaevna – Professor, Chair of Hydrobiology and General Ecology, Astrakhan State Technical University, Doctor of Medical Science. E-mail: kaspiy@astranet.ru

Filipechev Alexey Olegovich – Associate Professor, Chair of Animals Morphology and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: badger13@yandex.ru

Fomina Natalia Valerievna – Graduate Student, Samara State Technical University. E-mail: nkichimaeva@mail.ru

Fomina Valentina Ivanovna – Senior Researcher, Division of Macromolecular Compounds, Educational Research Institute of Nanostructures and Biosystems, Saratov State University. E-mail: fomina.oni@yandex.ru

Garkushin Ivan Kirillovich – Head of Chair of General and Inorganic Chemistry, Samara State Technical University, Professor, Doctor of Chemical Sciences. E-mail: baschem@samgtu.ru

Gegel Natalia Olegovna – Deputy Chief, Division of Macromolecular Compounds, Educational Research Institute of Nanostructures

and Biosystems, Saratov State University, Ph. D. E-mail: gegel@yandex.ru

Goncharov Valery Michailovich – Leading Researcher, «Signal» (Moscow), Associate Professor, Ph. D. (E-mail: nik-yurasov@yandex.ru

Grinev Vyacheslav Sergeevich – Research Associate, Laboratory of Biochemistry, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (Saratov). Ph. D. E-mail: room308@ibppm.sgu.ru.

Grushko Maria Pavlovna – Professor, Chair of Hydrobiology and General Ecology, Astrakhan State Technical University, Doctor of Biological Science. E-mail: kaspiy@astranet.ru

Kashin Alexandr Stepanovich – Professor, Chair of Methods of Teaching of Biology and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Doctor of Biological Science. E-mail: kashinas2@yandex.ru

Konnova Svetlana Anatolievna – Head of Chair of Biochemistry and Biophysics, Biological Department, Saratov State University, Professor, Doctor of Biological Science. E-mail: konnovasa@yandex.ru

Kozyreva Elena Alexeevna – Graduate Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: kozyreva_e@bk.ru

Kritzskaya Tatyana Alexeevna – Graduate Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: kriczkaya.tatyana@mail.ru

Kryuchkova Elena Vladimirovna – Junior Researcher, Laboratory of Environmental Biotechnology, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (Saratov). E-mail: kryu-lena@yandex.ru

Levina Elena Sergeevna – Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: torgaschkova88@mail.ru

Lobachev Anatoly Leonidovich – Head of Chair of Analytical and Expert Chemistry, Samara State Technical University, Professor, Doctor of Chemical Sciences. E-mail: lobachev@samsu.ru

Lysenko Tatiana Michailovna – Senior Researcher, Laboratory of Problems Phytodiversity, Institute of Ecology of Volga Basin (Toliaty), Ph. D. E-mail: biosovet@sgu.ru

Lyubun Elena Valentinovna – Senior Researcher, Laboratory of Environmental Biotechnology, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (Saratov), Ph. D. E-mail: lyubun@ibppm.sgu.ru

Malinin Alexandr Vitalievich – Leading Researcher, «Signal» (Moscow), Associate Professor, Ph. D. E-mail: nik-yurasov@yandex.ru

Malinkina Olga Nikolaevna – Engineer, Education and Research Institute of Nanostructures and Biosystems, Saratov State University. E-mail: olga-malinkina@yandex.ru

Monakhova Yulia Borisovna – Research Associate, Institute of Chemistry, Saratov State University, Ph. D. E-mail: yul-monakhova@mail.ru



Mosolova Ekaterina Yurievna – Associate Professor, Chair of Animals Morphology and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: ekmosolova@mail.ru

Neshko Alexandra Andreevna – Graduate Student, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (Saratov). E-mail: aansanura@rambler.ru

Nevryueva Natalia Vladimirovna – Senior Lecturer, Saratov State Medical University, Ph. D. E-mail: natasha.k.83@mail.ru

Nevskiy Sergey Alexandrovich – Associate Professor, Chair of Botany and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: biosovet@sgu.ru

Paltsev Ilya Sergeevich – Graduate Student, Geological Department, Saratov State University. E-mail: rmv85@list.ru

Pankratov Alexey Nickolaevich – Professor, Chair of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, Institute of Chemistry, Saratov State University, Doctor of Chemical Sciences. E-mail: pankratovan@info.sgu.ru

Pereygin Valery Sergeevich – Leading Researcher, «Signal» (Moscow). E-mail: nik-yurasov@yandex.ru

Pichkaev Oleg Viktorovich – Graduate Student, Samara State Technical University. E-mail: legpichkaev@rambler.ru

Pleshakova Ekaterina Vladimirovna – Professor, Chair of Biochemistry and Biophysics, Biological Department, Saratov State University, Doctor of Biological Science. E-mail: plekat@rambler.ru

Podgaevskaya Elena Nikolaevna – Research Associate, Institute of Plant and Animal Ecology (Ekaterinburg). Ph. D. E-mail: enp@ipae.uran.ru

Poleshchuk Tatiana Olegovna – Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: plekat@rambler.ru

Popov Nikolay Vladimirovich – Head of Laboratory of Monitoring Epizootic, Russian Research Antibubon Institute «Microb» (Saratov), Doctor of Biological Science. E-mail: popov47@mail.ru

Qahramanov Suleyman Galib – Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: torgaschkova88@mail.ru

Reshetnikov Michail Vladimirovich – Head of Laboratory of Geocology, Saratov State University, Ph. D. E-mail: rmv85@list.ru

Savonin Alexey Alexandrovich – Graduate Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: savonin.aa@mail.ru

Shipovskaya Anna Borisovna – Head of Chair of Polymers, Institute of Chemistry, Saratov State University, Doctor of Chemical Sciences. E-mail: shipovskayaab@rambler.ru

Shlyakhtin Gennady Viktorovich – Dean of Biological Department, Head of Chair of Animals Morphology and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Professor, Doctor of Biological Science. E-mail: biofac@sgu.ru

Shtykov Sergey Nikolaevich – Professor, Chair of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, Institute of Chemistry, Saratov State University, Doctor of Chemical Sciences. E-mail: shtykovsn@mail.ru

Smirnova Tatiana Dmitrievna – Professor, Chair of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, Institute of Chemistry, Saratov State University, Ph. D. E-mail: smirnovatd@mail.ru

Stupen'kova Lujdmila Leonidovna – Head of Research Center, «AKRIPOL», Ph. D. E-mail: sl1956@yandex.ru

Tabachishin Vasilii Grigorievich – Senior Research Assistant, Saratov Branch of RAS Institute of ecology and evolution problems (Saratov), Head of Zoological Museum, Saratov State University, Ph. D. E-mail: hrustovav@forpost.ru

Torgashkova Olga Nikolaevna – Associate Professor, Chair of Botany and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: torgaschkova88@mail.ru

Tsvileva Olga Mikhailovna – Leading Researcher, Laboratory of Microbiology, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (Saratov), Doctor of Biological Sciences. E-mail: tsvileva@ibppm.sgu.ru

Tsymbal Oleg Alexandrovich – Graduate Student, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: olegtsymbal1990@yandex.ru

Turkovskaya Olga Viktorovna – Head of the Laboratory of Environmental Biotechnology, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (Saratov), Professor, Doctor of Biological Science. E-mail: ovtur@ibppm.sgu.ru

Udovikov Anatoly Ivanovich – Senior Researcher, Laboratory of Monitoring Epizootic, Russian Research Antibubon Institute «Microb» (Saratov), Doctor of Biological Science. E-mail: udovikovau@mail.ru

Vasin Vaycheslav Veniaminovich – Research Associate, «Signal» (Moscow). E-mail: nik-yurasov@yandex.ru

Volodina Viktoria Viktorovna – Research Associate, Laboratory of Ichthyopathology, Caspian Research Institute of Fisheries (Astrakhan). E-mail: kaspivy@astranet.ru

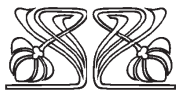
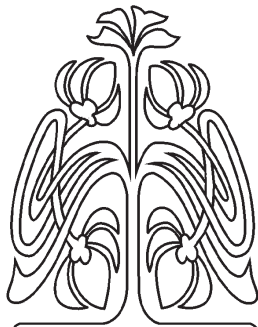
Voronin Maxim Yurievich – Associate Professor, Chair of Animals Morphology and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: voroninmj@yandex.ru

Yurasov Nikolay Alexandrovich – Senior Researcher, Laboratory of Inorganic Chemistry, Institute of Chemistry, Saratov State University, Ph. D. E-mail: nik-yurasov@yandex.ru

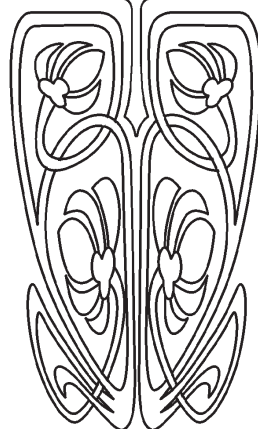
Zanina Marina Anatolievna – Dean of Department of Natural Sciences and Pedagogical Education, Balashov Institute, Saratov State University, Associate Professor, Ph. D. E-mail: zanmarina@yandex.ru

Zolotareva Natalia Valerievna – Senior Researcher, Institute of Plant and Animal Ecology (Ekaterinburg). Ph. D. E-mail: nvp@ipae.uran.ru

Zolotuchin Afanasy Ivanovich – Head of Chair of Biology and Ecology, Balashov Institute, Saratov State University, Associate Professor, Ph. D. E-mail: febzolotuhin@yandex.ru



ПОДПИСКА



Подписка на II полугодие 2015 года

Индекс издания по каталогу ОАО Агентства «Роспечать» 36013,
раздел 26 «Природа. Мир животных и растений».

Журнал выходит 4 раза в год.

Подписка оформляется по заявочным письмам

непосредственно в редакции журнала.

Заявки направлять по адресу:

410012, Саратов, Астраханская, 83.

Редакция журнала «Известия Саратовского университета».

Тел. (845-2) 52-26-85, 52-50-04; факс (845-2) 27-85-29;

e-mail: ElenaVG-2007@yandex.ru

Каталожная цена одного выпуска 350 руб.